

## **Capítulo XX**

### **Crecimiento y Temperatura**

Gladys Fernández<sup>1</sup> & Myrna Johnston<sup>2</sup>

#### **INTRODUCCIÓN**

La temperatura es el principal factor que determina la adaptación de las especies a diferentes localidades dado que altera diversas funciones vitales. Entre las actividades afectadas están la velocidad de las reacciones químicas; los cambios de estado del agua (hielo - líquido - vapor), cambios en la estructura y actividad de las macro moléculas, las funciones asociadas a la membrana y la actividad enzimática.

A medida que la temperatura aumenta también lo hace la velocidad del crecimiento vegetal hasta alcanzar un valor óptimo, por encima del cuál un aumento de temperatura provoca una disminución de ella, por lo que al graficar el efecto de la temperatura en el crecimiento se obtiene una curva asimétrica típica. La principal razón de esto es el efecto de la temperatura sobre las reacciones enzimáticas pues a medida que la temperatura aumenta se incrementa la energía cinética de las moléculas aumentando la velocidad de las reacciones; sin embargo, si la temperatura aumenta mucho se alteran los procesos fisiológicos al producirse una desnaturalización de las enzimas y desorganización de algunas estructuras celulares. En cambio, las bajas temperaturas afectan los procesos fisiológicos disminuyendo la velocidad de las reacciones enzimáticas. Una disminución de pocos grados produce un cambio significativo en la tasa de crecimiento. Los efectos de la temperatura sobre cada uno de los procesos determinan su efecto global sobre el crecimiento de la planta; en general, las bajas temperaturas reducen todas las etapas del ciclo de vida de las plantas. Sin embargo, hay determinadas etapas que necesitan temperaturas bajas para que ocurran como: inducción e incremento de la floración, germinación, inducción y termino de la dormancia en semillas y yemas, formación de tubérculos de papa, bulbos y cormos.

#### **VERNALIZACIÓN**

En las plantas, el paso de la etapa vegetativa a la reproductiva, está controlado por varios grupos de genes (control multigenético). En muchos casos esta transición está determinada por condiciones de la planta y por señales ambientales como el fotoperíodo y la temperatu-

ra. Lysenko, en 1920, acuñó el término "vernalización" del latín vernalis (primavera) para describir el efecto positivo de las bajas temperaturas en la floración; efecto que se observó, por primera vez, en cereales de invierno. Chouard (1960) definió vernalización como "la adquisición o la aceleración de la capacidad de florecer por efecto de un tratamiento de frío". Actualmente se considera que la vernalización representa una "adaptación" para evitar la floración prematura.

Existen muchas especies de clima templado que requieren vernalización para poder florecer. Entre ellas, se incluyen los cereales de invierno, la mayoría de las plantas bianuales y un elevado número de plantas perennes. Dependiendo de los requerimientos de frío para florecer, este puede ser facultativa o absoluta.

**Vernalización facultativa.** Las plantas anuales de invierno, como trigo y centeno, no necesitan vernalización, sin embargo, un tratamiento de frío acelera la floración. El requerimiento es cuantitativo porque existe una relación directa entre la duración del período de frío y la disminución del tiempo para el inicio de la floración. En *Arabidopsis* el acortamiento del tiempo para florecer depende de los ecotipos; así en algunos el tiempo para iniciar la floración disminuye de 186 días a 49, en cambio, en otro sólo disminuye de 54 a 52 días. Si los cereales de invierno no sufren vernalización su floración es escasa y su producción se reduce considerablemente. Plantas de centeno var. Petkus sin vernalización necesitan de 14 a 18 semanas para florecer, la vernalización en el estado de plántulas reduce el período a 7 semanas.

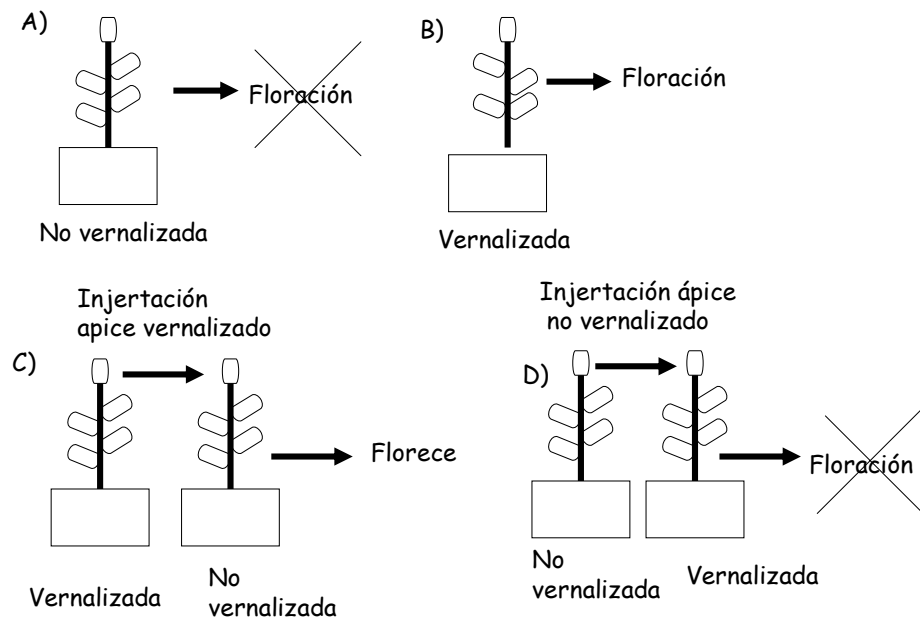
**Vernalización absoluta.** Las plantas no florecen si no son vernalizadas; muchas plantas bianuales permanecen en estado vegetativo en forma indefinida si no se exponen previamente a temperaturas bajas durante un determinado período de tiempo; sus requerimientos de frío son cualitativos, es decir, la floración depende absolutamente del frío. Dependiendo de la especie, se requiere desde varios días a varias semanas de temperaturas ligeramente superiores al punto de congelación para que ocurra floración. En las especies bianuales (remolacha, repollo, repollito de bruselas, zanahoria) la floración ocurre en el segundo año y la exposición al frío invernal entre las dos temporadas de crecimiento induce la floración. Las especies perennes que necesitan vernalización deben pasar por un período de frío cada invierno para poder florecer todos los años.

En general, la respuesta de la planta a la vernalización depende de la duración del período de frío, de la temperatura usada y el estado de desarrollo de la planta. La duración del período de vernalización se mide en "días de frío" a los cuales tiene que estar sometida una planta para que florezca. La combinación de temperatura y tiempos de exposición más eficaz para conseguir una respuesta máxima se debe determinar para cada especie. Los requerimientos de frío están determinados genéticamente e implican cambios epigenéticos en la expresión de determinados genes y, aunque la señal de frío desaparezca posteriormente, los cambios se mantienen. En general, cuanto menor es la temperatura de vernalización, mayor es el efecto inductor del tratamiento. El rango más efectivo de temperatura es entre 1 a 7<sup>o</sup> C y la duración del tratamiento varía entre 1 a 3 meses. Los tratamientos más efectivos son los que se aplican en estados iniciales del desarrollo, como semillas hidratadas y plántulas. En el caso de aplicarse a plantas bianuales estas deben alcanzar un cierto desarrollo para ser sensibles a la baja temperatura, es decir, la fase juvenil es insensible.

### Percepción del estímulo

Para determinar qué órgano percibe el estímulo del frío se injertó diferentes partes de una planta vernalizada en una no vernalizada demostrándose que la señal de frío es percibida por el meristemo caulinar (Fig. 1).

Actualmente se sabe que la vernalización es un proceso metabólico dependiente de energía



**Fig. 1.** Papel del ápice en la vernalización: A) planta no vernalizada no florece; B) planta vernalizada presenta floración; C) injerto de un ápice vernalizado en una planta sin vernalizar se produce floración; D) si se injerta un meristemo de una planta no vernalizada en una vernalizada cuyo ápice ha sido eliminado, la planta no florece. Para que se transmita el estímulo es necesario que el injerto sea exitoso.

y que se transmite desde el meristemo apical a todas las células hijas. El prerequisite para que ocurra vernalización es la presencia de células en división; esto implica que cualquier tejido en división celular puede percibir el estímulo del frío. Una vez que la vernalización ocurre, el meristemo "recuerda" que ha sido vernalizado y esta memoria se mantiene estable a través de las sucesivas divisiones mitóticas hasta el momento que ocurre floración. El estado de vernalización no pasa a la nueva generación; en consecuencia, las nuevas plantas deben ser expuestas al frío para florecer. En la vernalización, la percepción del estímulo y la respuesta están separadas temporalmente ya que éste proceso es sólo inductivo pues prepara a la planta para florecer, pero no "evoca" la floración, la cuál sólo ocurre después de un período de temperaturas cálidas.

El efecto inductor de la vernalización puede ser revertido, parcial o totalmente, si la planta se expone a temperaturas altas, (30° a 40° C) inmediatamente después de la vernalización, efecto que se conoce como desvernalización. A mayor tiempo de exposición al efecto vernalizante, menor será la posibilidad que ocurra desvernalización.

### Control hormonal

Plantas bianuales de día largo (DL) como brasicas, remolacha y cereales presentan, en estado vegetativo, un aspecto de "roseta" (corona) que se caracteriza por un tallo con internodos muy cortos. Previo a la floración, el tallo se elonga ("bolting") por efecto del ácido giberélico ( $AG_3$ ), dando origen a un tallo floral; la giberelina sólo controla la elongación del tallo, pero no la floración que ocurre más tarde. La vernalización no sólo incrementa la biosíntesis de  $AG_3$  durante el estado vegetativo sino que además aumenta la sensibilidad del tallo al  $AG_3$ . En zanahoria (*Daucus carota*) el requerimiento de frío para florecer puede ser reemplazado por la aplicación de  $AG_3$ . Por analogía con el fotoperíodo se postula la existen-

cia de una hormona hipotética, "vernalina", la que se produciría como consecuencia de la vernalización y que provocaría la floración en plantas vernalizadas; sin embargo, aún no se comprueba su existencia, cómo tampoco se puede asegurar que la giberelina equivalga a la vernalina.

### Interacción entre vernalización y fotoperíodo

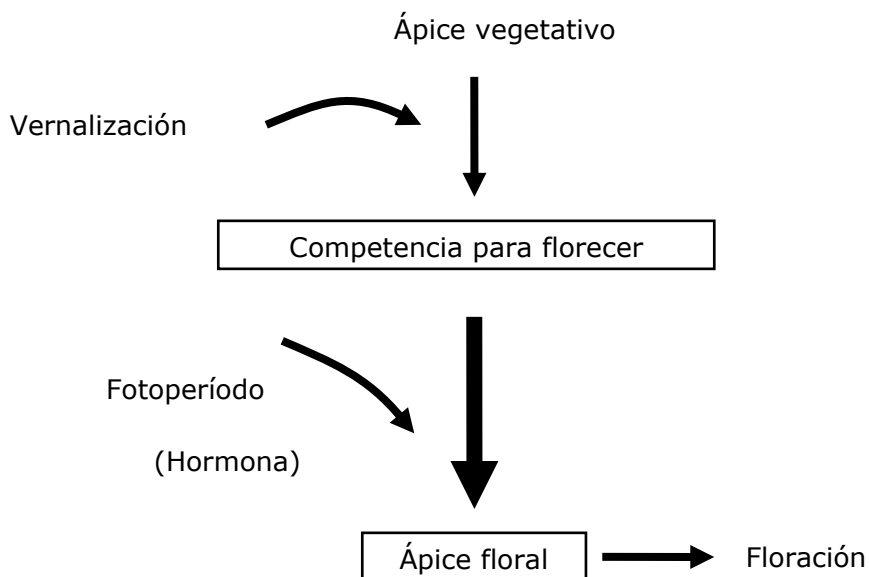
Muchas especies, como trigos de invierno y varias bianuales, necesitan para florecer no sólo vernalización sino además un fotoperíodo inductivo de día largo. Esta combinación de señales asegura que la floración ocurra en una época favorable del año y con una acumulación de reservas que asegure una reproducción exitosa (Fig. 2).

El crisantemo es una planta perenne de día corto cuyo requerimiento de frío se debe satisfacer primero para que responda a los días cortos. Cuando la planta se mantiene en condiciones de un fotoperíodo no inductivo, ella "recuerda" que ha sido expuesta al frío. La duración de esta "memoria" varía, dependiendo de la especie, de días a años.

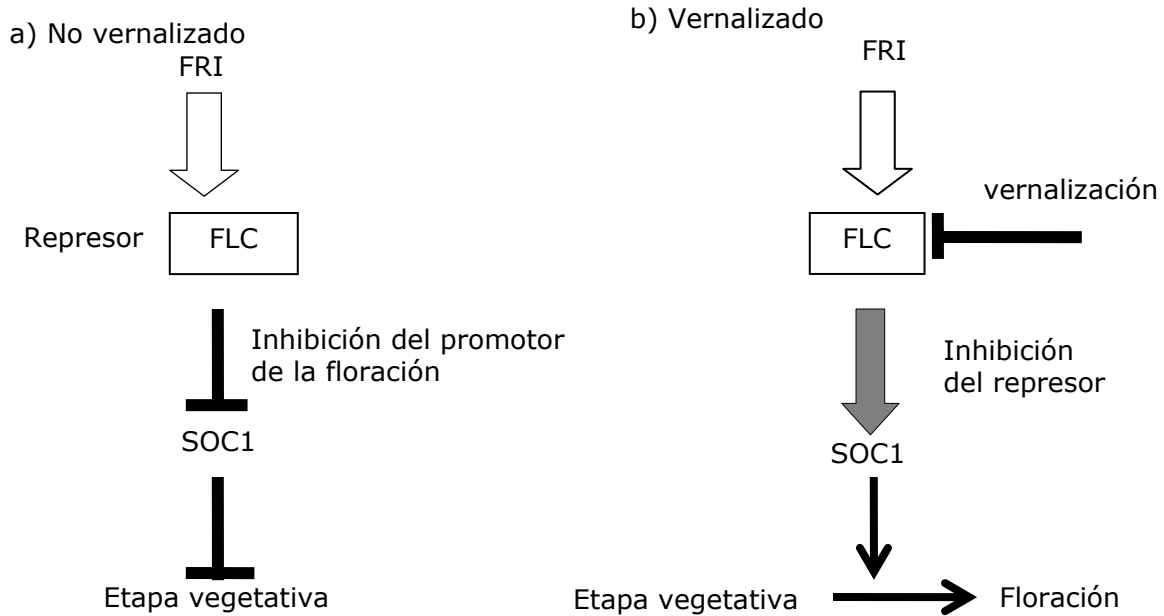
### Bases moleculares de la vernalización

Actualmente se conocen algunos de los genes involucrados en el proceso de vernalización, pero aún no se conoce el mecanismo molecular de la percepción del frío ni las vías de transducción que permiten que se produzcan una "memoria mitótica" estable. Se postula la participación de genes "epigenéticos" que actuarían como marcadores moleculares durante la vernalización.

En *Arabidopsis* hay dos genes, el "FLOWERING LOCUS C (FLC) y FRIGIDA (FRI) que actúan sinérgicamente para retardar la floración. El FLC se expresa en el ápice caulinar y es el



**Fig. 2.** Esquema de la interacción vernalización –fotoperíodo: En cereales y bianuales para que se inicie el desarrollo floral, el meristemo vegetativo primero debe tener la competencia para florecer. El ápice es competente cuando responde a la señal ambiental que va a inducir el estímulo floral, esta señal adicional, habitualmente son los días largos, en el caso que el ápice no reciba la segunda señal de desarrollo que estimula la expresión de la floración, está se puede retrasar o inhibir.



**Fig. 3.** Esquema del control de la floración en *Arabidopsis*. a) planta no vernalizada, b) planta vernalizada. El rol del FRI es incrementar el nivel de FLC reprimiendo la floración, así a mayor nivel de FLC mayor es el retardo de la floración. La vernalización promueve la floración al reducir los niveles del ARNm del FLC y causar una represión epigenética del FLC que le impide expresarse, desaparecen los transcritores del FLC y el ápice es competente para florecer expresándose el SOC1 que es un promotor de la floración. La reducción del FLC es proporcional a la duración de la vernalización y está estrechamente correlacionada con el tiempo de floración.

principal represor de la floración al inhibir a un promotor floral (SOC1) y cuya expresión es regulada por la vernalización (Fig. 3).

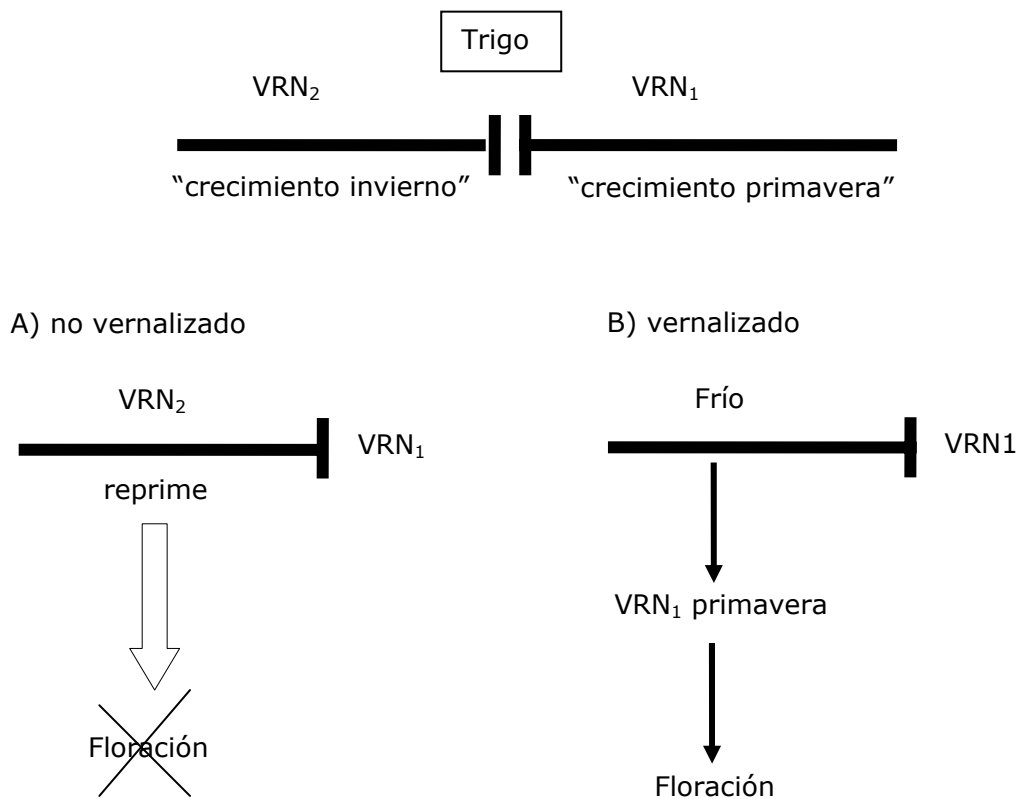
Se ha propuesto que la vernalización puede estar involucrada en cambios en el patrón de metilación del ADN. En general, los cambios en la transcripción de los genes epigenéticos estarían involucrados en la alteración de la estructura de la cromatina y los cambios en la metilación contribuirían a alterar la estructura de la cromatina (Michaels & Amasino 2000).

A diferencia de *Arabidopsis* y otras crucíferas, en trigo de invierno el requerimiento de frío está determinado por genes recesivos denominados "vernalization" (VRN1 y VRN2) que actúan en forma antagónica (Sung & Amasino 2004, 2005, Yan et al. 2004, 2003). El VRN1, induce "crecimiento de primavera", mientras que el VRN2 es necesario para el hábito "crecimiento de invierno" (Fig. 4). A partir de estos antecedentes se podría modificar el tiempo de floración de cereales y forrajes, para así obtener variedades mejor adaptadas a cada región.

## LATENCIA

### Conceptos y terminología

El término latencia puede ser definido como la detención del crecimiento y de la vida activa de una semilla o yema en condiciones ambientales que serían favorables para ello. Existe una diversidad de términos en relación a este fenómeno siendo usados muchas veces como



**Fig. 4.** Esquema del control de la floración en cereales de invierno. El VRN2 inhibe la floración al reprimir la expresión del VRN1. Una exposición prolongada al frío promueve la floración al inactivar al VRN2 y liberar la represión del VRN1. El VRN2 juega un rol análogo al FLC; son represores de genes necesarios para la floración y ambos represores son "apagados" por la exposición al frío. En trigo de invierno, la exposición prolongada al frío activa el gen VRN1, en cambio el trigo de primavera no necesita el período de bajas temperaturas para florecer.

sinónimos y otras con énfasis en algunos aspectos particulares; así podemos encontrar letargo, reposo, inhibición, quiescencia y dormancia o dormición. Por ejemplo, el Diccionario Botánico de Font Quer en 1977 señala para "reposo": acción y efecto de reposar; "vida latente": plantas durante el período de reposo; y "quiescente": aplicase al estado de reposo. Desafortunadamente la terminología usada ha sido mas bien confusa y poco consistente, quizás parte del problema se deba a que este fenómeno es un proceso progresivo, que a menudo se presenta en diversos grados.

La escuela francesa, liderada por Côme, considera demasiado amplio el término dormancia por lo que utiliza en su lugar como sinónimo el de "ineptitud para germinar" y distingue dos tipos: dormancia embrionaria e inhibición de germinación. Harper (1977) reconoce tres tipos de dormancia de acuerdo a como se generan: innata o primaria, propia de semillas recién dispersadas y desarrollada durante la maduración; forzada, si es provocada por privación de algún requerimiento básico; e inducida, en aquellas semillas sin problemas pero que se encuentran en condiciones ambientales más extremas.

Para aunar criterios Lang et al. (1987) proponen usar el término "dormancy" (dormancia o dormición) que corresponde a la suspensión temporal del crecimiento visible de cualquier estructura vegetal que contenga un meristemo, es decir, yemas, ápices o embrión. La causal de esa suspensión es identificada a través de un sufijo por lo que se reconocen tres tipos:

- Ecodormancia, causada por algún estrés ambiental que evoca respuestas no específicas; serían sinónimos quiescencia y reposo
- Paradormancia, debida a factores fisiológicos o estructurales de constituyentes adyacentes al meristemo; se pueden considerar sinónimos inhibición y latencia impuesta.
- Endodormancia, es aquella provocada por factores fisiológicos que ocurren dentro del mismo meristemo; se considera sinónimo de innata e impuesta.

Para evitar confusiones en este texto se usará el término dormancia de acuerdo con las definiciones propuestas por Lang et al. (1987).

### **Características del fenómeno**

Los estudios de dormancia se han enfocado principalmente a tres aspectos: cuales son las señales que inducen la instauración del fenómeno y como se perciben, que cambios metabólicos son los responsables de esa actividad reducida, y que señales son las que inducen la reanudación del crecimiento en un determinado momento. La dormancia tiene una base genética y la expresión de esos genes puede estar influida por factores ambientales durante el desarrollo, particularmente en la etapa de maduración. Esto evita, en muchos casos, la germinación precoz de semillas (viviparismo), o que el crecimiento ocurra en condiciones ambientales desfavorables que impidan completar exitosamente el ciclo de vida de una planta. Por lo tanto, ésta es una característica adaptativa para ambientes poco predecibles y altamente variables, con pocas oportunidades reproductivas. En semillas optimiza la distribución de la germinación en el tiempo para una población dada; esta característica es generalmente indeseable en cultivos agrícolas, pues aquí se requiere rápida germinación y crecimiento; no obstante, y particularmente para ciertos cereales, la existencia de algún grado de ella impide la brotación en el fruto evitando pérdidas. La excesiva domesticación e hibridación de los cultivos ha removido los mecanismos de dormancia de sus antecesores silvestres aunque bajo condiciones adversas muchas veces puede reaparecer (Bewley 1997).

La ruptura o interrupción del estado de dormancia, no constituye parte de la germinación, sino más bien es un prerequisite necesario para ella ocurra. Las condiciones que rompen la dormancia varían con la especie y lugar o región climática de donde proceden; si la ubicación de una especie dada abarca territorios muy amplios (regiones, continentes) pueden diferenciarse en ecotipos o subespecies y las características generales de la dormancia y sus mecanismos de control pueden permanecer estables o variar significativamente; por ello las especies dentro de un género, o aún dentro de una familia, pueden mostrar grandes semejanzas o pronunciadas diferencias en sus respuestas.

Existen varias hipótesis sobre el fenómeno de dormancia, pero ninguna de ellas es capaz de explicarlo completamente pues todas tienen puntos no aclarados para diversas especies y situaciones; las más conocidas son: 1) la de Amen que en 1963 centró la atención en el equilibrio hormonal entre promotores (AGs, CK, etileno) e inhibidores (ABA) del crecimiento y que posteriormente fue ampliada por varios autores como Ross (1984) y Bewley (1997); 2) la de Robert de 1977 sobre cambios metabólicos y que atribuye el fenómeno a la activación o inhibición del Ciclo de Pentosas; y 3) la de Vegis que en 1964 postula un cambio en la tolerancia a diversas temperaturas a medida que transcurre el tiempo y asocia crecimiento o reposo con rangos críticos de temperatura que llegan a constituir verdaderas ventanas de respuesta.

Numerosos antecedentes sobre el mecanismo de dormancia indican la participación del ABA que se encuentra en altas concentraciones en los tejidos dormantes, aplicaciones exógenas de esta hormona a embriones cultivados *in vitro* la inducen y mutantes de maíz, tomate y *Arabidopsis* deficientes en ABA no presentan dormancia. Los análisis genéticos indican que el ABA en las semillas modula la expresión de grupos de genes implicados en la madura-

ción, tolerancia a la desecación y germinación (Lang 1994); en la germinación, además de evitar la elongación del eje embrionario, impide la generación del gradiente osmótico necesario para alcanzar la presión de turgencia requerida para crecimiento. El etileno en semillas, induce ruptura de dormancia tegumentaria y su contenido en semillas dormantes es muy bajo, esta fitohormona es capaz de revertir el efecto del ABA y de ciertos estreses (osmótico, térmico).

Antes de analizar este fenómeno en el caso de semillas es necesario definir y precisar algunos conceptos y procesos que ocurren en ellas, por lo tanto, se tratarán primero los temas de longevidad, germinación y emergencia.

### LONGEVIDAD DE SEMILLAS

Se denomina longevidad al período de tiempo durante el cual una semilla permanece viva, por lo tanto, involucra el concepto de viabilidad. Una de las razones principales para conocer la longevidad de una semilla es determinar el período que puede permanecer en el medio, su adecuada distribución espacial y temporal en el suelo y su posibilidad de conservación. Entre los factores que afectan la viabilidad de una semilla están: los genéticos, de maduración (pre cosecha), mecánicos (de cosecha y manejo), ambientales (temperatura y humedad), intrínsecos (acumulación de sustancias tóxicas) y factores patológicos. Dado que hay fuertes interacciones entre estos factores es difícil aislar sus efectos. A pesar que las semillas son muy resistentes a condiciones extremas (de agua y temperatura) especialmente por su alto grado de deshidratación, este carácter es variable y está determinado por factores genéticos, ambientales y sanitarios. Diversos autores han clasificado las semillas según su longevidad, siendo la más clásica la de Ewart en 1908, que distingue macrobióticas (sobre 15 años), mesobióticas (entre 3 y 15 años) y microbióticas (hasta 3 años) y en 1972 la de Harrington que discrimina entre longevas y de vida corta, según duren más o menos de 10 años.

El envejecimiento también ocurre en semillas y durante este proceso disminuye la capacidad germinativa y su calidad. Se entiende por calidad la sumatoria de todos los atributos que afectan la capacidad de originar plantas normales (Popinigis 1977), entre estos están: viabilidad, vigor, características físicas y sanitarias. La posibilidad de retardar el envejecimiento tiene gran importancia en las semillas comerciales que deben almacenarse por más de 18 meses y en el germoplasma que se conserva. El deterioro de la semilla incluye cualquier transformación degenerativa irreversible que ocurre después que la semilla ha alcanzado su máxima calidad; este varía entre lotes de una misma especie y aún entre semillas del mismo lote. El momento ideal para cosechar semillas sería aquel en que alcanza la madurez fisiológica pues presenta el máximo peso seco, viabilidad y vigor; no obstante, su contenido de humedad es muy alto por lo que debería secarse para reducir la respiración y retardar el proceso de deterioro. Algunas de las principales manifestaciones fisiológicas del deterioro de la semilla son: cambios del color, germinación retardada, menor tolerancia a condiciones adversas de almacenaje, mayor sensibilidad a las radiaciones, reducción del crecimiento de plántulas, menor capacidad germinativa y aumento en el número de plántulas anormales. En las principales especies de la pradera natural del mediterráneo semiárido se estudió la longevidad y vigor de semillas durante cinco años comprobándose que primeramente se redujo la velocidad de germinación y después la capacidad germinativa (Johnston et al. 1992). La calidad inicial de las semillas es determinante en su longevidad, así en las poaceas y geraniáceas ésta variaba según las condiciones del año de producción, particularmente de la distribución de las precipitaciones y la temperatura durante la formación de las semillas (Johnston et al. 1994).

Aunque las causas exactas del deterioro y envejecimiento no están del todo claras, se men-



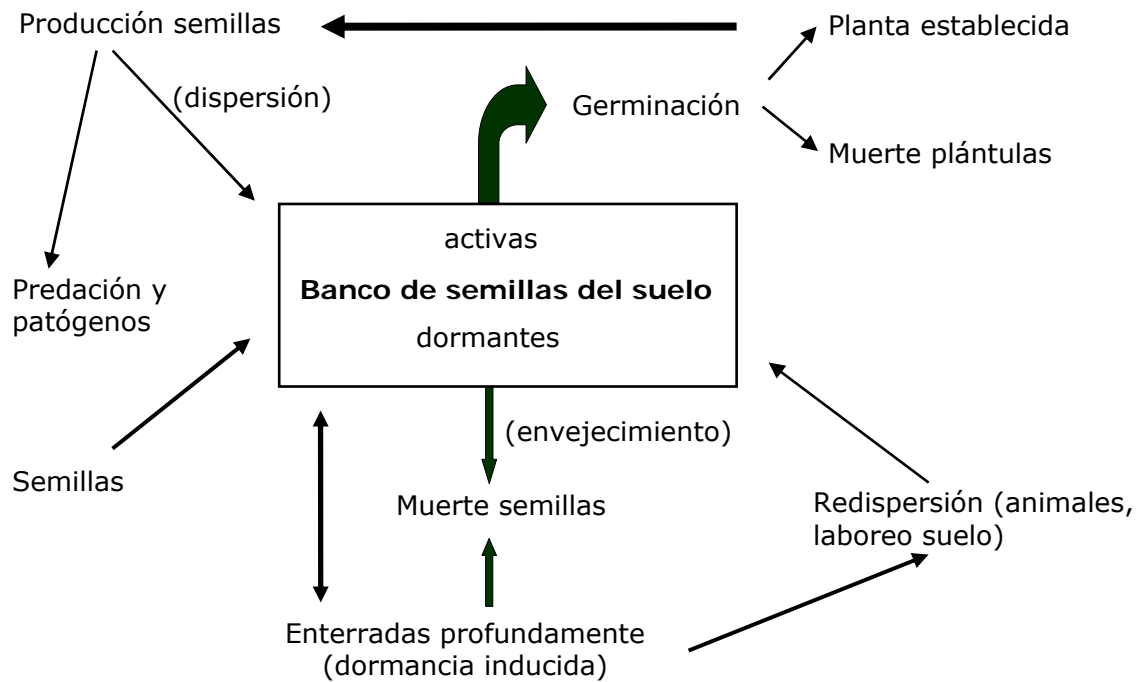
cionan principalmente: alteraciones en las propiedades físicas de las membranas celulares y de los organelos, desnaturalización de las proteínas y/o cambios en la síntesis del ARN y de las proteínas, cambios en la actividad respiratoria y producción de ATP, aberraciones cromosómicas y daño en el ADN y una mayor peroxidación lipídica. Se sabe que con 12 a 14 % de humedad en las semillas ya hay algunas alteraciones en permeabilidad y estructura de membranas, que éstas se comienzan a reparar con contenidos de humedad sobre un 16% y que, sobre 18% la tasa de reparación supera a la del deterioro. El contenido final de humedad depende mucho de la especie y de su ambiente original: así se distinguen las semillas de cultivos templados llamadas "ortodoxas", que terminan con un bajo contenido de humedad y por ello pueden almacenarse por tiempos largos en condiciones controladas (bajas temperaturas y humedad), y las de origen tropical o subtropical denominadas "recalcitrantes", que terminan su madurez con altos contenidos de humedad y sólo se pueden almacenar por breves períodos de tiempo con temperaturas superiores a 10°C. Es conveniente recordar que la calidad de una semilla no mejora cuando se almacena, por lo tanto, es muy importante que las semillas a guardar sean de la mejor calidad. Los factores más determinantes en el almacenamiento son el contenido de humedad de la semilla y del ambiente y la temperatura de este último.

### **Banco de semillas**

En la vegetación natural corresponde al conjunto de semillas dispersadas que se depositan en el suelo. Se considera que está constituido por dos fracciones: semillas activas, aquellas que pueden germinar en cuanto las condiciones ambientales se vuelven favorables, y semillas dormantes, aquellas que requieren alguna condición especial para hacerlo (Simpson et al. 1989). Si las semillas activas no logran germinar envejecen y puede sobrevenir la muerte natural o por ataque de patógenos. También es posible que ocurra predación de semillas por insectos o animales, lo que determina reducción de la magnitud del banco, pero la principal causa de la salida de las semillas es la germinación. Luego, el banco de semillas del suelo está en un equilibrio dinámico (Fig. 5), dado que constantemente hay pérdidas y también ganancias correspondientes, fundamentalmente, a la incorporación de nuevas semillas provenientes de las plantas madres del lugar o de lugares vecinos; si por alguna razón se impide la entrada de semillas la magnitud del banco disminuye exponencialmente, como se comprobó en algunas poaceas de la pradera natural mediterránea (Johnston & Olivares 1997).

Se considera que los bancos de semillas del suelo constituyen un reservorio genético para las diversas especies que en él se encuentran, afecta la composición florística y determina la dinámica de las comunidades vegetales. Además, estos pueden ser transitorios o persistentes según estén formados mayoritariamente por semillas activas o dormantes (Grime 1989). Así, Armesto et al. (1993) señalan que más de la mitad de la flora de la cuarta región corresponde a un banco persistente formado por especies anuales con diversos grados de dormancia; por otra parte, Olivares y Johnston (2001), al estudiar el banco de la pradera naturalizada del semiárido, determinaron que éste era mayoritariamente de tipo transitorio y regulado por numerosos factores. El conocimiento de la dinámica de los bancos de semillas del suelo y sus características permitirá conocer el potencial de auto resiembra de cada especie en una comunidad, conservar o aumentar la presencia de una especie determinada, o incluso, determinar el repoblamiento de un lugar.

En Chile se ha recopilado la información existente sobre los tipos de bancos y sus características en cuatro grandes regiones contrastantes: desierto, mediterránea, templada y andina (Figueroa et al. 2004, Squeo et al. 2006); se determinó que el grado de rigurosidad y la magnitud de la impredecibilidad del ambiente se asociaba sistemáticamente al tipo de banco, así por ejemplo, era persistente en los desiertos y regiones andinas, transitorio en la zona mediterránea y en los bosques templados podía ser reemplazado por bancos de plántulas.



**Fig. 5.** Dinámica general del banco de semillas del suelo destacando los ingresos y pérdidas de semillas (modificado de Simpson et al. 1989).

## GERMINACIÓN

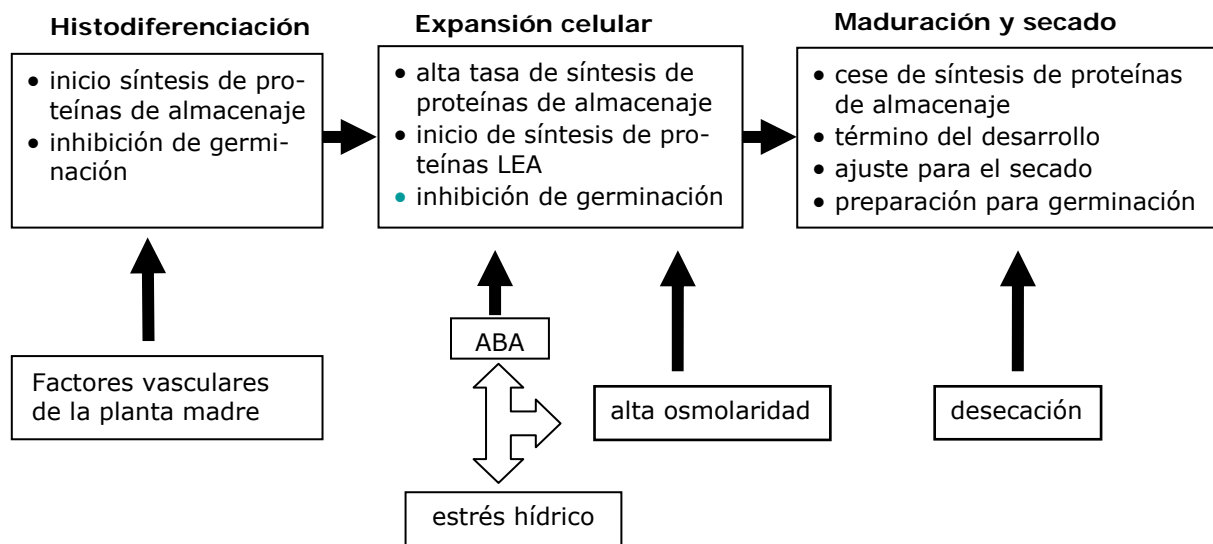
### Formación de la semilla

La semilla corresponde al óvulo maduro de las plantas con flores y consiste fundamentalmente en una cubierta seminal, material de reserva y el embrión. En las angiospermas el óvulo se desarrolla y madura dentro de la planta madre antes de su dispersión. La semilla puede estar encerrada dentro de un fruto (tomate) o expuestas (gramíneas). Varían enormemente de tamaño, forma y estructura, desde los cocos que pueden pesar varios kilos hasta las microscópicas de las orquídeas. Constan de tres componentes principales: la **cubierta seminal** conocida también como testa, normalmente está formada por uno o dos integumentos, su estructura es altamente variable pudiendo endurecerse con depósitos de lignina o cutina y fenoles, lo que puede hacerla extremadamente resistente y/o impermeable. En algunas especies hay tejidos frescos o especiales como el arilo para facilitar su dispersión y en otros casos como en las gramíneas se integra el pericarpio del fruto. El **tejido de reserva** corresponde, generalmente, al endospermo originado de los núcleos polares después de la doble fertilización y queda formado por células triploides. Inicialmente las divisiones forman un tejido acelular que posteriormente desarrolla membranas y paredes. Crece rápidamente absorbiendo parte del nucelo e incorporando cantidades importantes de nutrientes. En otros casos el que se desarrolla es el nucelo constituyendo el llamado perisperma. El **embrión** crece después de fertilizado y termina constituyendo, con diversos grados de desarrollo según la especie, los ápices caulinar y radical y uno o dos cotiledones. En los casos más complejos, por ejemplo en las gramíneas, pueden agregarse otros tejidos protectores como la coleorriza y el coleoptilo (Lack & Evans 2001).

Entre los procesos que caracterizan el desarrollo de una semilla, que se inicia con un esta-

blecimiento de la polaridad conducente a la aparición de las zonas caulinar y radical, pueden distinguirse cuatro etapas: 1) la histodiferenciación, con formación de las primeras estructuras embrionarias (Fig. 6); 2) la expansión celular y depósito de reservas que implica una fuerte vacuolización; 3) la maduración con disminución del metabolismo, inducción del ARNm de proteínas LEA ("last embryogenesis abundant") altamente hidrofílicas y adquisición de tolerancia a la desecación con pérdida de las conexiones vasculares y 4) la adquisición de la dormancia primaria y/o germinación (Vertucci & Farrant 1995). En el control de cada una de estas etapas participan las hormonas citocininas, giberelinas y auxinas, en proporciones diferentes como promotores de los procesos de división, diferenciación y acumulación de las reservas. También participa el ABA cuyos niveles endógenos son clave para prevenir la germinación junto con una alta osmolaridad (Kermode 1995), y que juega un rol central en la inducción de la dormancia y la tolerancia a la desecación (Karssen 1995).

Luego ocurre la llamada post-abscisión de la semilla, es decir, su separación de las conexiones con la planta madre y, como se ha observado en monocotiledóneas, coincide con el nivel máximo de ABA. Generalmente la testa se oscurece (pardeamiento), los ARNms para proteínas de almacenaje declinan o desaparecen, el peso fresco está en el mínimo y la semilla inactiva metabólicamente. Una semilla está madura cuando ha alcanzado su completo desarrollo, tanto morfológico como fisiológico. En muchas especies esta madurez se alcanza en la planta madre antes de su dispersión y por ello se presentan mecanismos para



**Fig. 6.** Acontecimientos principales durante el desarrollo de una semilla y factores que lo afectan (modificado de Kermode 1995).

evitar que germine en ella, en otras hay un desfase temporal (semanas, meses y hasta años) entre la madurez morfológica y la fisiológica.

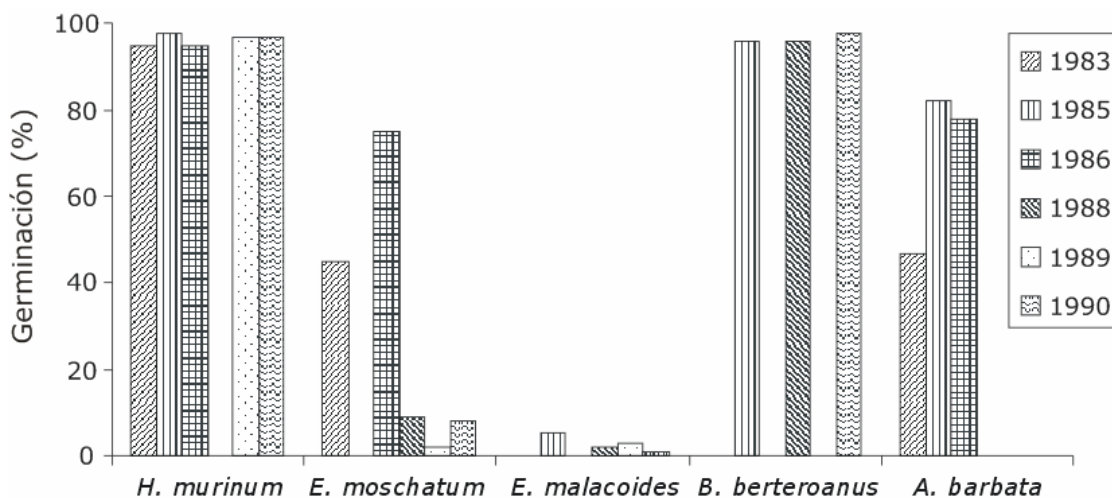
### Proceso de Germinación

El concepto de germinación presenta distintas acepciones, según el enfoque sea agronómico o fisiológico, por ello en 1968 Evenari propuso que debía comprender todos aquellos cambios que van desde el inicio de la rehidratación de la semilla hasta el inicio del crecimiento de la radícula que culmina con la ruptura de las envolturas seminales; esta acepción

fue ratificada también por Bewley & Black (1982) quienes ubican esta etapa entre la maduración de semillas por un lado y el desarrollo de la plántula por el otro. Esto se ajusta al criterio botánico que considera germinada a las semillas cuando alguna parte del embrión emerge de las envolturas. Los acontecimientos siguientes, que incluyen la movilización de las reservas mayores, se asocian con el crecimiento de la plántula en el proceso conocido como "emergencia".

Se han descrito tres grandes etapas en la germinación: 1) rehidratación o imbibición, 2) germinación en sentido estricto o fase estacionaria y 3) crecimiento o ruptura de testa. En una semilla seca y madura la entrada de agua es trifásica (Fig. 7) con una primera fase rápida, seguida de otra estacionaria y una tercera con marcado incremento de peso; en el caso de las semillas dormantes no se presenta la tercera fase. Se ha establecido que en la última fase ocurre un cambio irreversible ya que si se produce una deshidratación ocurrirían daños importantes en la semilla o su muerte. Se considera que la germinación es una reactivación del crecimiento gatillada por estímulos ambientales simples como disponibilidad de agua y oxígeno, o más complejos como interacciones entre temperatura y luz y cambios entre promotores e inhibidores endógenos.

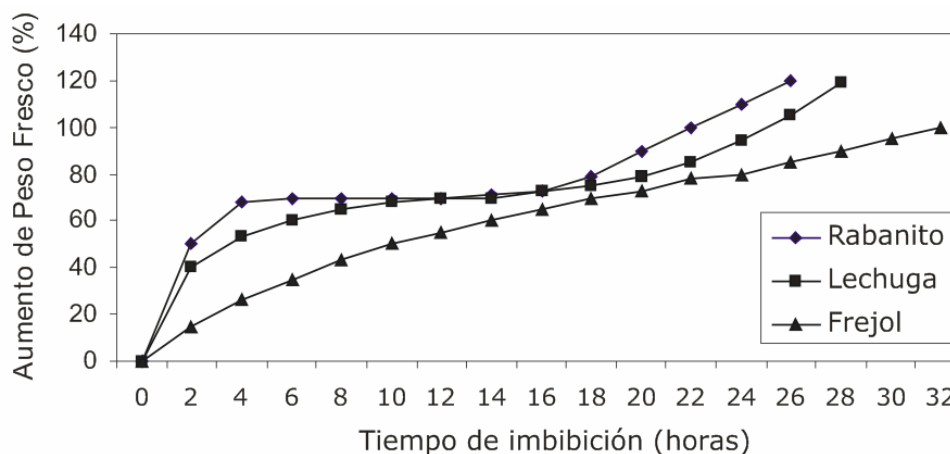
**Fase de imbibición.** la rápida entrada inicial de agua debida al elevado potencial mátrico de las semillas produce gran aumento de volumen (entre 40 y 60%) y generación de calor, a medida que se hidrata disminuye la velocidad de entrada de agua dependiendo de factores propios de la semilla (estructura y composición química). A consecuencia de esta entrada inicial de agua se produce en las células una alteración estructural, particularmente en



**Fig. 7.** Capacidad de germinación de cinco especies de la pradera natural del mediterráneo semiárido producidas en diferentes años (Johnston et al. 1994)

las membranas, que determina lixiviado de solutos (Fig. 8) y metabolitos de bajo peso molecular hacia el medio, hasta que retornan a su configuración normal estable, lo que permite el reingreso de dichas sustancias; si así no fuere se crea un rico medio de cultivo para microorganismos. Se ha descrito ciclos naturales de rehidratación y secado en esta fase que son beneficiosos para aumentar el vigor y velocidad de germinación en semillas de muchas especies (Fernández et al. 1991).

**Fase estacionaria.** A consecuencia de la imbibición, la semilla reasume su actividad metabólica y lo primero que se observa es el aumento de la actividad respiratoria, con un importante consumo inicial de oxígeno, gracias a las hidrolasas que están presentes en la semilla seca. También se activan la vía glicolítica y la de la pentosa-fosfato, se reparan y activan



**Fig. 8.** Cinética de entrada de agua a 25° C en tres especies. La fase I comprende las primeras 6 hrs, la fase II entre las 6 y 17 hrs y la fase III entre las 17 y 22 hrs aproximadamente (datos no publicados).

organelos (particularmente mitocondrias) y se reasume la síntesis de proteínas que, inicialmente, depende de los ribosomas existentes; a las pocas horas hay síntesis de nuevos ribosomas a partir de los ARNm preformados almacenados y de las proteínas LEA presentes en el embrión (Bewley 1997).

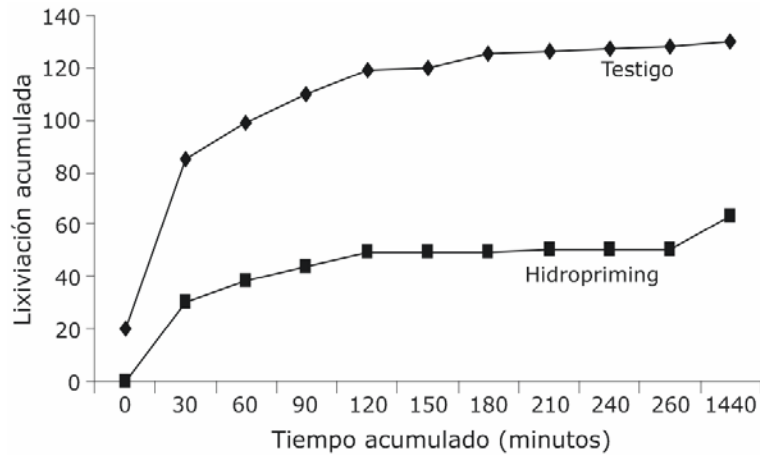
**Fase de ruptura de testa.** Por lo general, la salida de la radícula a través de las cubiertas marca el fin de la germinación y puede estar acompañada de divisiones celulares (maíz, cebada, habas, arvejas), de elongación celular (lechuga), o de ambos procesos simultáneamente (*Pinus lambertiana*). Para este crecimiento hay reparación del ADN dañado durante la última etapa de la maduración, una discreta actividad de síntesis proteica, un potencial osmótico más negativo, aumento en la extensibilidad de las paredes celulares o un debilitamiento de los tejidos que rodean el ápice. Para que ocurra salida de la radícula, además de lo anterior, se necesita una menor resistencia mecánica en las paredes de las células, lo que se logra con una reducción del potencial de presión de esas células, más la acción de las hidrolasas de pared como: celulasas, endo- $\beta$ - mananasa,  $\beta$ -manosidasa,  $\beta$ 1,3-glucanasa, y otras producidas y/o secretadas por embrión y/o endosperma.

Cabe destacar que no todas las semillas de un lote están estrictamente en el mismo estado fisiológico y esta heterogeneidad se traduce en que no todas germinan simultáneamente; por lo tanto, es importante determinar algunos parámetros para la interpretación de esas respuestas como: las **curvas o cinéticas de germinación**, que representan la evolución de los porcentajes de germinación en función del tiempo, éstas son generalmente sigmoideas; la **velocidad del proceso** puede determinarse a través de las más usadas como "tiempo de latencia" o tiempo necesario para la germinación de la primera semilla y el "G<sub>50</sub>" o tiempo necesario para alcanzar el 50% de la capacidad germinativa; la **capacidad de germinación** que es el porcentaje máximo alcanzado según la procedencia de las semillas y las condiciones experimentales (Fig. 9); y el **poder germinativo** que corresponde al máximo porcentaje en condiciones óptimas, es decir, es el porcentaje de semillas vivas (Côme 1982).

### Factores ambientales

La germinación de una semilla madura, viable y sin dormancia requiere condiciones externas favorables en cuanto a disponibilidad de agua, temperatura y oxígeno.

**Agua.** una insuficiente humedad en la cama de semillas es una causa frecuente de fracaso; las condiciones hídricas para germinación han sido modeladas determinándose que con es-

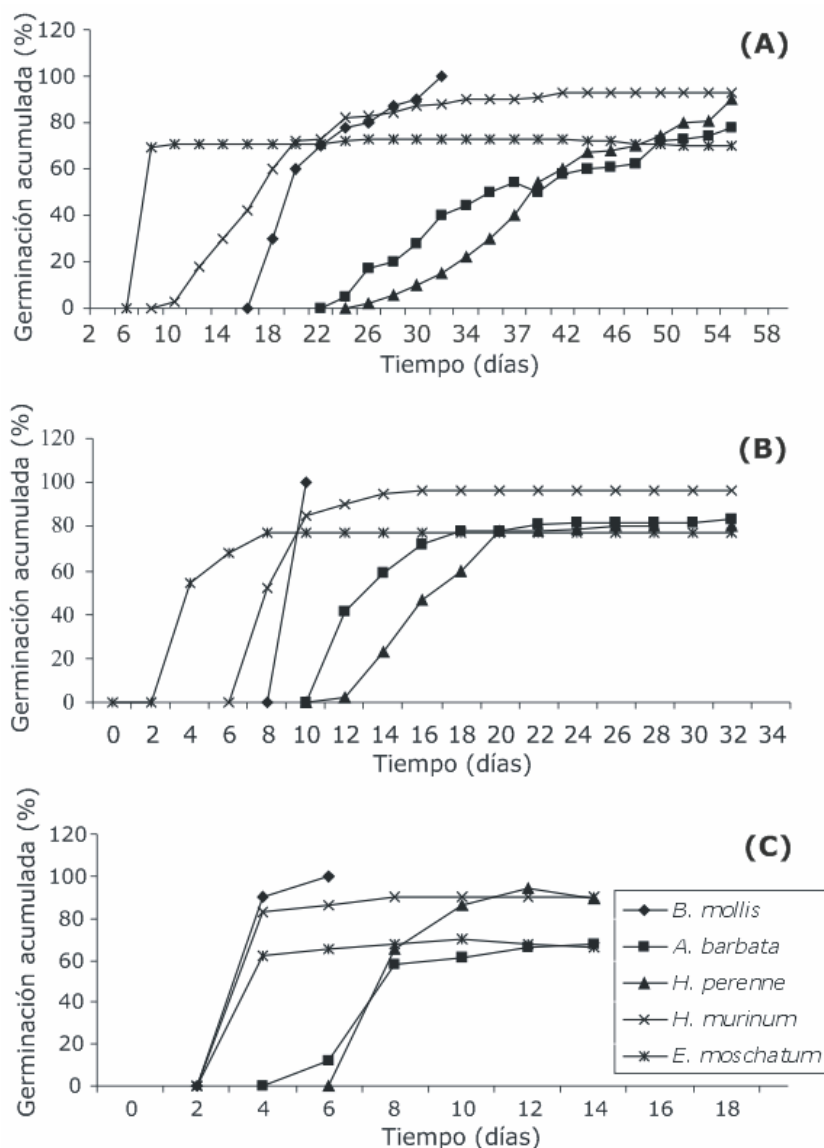


**Fig. 9.** Lixiviación acumulada de electrolitos en semillas de pimienta normales e envigorizadas (hidropriming de 52 h) (Fernández et al. 1991)

casez de agua puede haber una imbibición insuficiente que sólo permite el crecimiento de hongos (requieren potenciales hídricos mas bajos) y pudrición de las semillas, por el contrario si el abastecimiento de agua es adecuado y la semilla vigorosa puede germinar. La cantidad de agua que una semilla embeba dependerá de la magnitud del gradiente entre ésta y el suelo (su potencial hídrico y conductividad hidráulica) y de las características de la semilla: tamaño, relación volumen/superficie, forma, características y composición de la cubierta seminal que determinan el grado de contacto entre semilla y poros del suelo y por ende, la conductividad hidráulica. Los gradientes demasiado elevados pueden llegar a ser dañinos para algunas semillas grandes (frijol, garbanzo, arveja) porque las membranas celulares semi-hidratadas no regulan eficientemente el tráfico de sustancias. Se sabe, además, que es posible detener la rehidratación de la semilla y mantenerla en un estado de germinación suspendida conocido como invigorización o "priming" el que implica ventajas al reducir el tiempo de emergencia y lograr mayor sincronización en ella (Fernández & Johnston 1995); esto se da también en poblaciones naturales cuando experimentan lluvias seguidas de sequías.

**Temperatura.** los límites superior e inferior para este proceso, así como el rango óptimo para la mayor y más rápida germinación, se determinan fácilmente en forma empírica, pero en la práctica es más difícil; en general, depende de la especie (variedad, genotipo) y del origen que determina su grado de madurez y condición fisiológica. Sus efectos son complejos pues involucran desde procesos físicos hasta bioenergéticos y afectan de modo diferente, con distintos óptimos, a cada fase del proceso de germinación; así la temperatura óptima para la fase metabólica es inferior a la de crecimiento y la fase de imbibición es poco afectada por la temperatura. Por ejemplo, una baja temperatura reduce los requerimientos de  $O_2$  ya que disminuye la solubilidad de éste en el agua y su demanda en procesos oxidativos anexos como se observó en *A. repanda* (Fernández et al. 1986). El mayor efecto de la temperatura está en el tiempo de inicio de la germinación o "fase lag" y en las tasas de germinación (Fig. 10); por lo tanto, el nivel óptimo de temperatura determinará, para cada especie, si la germinación ocurrirá en condiciones de humedad favorable, pero transitorias, como aquellas que lo hacen en primavera o si dispondrá de estas condiciones favorables por más tiempo como sería el caso de aquellas especies que germinan en otoño.

**Oxígeno.** sus requerimientos son variables, las demandas aumentan a medida que se incrementa el grado de hidratación de los tejidos (particularmente del embrión) porque se activan las enzimas respiratorias preexistentes. Por lo general, se ha visto que baja el consumo de  $O_2$  antes de la ruptura de testa por una reducción de su solubilidad en las testas totalmente hidratadas y por un agotamiento de los azúcares en el embrión. En muchos ca-



**Fig. 10.** Cinética de germinación de cinco especies de la pradera natural del mediterráneo semiárido a tres temperaturas constantes. (A) 5°C; (B) 8°C; (C) 15°C (óptimo) (Olivares et al. 1990)

En este período ocurre un metabolismo anaeróbico de tipo fermentativo.

### Emergencia

Esta comprende desde la ruptura de testa hasta la aparición de la nueva plántula sobre el suelo con lo que alcanza competencia fotosintética, corresponde al crecimiento efectivo del embrión e implica un aumento significativo del peso fresco. Este crecimiento es sustentado fundamentalmente por las sustancias de reserva acumuladas en los cotiledones y endospermo o perisperma; para que ellas entren a formar parte de las rutas metabólicas del embrión es necesario su hidrólisis y la conducción de las unidades resultantes a través de alguna ruta hacia el embrión. En gramíneas el control lo tiene el embrión, ya que al extraerlo esto no ocurre, pero puede ser reemplazado por  $AG_3$  que actúa sobre las células de aleurona, como se demostró a partir del modelo de Van Overbeek; hoy se sabe que el proceso de secreción de la  $\alpha$ -amilasa, que corresponde al 70% de sus enzimas, implica una síntesis "de novo" cuyos genes son activados por  $AG_3$  a través de "secuencias cis" que deben inter-

actuar con "factores trans" en una cascada de respuestas de un proceso muy conservado en la escala evolutiva. Hay también otras hidrolasas secretadas al endospermo y controladas por esta hormona: fosfatasa ácida,  $\beta$ -amilasa, carboxipeptidasas y  $\beta$ 1,3 y  $\beta$ 1,4- glucanasas (Matilla, 2000).

En las semillas no endospermicas las enzimas son producidas por las células en que se encuentran las reservas. La actividad de las endo y exo peptidasas aumenta a medida que se incrementa el contenido de agua; también existe actividad proteolítica con síntesis "de novo" y activación de las proteasas almacenadas en la semilla seca. Las sustancias lipídicas de reserva generan ácidos grasos y glicerol en el glioxisoma mediante una  $\beta$ -oxidación. Hay también movilización de reservas de fosfato desde las fitinas y fitatos, donde se encuentran además otros cationes (calcio, magnesio, potasio). El transporte de las unidades resultantes de la hidrólisis de las reservas puede hacerse de célula a célula y en el embrión por elementos del floema, para aquellos casos que hay algún grado de diferenciación gatillada por AIA. Estudios en arvejas mostraron que se requiere la hidrólisis de almidón y proteínas contenidas en los cotiledones para el desarrollo de las estructuras subcelulares como mitocondrias, núcleos y retículo endoplásmico organizado. La transferencia de sustancias desde los cotiledones hacia el eje embrionario requiere en él un cierto desarrollo, en este caso alrededor de 4 cm de longitud.

La forma de emerger varía según: el tipo de semilla, dónde quedan los (el) cotiledones y cuál es la parte del embrión que se alarga. Así, se distingue una emergencia "epigea" cuando el cotiledón sale del suelo y el hipocótilo se alarga, como ocurre con poroto y cebolla y otra "hipógea" en donde el cotiledón queda en el suelo y se alarga el epicótilo, como es el caso de arveja y maíz. Generalmente los ápices meristemáticos se protegen de posibles daños con la presencia de un coleoptilo en gramíneas, o de la disposición curvada del tallo (gancho) que protege la plúmula en dicotiledóneas, siendo ambos tejidos sensibles a la luz bajo cuya influencia se rompe o se estira, respectivamente.

La emergencia del coleoptilo o la plúmula sobre el suelo hace que la nueva plántula quede expuesta a la luz lo cual produce supresión del crecimiento del mesocótilo, hipocótilo o epicótilo y estimula la síntesis de clorofila. A continuación hay una etapa de transición, en que la fotosíntesis gradualmente va adquiriendo preeminencia sobre el aporte de las reservas seminales para el crecimiento. En trigo las plántulas se vuelven autótrofas cuando la segunda hoja emerge completamente y está apareciendo la tercera; no obstante, gran parte de las reservas está destinada inicialmente al desarrollo de raíces, es decir, la plántula es independiente respecto al suministro de agua y minerales antes que la fotosíntesis esté funcionando plenamente.

## DORMANCIA EN SEMILLAS

En estas estructuras se presentan los tres tipos de dormancia descritos, los que se revisarán brevemente a continuación:

### Endodormancia o dormancia embrionaria

En algunas especies se pueden encontrar embriones rudimentarios o subdesarrollados que deben completar su crecimiento antes de germinar, por ello deben pasar por un período de post maduración en condiciones ambientales para completar su desarrollo; es decir, requieren de un tiempo variable de almacenaje seco propio de cada especie antes de germinar. Ejemplos de esto encontramos en semillas de orquídeas, cúscuta, fresno, boldo y otros, así en *Atriplex repanda* se detectaron embriones total o parcialmente subdesarrollados en muestras recién cosechadas los que después de un año o más desaparecían (Johnston et



al. 1987).

Otro grupo presenta semillas con embriones totalmente desarrollados, pero con algún desorden fisiológico que frecuentemente se presenta en semillas con reservas grasas o proteínicas. Diversas hipótesis tratan de explicarlo: una deficiencia enzimática por represión de ciertos sitios de ADN que imposibilitan su síntesis; un desbalance hormonal que debe superarse antes de germinar, ya que muchas especies presentan gran cantidad de ABA que debe degradarse o sintetizar sustancias de acción opuesta como AG<sub>3</sub>; algunas particularidades del metabolismo energético como una actividad insuficiente del ciclo de las pentosas-fosfato. Ejemplos de esto son algunas semillas de *Pinus*, *Rosa*, *Betula*, *Malus* y cereales. Su intensidad o profundidad también es variable requiriendo de un período de post maduración, frecuentemente en frío y ambiente húmedo denominado "estratificación"; por ejemplo a 4°C bastan cuatro semanas para degradar el ABA presente en el embrión; en los casos de dormancia poco profunda también son efectivas otras temperaturas.

### **Paradormancia o dormancia tegumentaria**

La paradormancia o dormancia tegumentaria, es impuesta por la naturaleza o funcionalidad de las estructuras adyacentes al embrión, pues cuando éstas se extraen o el embrión se aísla éste puede crecer normalmente. Hay diversos mecanismos causantes de paradormancia según Côme (1982):

**Impermeabilidad al agua y/o a los gases.** Muchas plantas producen semillas con cubiertas seminales cuya composición actúa como barrera para la difusión del agua o de gases como O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y otros, esto se ha observado en algunas *Fabaceas*, *Malvaceas* y *Poaceas*, particularmente de clima templado. La presencia de tejidos muy compactos, con células impregnadas en compuestos cerosos o mucilaginosos o que sólo dejan un pequeño sector permeable (micrópilo) restringen el ingreso del agua; esto se ha observado en *Blepharis persica* cuya capa de mucílagos al hidratarse impide la adecuada difusión de oxígeno.

**Resistencia mecánica.** Las fuerzas generadas internamente son, a veces, insuficientes para romper la cubierta, luego ésta debe dañarse o gastarse para poder germinar. Por ejemplo, las semillas de *Acacia caven* (espino) en condiciones naturales deben experimentar una o más de estas acciones para germinar: la actividad de la flora microbiana del suelo, grandes fluctuaciones térmicas, arrastre por corrientes de agua que provoquen fisuras en la testa, ser consumidas por animales pues con los ácidos del tracto digestivo produce el desgaste necesario; también se ha encontrado esta dormancia en *Malva parviflora* (Chorbadjian & Kogan 2004).

**Presencia de inhibidores.** Hay semillas que presentan compuestos químicos de variada naturaleza que actúan como inhibidores de la germinación, son generalmente sustancias solubles en agua (fenoles, cumarina, saponinas, ácido cinámico, etc.). Estos deben lavarse con las lluvias (particularmente en zonas semiáridas) y quedar lejos de las semillas para que éstas puedan germinar; en el caso de presencia de fenoles primero deben oxidarse completamente a tasas dependientes de la temperatura utilizando gran parte del oxígeno disponible con lo que retardan el inicio del proceso. Por ejemplo en *A. repanda* que se disemina como un fruto indehisciente deben lixivarse las saponinas y el NaCl de sus brácteas para germinar (Fernández et al. 1986).

**Fotosensibilidad.** Generalmente las semillas de tamaños extremos (muy grandes o muy pequeñas) presentan requerimientos luminosos, sean positivos o negativos. Las pequeñas como las semillas silvestres que normalmente quedan en la superficie del suelo sin enterrarse y también las acuáticas, germinan fácilmente con luz blanca, pero lo hacen pobremente o no germinan en oscuridad. Las grandes difícilmente lo harán a la luz como ocurre con *Nemophila insignis*. El sensor para estas respuestas es el fitocromo, por lo que importa

la composición espectral de la luz, su duración, la integridad de las cubiertas seminales (lugar donde se capta el estímulo) y la temperatura que debe ser media-alta o en caso contrario que exista algún grado de déficit hídrico, como se observó en *Medicago polymorpha* (Johnston et al. 1997).

### **Ecodormancia**

Muchas semillas no germinan cuando alguna condición ambiental necesaria no está presente en el nivel adecuado: temperaturas demasiado bajas o muy altas, falta de luz o agua insuficiente para lograr la hidratación completa. En especies colonizadoras es común encontrar que la germinación está regulada por fluctuaciones de temperatura y la calidad o duración del período de luz, Gutiérrez et al. (1988) plantean que como la germinación de *A. repanda* está regulada por la luz y la temperatura y tiene emergencia epigea sería una especie oportunista que crece en ambientes alterados. Cabe recordar que muchas de las semillas ecodormantes pueden ser inducidas secundariamente a otro tipo de dormancia por falta de oxígeno, déficit hídrico, oscuridad (al enterrarse), temperaturas extremas u otro.

Se ha determinado que el evento primario que provoca la ruptura de dormancia es la recepción del estímulo adecuado, generalmente a nivel de membrana, que gatilla una señal de transducción que a su vez desencadena los eventos secundarios, estos pueden ser cambios metabólicos u hormonales (síntesis de giberelinas o citocininas y degradación de ABA). Se sabe que las giberelinas pueden reemplazar algunos requerimientos ambientales para la germinación. Cuando las semillas se dispersan pueden llegar a ambientes muy heterogéneos, a veces poco adecuados para la sobrevivencia, por lo tanto, las estrategias de germinación están estrechamente relacionadas con las características de su hábitat natural. Luego, para aumentar sus posibilidades de perpetuación en el tiempo las plantas presentan la capacidad de producir semillas con diversos grados de dormancia o polimorfismo; es decir, producen dos o más tipos de semillas que no solo son morfológicamente distintas sino además presentan distintos grados de dormancia, con lo que pueden escalonar la germinación de la población en el tiempo y evitar que germinen todas simultáneamente (Fenner 1985).

### **DORMANCIA EN YEMAS**

Los propágulos vegetativos como tubérculos, estolones o bulbos, así como las yemas de plantas perennes, particularmente de zonas templadas o frías, pasan también por un período de dormancia, es decir, son de crecimiento cíclico. Caso clásico son la mayoría de las plantas de hoja caduca cuyas yemas se forman a fines del verano, entran en dormancia en otoño, pasan sin crecer el largo período invernal y reanudan su actividad al incrementarse la temperatura en primavera. Para sobrevivir a las condiciones adversas del invierno debe producirse la instauración del mecanismo de dormancia antes de la llegada de esas condiciones desfavorables, luego deben ser capaces de anticipar el cambio climático. Esto debe ocurrir también para que las yemas no interrumpan su dormancia hasta que las condiciones sean apropiadas para sustentar un crecimiento normal, pues el reinicio prematuro del crecimiento de esas yemas provocar su muerte.

Esta dormancia es entonces un proceso progresivo, que ocurre a menudo en grados, puede ser impuesta por factores internos propios de la yema o externos del ambiente; en muchos casos parece que ambos factores interactúan para inducir, mantener y liberar el estado dormante. Así, las yemas que están entrando en dormancia pueden estimularse a reanudar su crecimiento fácilmente, en cambio, aquellas que están en plena dormancia requieren tratamientos (etilenclorhidrina, agua a 40 o 50°C) extensos o severos para romperla y reanudar su crecimiento, en algunas especies no es posible lograrlo (Hopkins 1995). La instauración coincide con la caída de las hojas, una disminución de la actividad cambial, el

depósito de callosa invernal transitoria en vasos y el aumento de la resistencia al frío (Taiz & Zeiger 2006); ésta es una típica respuesta al día corto propio de fines del verano, donde participan las hojas con el sistema fitocromo quien percibe el estímulo fotoperiódico. La detección del estímulo coincide con cambios hormonales, no está claro si estos son el resultado o la causa; pues en algunas especies, puede detectarse una disminución de giberelinas y auxinas antes del cese del crecimiento y la instauración de la dormancia en las yemas. Numerosos investigadores reportaron gran aumento de actividades inhibitoras del crecimiento en extractos crudos de tejidos que estaban entrando en dormancia, identificándose así al ABA como causante principal de la entrada en dormancia. Trabajos más recientes con métodos analíticos más sensibles (cromatografía de gas-líquido) y evidencias contradictorias que muestran menos ABA al instaurarse han puesto en duda este rol del ABA planteando otros factores involucrados (Rock & Zeevaart 1993).

Las yemas dormantes se caracterizan por su incapacidad para crecer y una baja tasa respiratoria aunque existan condiciones adecuadas para hacerlo, gran parte de ellas están encerradas en un conjunto de hojas modificadas denominadas escamas, que además de aislar y proteger, evitan su desecación y sirven para percibir los estímulos fotoperiódicos. Con las técnicas de ADN recombinante se ha determinado que el fenómeno implica transcripción de nuevos genes correspondientes a los inhibidores de la síntesis de ciertos ácidos nucleicos y proteínas que impiden la entrada en dormancia de las yemas. Se han encontrado también cambios en la actividad relativa de citocromo-oxidasas y polifenol-oxidasas, las que disminuyen a un mínimo en invierno en ramillas de *Prunus cerasus*, y cambios en los patrones de isoenzimas de estearasas y formas de peroxidasas durante la transición al estado de dormancia invernal de agujas de pino y lentejas de agua. En el proceso se pueden distinguir al menos tres fases: la primera es la predormancia, que muchas veces ocurre en verano junto con el desarrollo de la yema, presenta una entrada gradual y puede revertirse, por lo que puede considerarse como una ecodormancia; la segunda es la dormancia verdadera o invernal, que se revierte muy difícilmente o no puede alterarse indicando que se ha desencadenado un proceso nuevo; y la tercera es la postdormancia cuando se ha cumplido el tiempo y satisfecho los requisitos para la salida del estado, esto puede acelerarse.

Las bajas temperaturas presentan un rol principal en la ruptura del estado dormante y generalmente se requieren por un período más o menos largo antes de reasumir el crecimiento activo, es decir, muchas yemas tienen requerimientos de frío previos a que sus células sean capaces de dividirse y elongarse, también debe disolverse la callosa de los vasos cuando se hubiere formado. La mayoría de los estudios en este sentido se han realizado en especies frutales u ornamentales deciduas, dado que presentan límites latitudinales o geográficos para su cultivo; así, en muchos frutales este proceso es especialmente crítico para las producciones comerciales ya que las yemas florales que originarán frutos se iniciaron el verano anterior, deben pasar el invierno y cumplir los requerimientos de frío satisfactoriamente para continuar su desarrollo y formar los frutos en la siguiente primavera. Las temperaturas más efectivas para esta función son aquellas cercanas a las de congelación, la cantidad de tiempo que deben estar presentes depende de la especie o cultivar, de la raza genética o del ecotipo y aún, de la ubicación de la yema en el árbol. Especies como manzano (*Malus pumila*), peral (*Pyrus communis*) y cerezo (*Prunus cerasus*) requieren aproximadamente 7 a 9 semanas de exposición a temperaturas bajo 7°C para superar la dormancia; otras requieren sobre 22 semanas (*Prunus americana*), 4 a 6 semanas (*Prunus armeniaca*), o tan sólo 4 días (*Diospyros kaki*) para romper la dormancia. En las regiones templadas la temperatura puede variar ampliamente durante el invierno; sin embargo las especies con requerimientos de frío son capaces de sumar los períodos de bajas temperaturas y no reanudar el crecimiento hasta que se haya acumulado la cantidad necesaria de horas de frío (Hopkins 1995).

En el caso de órganos subterráneos como bulbos, cormos y tubérculos, los mayores antecedentes disponibles corresponden a la papa que se forma con temperaturas bajas

(alrededor 12°C) y sus yemas presentan una dormancia que se instaura posiblemente durante los días cortos; ésta se pierde gradualmente con el tiempo a una velocidad que va en relación inversa con la edad y la posición de la yema (Swing 1995). Por lo tanto, debe asociarse a alguna característica interna como podría ser disminución de la concentración del ABA y/o aumento en la concentración de giberelinas o citocininas, pero no está totalmente claro; por otra parte, se puede romper la dormancia con tratamientos químicos o temperaturas medias altas. El metabolismo del tubérculo parece cambiar desde las actividades de síntesis y depósito de reservas durante su crecimiento a otra en que hay un marcado incremento de las reacciones hidrolíticas al término de la dormancia. Durante el período de almacenamiento (no inferior a los 10°C) y una vez rota la dormancia, la yema apical es la que crece seguida basipetalmente por las otras, dado que presentan, además, dominancia apical (Milthorpe & Moorby 1982). En bulbos y cormos existe todavía menos información, parece que la inducción de la dormancia y de las diversas etapas de desarrollo requiere temperaturas precisas propias para cada especie. En estolones de "alcachofa de Jerusalén" incubados con adenosina durante la tuberización e inducción de dormancia a inicios de primavera, se observó un incremento de nucleótidos no adenílicos respecto a los adenílicos, proceso que demoró tres meses y en la mitad ya sus yemas eran dormantes.

### TERMOPERIODICIDAD

En condiciones naturales las temperaturas diurnas, generalmente, son más altas que las nocturnas lo que provoca un efecto benéfico en el crecimiento de las plantas denominado termoperiodicidad. Se observa que el crecimiento es mayor cuando ocurre bajo un régimen de fluctuación térmica que cuando la planta crece bajo una temperatura constante. Las respuestas termoperiódicas típicas se manifiestan especialmente en especies de zonas templadas, donde las fluctuaciones térmicas son más amplias. En regiones tropicales donde las fluctuaciones térmicas son mínimas, las plantas no responden al termoperíodo y crecen mejor a temperatura constante.

En una serie de experimentos Went (1953) demostró que el crecimiento de plantas de tomate variaba con la temperatura nocturna y con la edad de la planta. En general, en ésta especie el crecimiento óptimo ocurre en la noche, cuando las temperaturas nocturnas son más bajas que las diurnas. Algunos ejemplos de termoperiodicidad son: el crecimiento de tubérculos de papa, la elongación del tallo y la iniciación de flores.

Un aspecto importante que permite explicar la respuesta termoperiódica es que ocurre un equilibrio favorable entre la producción de fotoasimilados y su pérdida por respiración nocturna. Se ha observado que el crecimiento disminuye sobre una cierta temperatura ya que el suministro de azúcar se hace limitante, al afectarse tanto su transporte como la cantidad disponible. La base de este comportamiento radica en que los diferentes procesos presentan diferentes temperaturas óptimas. Mientras la fotosíntesis tiene un rango óptimo de temperatura entre 20 a 25° C, la intensidad de la respiración se incrementa fuertemente con temperaturas sobre 25° C, observándose que algunas especies duplican su respiración con temperaturas superiores a 30° C. Así, entre más elevada sea la temperatura nocturna, mayor será la respiración y por ende la pérdida de fotoasimilados sintetizados durante el día. Es importante, para el crecimiento, que durante la noche la pérdida de fotoasimilados sea mínima, lo que ocurre en temperaturas nocturnas bajas.

Los tallos crecen principalmente de noche, mientras que las raíces lo hacen tanto de día como de noche. Se ha observado que las temperaturas nocturnas bajas favorecen el crecimiento de raíces, como el suelo se enfría menos que el aire, el crecimiento de las raíces es menos inhibido que el crecimiento de la parte aérea y a la vez disponen de una mayor cantidad de asimilados. En frutos, las temperaturas nocturnas relativamente bajas favorecen

un mayor crecimiento al quedar más asimilados disponibles para su crecimiento y no para la formación de nuevos tallos y frutos. También se ha observado termoperiodicidad en plantas con rizomas, o bulbos y en arbustos y árboles de hoja caduca. En este caso se habla de termoperiodicidad anual y el desarrollo de las plantas sólo es posible cuando los períodos de altas temperaturas (verano) se alternan con períodos de baja temperatura (invierno).

### **MECANISMOS DE LAS RESPUESTAS A BAJAS TEMPERATURAS**

Los principales aspectos que influyen en la sensibilidad de los vegetales al frío son la especie, la edad, la historia previa y las condiciones ambientales. En general, las plántulas muy jóvenes, las semillas en germinación y las flores son las más afectadas por las bajas temperaturas, mientras que las semillas dormantes son las más resistentes. Habitualmente, las raíces son más sensibles que la parte aérea y los tallos más que las yemas.

Las bajas temperaturas son un factor importante que determina la distribución geográfica de las especies y de los cultivos. Los daños a los cultivos son cuantiosos, se estima que un descenso de 1°C, en la temperatura promedio anual, provocaría una disminución del 40% en la cosecha mundial de arroz. La expectativa de utilizar cultivos sensibles a bajas temperaturas en regiones de clima frío se basa en las posibilidades de manipular las respuestas naturales de las plantas a esas temperaturas. En los últimos años se ha realizado esfuerzos para conocer la forma en que las plantas "sensan" el ambiente y responden a los cambios ambientales por la aplicación potencial de este conocimiento. Esto unido al uso de técnicas de ingeniería genética permitiría proporcionar resistencia al frío a plantas sensibles. No cabe duda que, con la aplicación de estas nuevas y poderosas herramientas, en Chile sería posible extender notablemente el área de cultivo de especies tropicales hacia zonas más frías y por otra parte se podría evitar o reducir el daño a los cultivos causado por heladas.

En el transcurso de la evolución, las plantas adquirieron numerosos mecanismos de supervivencia relacionados con el frío. Para sobrevivir a este estrés, las plantas usan mecanismos de evasión y de tolerancia. La evasión consiste en minimizar la presencia del estrés; en cambio, la tolerancia es la capacidad de resistir las alteraciones que ocasiona el frío a través de mecanismos internos extremadamente complejos que están controlados por genes "gatillados" por las bajas temperaturas.

#### **Aclimatación a bajas temperaturas (acondicionamiento, endurecimiento)**

Una de las estrategias de tolerancia es la aclimatación al frío, proceso por el cuál las plantas aumentan su tolerancia al congelamiento después de ser expuestas a bajas temperaturas por un período de tiempo. Las señales ambientales que la desencadenan son días cortos y una disminución paulatina de la temperatura; las plantas se acondicionan a medida que la temperatura baja en otoño, esto requiere energía e involucra cambios en la expresión genética que se traducen en cambios cualitativos en el patrón de proteínas sintetizadas. Un ejemplo de aclimatación es el centeno que muere por congelamiento a -15° C, sin embargo, después de una exposición a una temperatura no congelante puede sobrevivir, sin congelarse, a temperatura cercana a -30° C.

En general, las plantas aclimatadas sobreviven con mayor cantidad de agua congelada en sus tejidos; la resistencia a la congelación depende, tanto de la capacidad de los espacios extracelulares para controlar el volumen del cristal como de la capacidad del protoplasto de resistir a la deshidratación. Se ha observado que la aclimatación al frío está correlacionada con una disminución del potencial osmótico y con una activa fotosíntesis. El grado de acli-

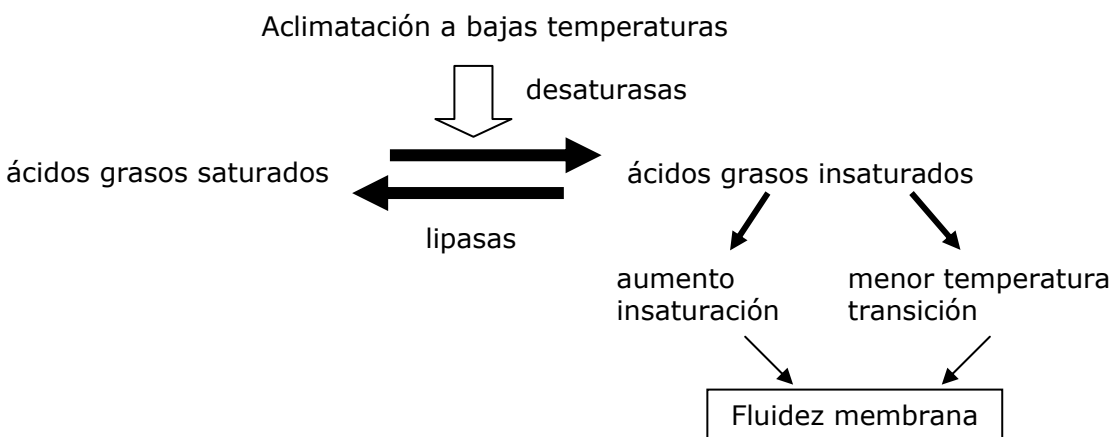
matación alcanzado depende de las temperaturas a la que la planta ha estado expuesta.

La necesidad de vernalización de ciertas especies implica necesariamente que esas plantas deben aclimatarse al frío. Aunque la aclimatación como la vernalización son respuestas a baja temperatura, la duración del período de exposición al frío es distinta, así la vernalización requiere varias semanas de exposición al frío; en cambio, la adquisición de la tolerancia al congelamiento ocurre en un plazo de pocos días, ya que es esencial una rápida inducción de proteínas protectoras para sobrevivir a bajas temperaturas.

Se postula que la aclimatación al frío se realizaría en dos etapas: la primera estaría controlada por el fitocromo y es inducida por días cortos y temperaturas no congelantes. En las hojas se sintetizaría ABA, que se exportaría al tallo vía floema; se acumulan azúcares y otras sustancias protectoras, la cantidad de agua libre disminuye y la vacuola central se divide en numerosas vacuolas pequeñas. Las membranas y enzimas se reorganizan para tolerar la deshidratación provocada por la formación de hielo. En esta etapa la aclimatación se puede perder rápidamente con temperaturas entre 10° a 20° C durante unos pocos días. Así, tan pronto la planta emerge de la dormancia su resistencia al frío y su capacidad para desarrollar resistencia se pierde rápidamente. En la segunda etapa las bajas temperaturas gatillan una serie de cambios metabólicos, como aumento del P orgánico; aumento del contenido de azúcares por hidrólisis de almidón y mayor resistencia del protoplasma a la deshidratación. En cereales de invierno, durante la aclimatación, se observa acumulación de azúcares en las paredes celulares lo que ayuda a restringir el crecimiento de los cristales.

Una función clave de la aclimatación es estabilizar las membranas contra el daño por congelamiento. En plántulas de trigo aclimatadas se incrementa la actividad de la ATPasa asociada a la membrana, a diferencia de las plántulas no aclimatadas donde producto de la baja actividad de ATPasa se reduce la mitosis y el crecimiento (Taiz & Zeiger 2006, Palta et al. 1993). El daño a las membranas se reduce al aumentar los ácidos grasos insaturados que las constituyen (Fig. 11).

El agua de vasos y paredes celulares se congela a unas pocas décimas de grado sobre cero. Dependiendo de la concentración de solutos, el jugo celular se congela entre -1° y -5° C. Además, la mayor cantidad de solutos evita la deshidratación excesiva de la célula en el



**Fig. 11.** Regulación del grado de saturación de los ácidos grasos de la membrana. El grado de insaturación de los lípidos juega un rol fundamental para el óptimo funcionamiento de las membranas. Durante la aclimatación a la baja temperatura aumenta la actividad de las desaturasas y la proporción de ácidos grasos insaturados y disminuye la temperatura de transición permitiendo que se mantenga la integridad de las membranas, su fluidez y no se pierda la compartimentalización.

caso que se forme hielo en el espacio intercelular. La capacidad de una célula para evitar formación de hielo es mayor cuando la solución vacuolar presenta una gran cantidad de solutos o el agua está osmóticamente ligada a componentes protoplasmáticos, que cuando el agua puede salir fácilmente. El incremento de sustancias que adsorben agua baja el punto de congelación, azúcares como sacarosa, rafinosa y fructosa aumentan con el frío y evitan la formación de hielo intracelular al disminuir la temperatura de congelamiento del agua.

En variedades de trigo tolerantes al frío hay una mayor acumulación de fructosanos en hojas, tallos y raíces y una mayor actividad de enzimas responsables de la síntesis y movilización de los azúcares (sacarosa fosfato sintasa y sacarosa sintasa) que en las variedades adaptadas a zonas más cálidas. El aumento de la actividad de la sacarosa sintasa a bajas temperaturas es causado por la inducción del gen que codifica esta enzima, lo que ha permitido considerarla, a partir de entonces, como una proteína de la aclimatación al frío.

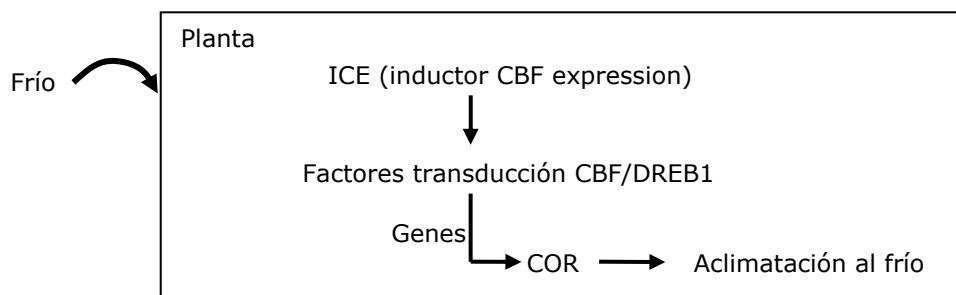
Otro mecanismo que proporciona tolerancia al frío es la desecación parcial de los tejidos, lo cual, en última instancia, equivale a aumentar la concentración de solutos en la célula. La desecación es extrema en las esporas de hongos y en semillas maduras, pues la poca agua remanente (muchas veces menos del 10% del peso de una semilla) queda fuertemente asociada a las macromoléculas y difícilmente se congela; en caso que ello suceda, los cristales de hielo suelen ser demasiado pequeños para dañar las células. Por ello, las esporas y las semillas pueden resistir la inmersión en nitrógeno líquido (-196°C) sin sufrir daños.

### Regulación de la respuesta a la aclimatación

Las evidencias señalan que existen varios mecanismos involucrados en la respuesta de aclimatación al frío. En *Arabidopsis* los genes COR (cold-regulated genes) juegan un rol en este proceso (Thomashow 2001, Sung et al. 2003). Las bajas temperaturas inducen síntesis de proteínas que actúan como factores de transcripción (CBF conocido también como DREB1) en la inducción de los genes COR (Fig. 12). El factor DREB1 es similar al DREB2 que se expresa en la sequía, estrés salino y por el ABA. La transcripción de los genes CBF aumenta fuertemente a los 15 minutos de transferidas las plantas a bajas temperaturas y la acumulación de genes COR ocurre después de las dos horas, lo que probaría que la función fundamental del CBF es proteger a las células contra el congelamiento.

### Proteínas anticongelantes

Muchas de las plantas que sobreviven a temperaturas bajas secretan "proteínas anticongel-



**Fig. 12.** Esquema de la regulación genética en la aclimatación al frío. Se induce síntesis de factores de transcripción y activación de un "inductor de la expresión del gen CBF" denominado "ICE" que no sólo induce la expresión de esos genes sino que además induciría la expresión de otros genes que participarían en la aclimatación al frío y en otros estreses que involucran deshidratación.

lantes" (AFPs) al apoplasto las que se unen irreversiblemente a la superficie del cristal de hielo impidiendo la unión de nuevas moléculas de agua, evitando así el crecimiento y recristalización del hielo. La función de la AFP no es prevenir el congelamiento, sino que reducir el daño causado por el crecimiento de los cristales (Griffith et al. 2005; Griffith & Yaish 2004). Las proteínas AFP se presentan sólo en las plantas tolerantes después que ellas se han expuesto a bajas temperaturas. Lo sorprendente de estas proteínas es que son homólogas a las proteínas relacionadas con la patogénesis causada por hongos (PR), que son liberadas al apoplasto en respuesta a la presencia del patógeno y cuya función es degradar las paredes del hongo e inhibir sus enzimas.

La síntesis de las proteínas AFP está regulada por bajas temperaturas, días cortos, deshidratación, ABA y etileno. Su regulación es compleja ya que involucra tejidos específicos y respuestas de desarrollo. Plantas de centeno sometidas a bajas temperaturas o sequía sintetizan etileno que induce la expresión de nuevos genes, como la síntesis de proteínas AFP y PR las que son secretadas y acumuladas en la superficie exterior de la pared (Griffith & Yaish 2004). En centeno de invierno, especie resistente al congelamiento se han encontrado 6 AFP diferentes con pesos de 16 a 35 kD las que se localizan en células epidérmicas y en células que rodean los espacios intercelulares inhibiendo el crecimiento del cristal extracelular.

### **Ácido abscísico (ABA)**

En plantas que presentan aclimatación al frío hay un aumento de ABA a comienzos de otoño. Este incremento es mayor en especies tolerantes al frío que en especies sensibles. La aplicación de ABA en especies que presentan aclimatación al frío aumenta la tolerancia al congelamiento; en plántulas de alfalfa, induce alrededor de un 50% de sobrevivencia comparado con tratamientos normales de aclimatación (Mohapatra et al. 1988). El tratamiento induce la síntesis de las mismas proteínas que se producen por efecto de la aclimatación o por un déficit hídrico mediano (Taiz & Zeiger 2006). Se piensa que estas proteínas protegen a la célula de la deshidratación y del congelamiento estabilizando proteínas y membranas. Mutantes de *Arabidopsis* que son insensibles al ABA (*abi1*) o deficientes en ABA (*aba-1*) no pueden ser aclimatados al congelamiento debido a que son incapaces de expresar los genes regulados por el frío.

Se ha observado que existe un paralelismo entre las respuestas fisiológicas de la planta a las bajas temperaturas y a la sequía. En general, las plantas resistentes al frío también presentan una resistencia a la sequía. Se piensa que las características celulares que permiten la resistencia al frío serían similares o las mismas que las que confieren resistencia a la sequía. Sin embargo, no existen evidencias claras que el ABA juegue un rol fundamental en la activación de la respuesta al frío y se piensa que su papel es menor (Thomashow 1999).

### **Rol del calcio**

El frío induce aumento de Ca citoplasmático que participa como segundo mensajero en la fosforilación de proteínas y en la activación de varios factores de transcripción que formarán parte de la cascada de señales que se produce durante la aclimatación. El Ca citoplasmático activa las proteínas kinasas (MAPK) desencadenando la cascada de MAPK, que es una parte importante de la vía de transducción (Sung et al. 2003). Sin embargo aún no se conoce como el frío gatilla la secuencia de eventos que lleva a la salida del Ca (Knight & Knight 2001).

Debido a que en la célula el primer efecto de la baja temperatura es el cambio de fluidez de las membranas, se ha sugerido que la membrana plasmática actúa como el sensor primario de la temperatura a través de cambios dinámicos en su estado físico. La señal del frío in-



duce una reorganización de los microfilamentos de actina induciendo rigidización de la membrana y desaturación de los ácidos grasos. La ruptura de los microtúbulos y de los filamentos de actina afecta la actividad de los canales de Ca produciendo su salida al citoplasma. Esto inicia la aclimatación y el aumento de la tolerancia al frío. Se sugiere que el "termómetro" de la baja temperatura y la señal de transducción estarían presentes en las plantas durante su crecimiento en temperaturas cálidas no inductivas (Örvar et al. 2000).

## Resumen

En general, tanto las altas como las bajas temperatura alteran la velocidad de las reacciones químicas; los cambios de estado del agua, cambios en la estructura y actividad de las macro moléculas, las funciones asociadas a la membrana y la actividad enzimática. Los efectos de la temperatura sobre cada uno de los procesos determinan su efecto global sobre el crecimiento de la planta; las bajas temperaturas disminuyen el crecimiento e incluso pueden causar la muerte al disminuir la velocidad de las reacciones enzimáticas afectando los procesos fisiológicos. Sin embargo, hay determinados procesos como: inducción e incremento de la floración, germinación, inducción y término de la dormancia en semillas y yemas, formación de tubérculos de papa, bulbos y cormos que necesitan temperaturas bajas para que ocurran.

Muchas plantas requieren bajas temperatura para inducir su floración, proceso denominado vernalización. La percepción del estímulo del frío y la respuesta y se localiza en los meristemas, pero están separadas temporalmente. Gran parte de los conocimientos sobre vernalización provienen de estudios realizados en *Arabidopsis*, determinándose que su acción es suprimir la expresión de genes represores de la floración. La identificación del gen FLC en *Arabidopsis* y del VRN2 en trigo proporciona indicios de la forma en que la vernalización vuelve competente al ápice para florecer al impedir la expresión de estos represores florales.

El concepto de dormancia no está universalmente aceptado y para referirse al mismo fenómeno hay diversas acepciones, en general, se refiere a la suspensión temporal del crecimiento de un meristemo, tiene carácter adaptativo para superar condiciones desfavorables al crecimiento, es un fenómeno con base genética, pero la expresión de dichos genes está influida por factores ambientales. En éste capítulo se plantean las hipótesis más frecuentes que intentan explicarla: hormonal, térmica y metabólica, pero que no satisfacen completamente todas las situaciones. Las estructuras que presentan esta condición son las semillas y las yemas y según sus causales hay diversas clasificaciones.

Antes de examinar el caso en semillas se analizan dos aspectos fundamentales sobre estos órganos propios de las espermatófitas: la longevidad y la germinación. Se entiende por la primera el período que una semilla puede permanecer viva y se discuten las características del fenómeno, así como los factores que inciden en su duración. Al respecto se hace una presentación sobre los bancos de semillas del suelo ya que es la condición natural en que se mantienen las semillas. La germinación es el proceso que sigue, una vez que se ha superado el estado dormante de las semillas, esta corresponde a la etapa entre el fin de la maduración de la semilla y el crecimiento de la plántula. Se analizan las características generales del fenómeno de germinación en sus tres fases y luego se discuten los factores ambientales que inciden en ella. El análisis termina con una breve discusión sobre el crecimiento inicial de la plántula denominado emergencia.

En la dormancia de semillas se describen los tres tipos principales: endodormancia (embrionaria), paradormancia (tegumentaria) y ecodormancia (ambiental), analizando las características de cada una, la forma de ruptura y algunos ejemplos ilustrativos. La dor-

mancia de yemas, tanto en árboles como de bulbos, rizomas y otros, implica, para las plantas que la presentan, un crecimiento cíclico que determina inactividad en los períodos desfavorables. Es un fenómeno progresivo en el tiempo, que ocurre en grados de intensidad variable; influido por factores ambientales como el fotoperíodo y el frío que regulan el inicio y/o término del proceso, se caracteriza además el estado fisiológico de las yemas.

En zonas templadas y frías las temperaturas diurnas son superiores a las nocturnas lo que determina en las especies naturales una adecuación de su crecimiento conocido como termoperíodo. Aspectos importantes en estas respuestas de termoperiodicidad es el balance entre producción de fotoasimilados y la magnitud de la respiración nocturna y las temperaturas óptimas de los diversos procesos que inciden en el transporte y niveles de crecimiento de los principales órganos.

No se sabe exactamente como la planta mide la duración del frío para salir de la vernalización o liberar de la dormancia a yemas y semillas. Previo al período de frío requerido para la vernalización las plantas deben aclimatarse al frío, esto implica estabilizar las membranas contra el daño por congelamiento para mantener su fluidez. Se han identificado genes y proteínas que tienen roles en la tolerancia al congelamiento. Las plantas tolerantes al frío presentan "proteínas anticongelamiento" (AFPs) cuyo rol es inhibir el crecimiento y la recristalización del hielo que se forma en los espacios intercelulares. Estas proteínas se acumulan en respuesta al frío, días cortos, deshidratación, ABA y etileno. Al igual que en muchas otras respuestas el Ca está implicado como 2º mensajero en la aclimatación al frío

La identificación y caracterización de los factores de trasmisión y de los genes que participan en la respuesta a la vernalización y en la adaptación a las bajas temperaturas permitirán entender la forma en que reaccionan las plantas y diseñar así estrategias para mejorar su capacidad de soportar bajas temperaturas. Los resultados logrados en estas investigaciones tienen una potencial aplicación práctica en la producción hortofrutícola cuando el peligro de heladas es el principal factor que limita su distribución geográfica.

### Preguntas y Problemas

1. Se dice que la temperatura influye en la distribución geográfica de las especies ¿qué proceso deberían verse alterados en plantas de la zona austral de Chile y cuáles en la de las zonas semiáridas del norte?
2. Analice la forma en que la temperatura interactúa con otros factores ambientales y dé ejemplos.
3. ¿Cómo explica que cada cierto tiempo presenciemos en zonas áridas el fenómeno de "desierto florido"?
4. ¿Por qué un exceso de agua en el medio puede ser perjudicial para la germinación de algunas semillas?
5. Distinga entre vernalización y estratificación dando argumentos fisiológicos.
6. ¿Qué valor adaptativo tienen los requerimientos para romper dormancia en yemas y semillas?
7. ¿Qué consecuencias puede tener en la producción de manzanas el que no se cumplan los requerimientos para romper la dormancia de sus yemas florales? Discuta las causas y posibles estrategias para superar el problema.
8. Señale los procesos fisiológicos que requieren bajas temperaturas y explique porqué.
9. Describa como la planta vernalizada puede tolerar bajas temperaturas.
10. Señale que es vernalización y describa como la planta lo logra naturalmente.
11. Las lipasas y desaturasas son enzimas que determinan el grado de saturación de los lípidos de la membrana. ¿Cómo participan en la aclimatación al frío?
12. ¿Qué roles tiene el ABA y el etileno en los mecanismos de respuesta a las bajas temperaturas?
13. ¿Por qué es importante para la planta mantener la fluidez de las membranas?

## Lecturas Generales

- SALISBURY F & C ROSS. 1994. Fisiología Vegetal. Editorial Iberoamericana. México.  
 TAIZ L & E ZEIGER. 2006. Plant Physiology. Cuarta edición. Sinauer Associates Inc. Editores, Sunderland, MA.

## Literatura Citada

- ARMESTO JJ, PE VIDIELLA & J GUTIERREZ. 1993. Plant strategies in the Chilean coastal desert. *Revista Chilena Historia Natural* 66: 271-282.
- BEWLEY JD. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9: 1055-1066.
- BEWLEY JD & M BLACK. 1982. Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination. Vol. 2. Viability, dormancy and environmental control. Springer-Verlag, NY. 347p.
- CHORBADJIAN R & M KOGAN. 2004. Estudios de dormancia y germinación de malva (*Malva parviflora*). *Ciencia Investigación Agraria* 31:129-136.
- CHOUARD P. 1960. Vernalization and its relation to dormancy. *Annual Review Plant Physiology* 11: 191-238.
- CÔME D. 1982. Germination: 129-226. En Mazliak P. (ed) *Physiologie Végétale II. Croissance et développement*. Hermann, Paris.
- EWING EE. 1995. The role of hormones in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization. Pp. 698-724. En Davies PJ (ed) *Plant Hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. Kluwer Academic Publ.
- FENNER M. 1985. *Seed Ecology*. Chapman & Hall, London. 151 p.
- FERNÁNDEZ G & M JOHNSTON. 1995. Seed vigour testing in lentil, bean and chickpea. *Seed Science & Technology* 23: 617-627.
- FERNANDEZ G, M JOHNSTON & RN MUÑOZ. 1991. Invigoration of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. *Proceedings Interamerican Society of Tropical Horticulture* 35: 109-117.
- FERNÁNDEZ G, A OLIVARES, M JOHNSTON & P CONTRERAS. 1986. Rol del pericarpio de *Atriplex repanda* en la germinación. IV. Efecto del NaCl y saponinas en la germinación de cuatro especies. *Phyton* 46: 19-26.
- FIGUEROA J P, PL LOBOS, LA CAVERES, H PRITCHARD & M WAY. 2004. Eco fisiología de semillas en ambientes contrastantes de Chile: un gradiente desde ecosistemas desérticos a templados húmedos: 81-98. En Cabrera HM (ed) *Fisiología Ecológica en Plantas. Mecanismos y Respuestas a Estrés en los Ecosistemas*. Ed. Universitaria, Valparaíso.
- GRIFFITH M & MWF YAISH. 2004. Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *Trends in Plant Science* 9: 399-405.
- GRIFFITH M, C LUMB, SB WISEMAN, M WISNIEWSKI, RW JOHNSON & A G MARANGONI. 2005. Antifreeze proteins modify the freezing process in plant. *Plant Physiology* 138: 330-340.
- GRIME LP. 1989. Seed banks in ecological perspectiva. pp xv-xxii. En Leck MA, VT Parker & RL Simpson (eds) *Ecology of Soil Seed Banks*. Academic Press, Ca.
- GUTIERREZ JR, L AGUILERA & R MORENO. 1988. The effects of variable regimes of temperature and light on the germination of *Atriplex repanda* seeds in the semiarid region of Chile. *Revista Chilena Historia Natural* 61: 61-65.
- HARPER JL. 1977. *Population Biology of Plants*. Academic Press, London.
- HOPKINS WG. 1995. *Introduction to plant physiology*. John Wiley and Sons, Inc, 464 pp.
- JOHNSTON M & A OLIVARES. 1997. Factores de variación de la reserva de semillas del suelo de una pradera de terófitas del semiárido: 209-219. En Valdevenito G & S Benedetti (eds) *Forestación y Silvicultura en zonas Áridas y Semiáridas de Chile*. CORFO-INFOR, Santiago, Chile.
- JOHNSTON M, G FERNÁNDEZ & A OLIVARES. 1987. Efecto de la condición fisiológica de la planta de *Atriplex repanda* en las características de sus frutos. *Phyton* 47: 33-41.
- JOHNSTON M, A OLIVARES & G FERNANDEZ. 1992. Capacidad germinativa en especies de la pradera anual mediterránea. I. Efecto del tiempo transcurrido desde la cosecha. *Phyton* 53: 117-124.
- JOHNSTON M, G FERNANDEZ & A OLIVARES. 1994. Capacidad germinativa en especies de la pradera anual mediterránea. II. Efecto del año de producción de semillas. *Phyton* 55: 59-69.
- JOHNSTON M, A OLIVARES, C HENRÍQUEZ & G FERNÁNDEZ. 1997. Factores abióticos en la germinación de terófitas de interés forrajero. *Phyton* 60: 63-71.
- KARSSSEN CM. 1995. Hormonal regulation of seed development, dormancy and germination studied by genetic control: 333-350. En Kigel J & G Galili (eds) *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker Inc. NY.

- KERMODE AR. 1995. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment: 273-332. En Kigel J & G Galili (eds) *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker Inc. NY.
- KNIGHT H & MR KNIGHT. 2001. Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. *Trends in Plant Science* 6: 262-267.
- LACK AJ & DE EVANS. 2001. *Plant Biology*. Springer-Verlag, NY 332 p
- LANG GA. 1994. Dormancy – The missing links: molecular studies and interactions of regulatory plant and environmental interactions. *HortScience* 29: 255-265.
- LANG GA, JD EARLY, GC MARTIN & RL DARNELL. 1987. Endo-, para- and eco-dormancy: Physiological terminology and clasification for dormancy research. *HortScience* 22: 371-377.
- MATILLA A. 2000. Germinación y dormición de las semillas: 435-450. En Azcon-Bieto J & M Talón (eds) *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.
- MICHAELS SD & RM AMASINO. 2000. Memories of winter: vernalization and the competence to flower. *Plant Cell and Environment* 23:1145-1153.
- MILTHORPE FL & J MOORBY. 1982. *Introducción a la Fisiología de los Cultivos*. Hemisferio Sur, Buenos Aires. 259 p.
- MOHAPATRA SS, RJ POOLE & RS DHINDSA. 1988. Abscisic acid regulated gene expression in relation to freezing tolerance in alfalfa. *Plant Physiology* 87: 468-473.
- OLIVARES A & M JOHNSTON. 2001. Bases del manejo de la pradera anual de clima mediterráneo: 274-284. En García F & P Cretton (eds) *Simposio Internacional en Producción Animal y Medioambiente*. SOCHIPA-PUC, Santiago-Chile.
- OLIVARES A, M JOHNSTON & G FERNANDEZ. 1990. Efecto de la temperatura en la germinación de siete especies de la pradera anual mediterránea y caracterización de su emergencia. *Simiente* 60: 123-131
- ÖRVAR BL, V SANGWAN, F OMANN & RS DHINDSA. 2000. Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity. *The Plant Journal* 23: 785-794.
- PALTA J P, BD WHITAKER & LS WEISS. 1993. Plasma membrane lipids associated with genetic variability in freezing tolerance and cold acclimation of *Solanum* species. *Plant Physiology* 103: 793-803.
- POPINIGIS F. 1977. *Fisiologia de Semente*. Agiplan-Min. Agric.-BID 289 p.
- ROCK CD & JAD ZEEVAART. 1993. Ácido abscísico: 327-342. En Azcon-Bieto J & M Talon (eds) *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. Interamericana McGraw-Hill, NY.
- ROSS JD. 1984. Metabolic aspects of dormancy: 45-75. En Murray DR (ed) *Seed Physiology*. Vol II. Germination and reserve mobilization. Academic Press, Australia. 295 p.
- SIMPSON RL, MA LECK & VT PARKER. 1989. Seed banks: general concepts and methodological issues: 3-8. En Leck MA, VT Parker & RL Simpson (eds) *Ecology of Soil Seed Banks*. Academic Press, Ca.
- SQUEO FA, MTKARROYO, PA JARA, M LEÓN & N OLIVARES. 2006. Banco de semillas en los Andes desérticos de Chile. En: Cepeda J (ed) *Geoecología de los Andes Desérticos: La Alta Montaña del Valle del Elqui*: 115-130. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena.
- SUNG DY, F KAPLAN; KJ LEE & C. GUY. 2003. Acquired tolerance to temperature extremes. *Trends in Plant Science* 8: 179-187.
- SUNG S & RM AMASINO. 2004. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 4-10.
- SUNG S & R M AMASINO. 2005. Remembering winter: Toward a molecular understanding of vernalization. *Annual Review of Plant Biology* 56: 49-508.
- THOMASHOW MF. 1999. Plant Cold acclimation:freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology* 50: 571-599.
- THOMASHOW MF. 2001. So what´s new in the field of plant cold acclimation? *Lots*. *Plant Physiology* 125: 89-93.
- VERTUCCI CW & JM FARRANT. 1995. Acquisition and loss of desiccation tolerance: 237-272. En Kigel J & G Galili (eds) *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker Inc. NY.
- WENT FW. 1953. The effect of temperature on plant growth. *Annual Review Plant Physiology* 4: 347-362.
- YAN L, A LOUKOIANOV, A BLECHL, G TRANQUILLI & W RAMAKRISHNA. 2004. The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down – regulated by vernalization. *Science* 303:1640-1644.