

Germinación de semillas

Objetivos:

1. Introducir términos relacionados a la estructura de la semilla.
2. Proveer experiencia en técnicas utilizadas cuando se estudia viabilidad de semillas.

La semilla es producida por dos grupos de plantas: gimnospermas y angiospermas, conocidas como espermatofitas. Esta estructura que se desarrolla a raíz de la fecundación de un óvulo le permite sobrevivencia, dispersión y colonización de hábitat por estas plantas. Dentro de una semilla se encuentra el **embrión** producto de una reproducción sexual que está latente hasta que las condiciones externas son favorables para su germinación y desarrollo. Una semilla es un embrión con un **suministro de alimento** que en las angiospermas se le conoce como endospermo. Esa reserva de alimento se compone principalmente de carbohidratos, aceites y proteínas. La composición varía entre especies, variedades de la misma especie, por factores genéticos y hasta por las prácticas agrícolas que es sometida la planta cuando es un cultivar. La semilla, también, tiene una **testa** que es la cubierta externa que protege al embrión. La anatomía de la testa es usada como un carácter taxonómico. Ésta cubierta se compone de cutícula, sustancias grasas y será con paredes gruesas. En algunos casos podría tener compuestos que protegen a la semilla de los insectos y patógenos. Además, es una barrera impermeable que restringe la entrada de agua como oxígeno. En las gimnospermas, la semilla tiene un embrión con varios cotiledones adheridos a un tallo corto y una raíz embrionaria. Por otra parte, las angiospermas varían dependiendo si es monocotiledónea o dicotiledónea. Las semillas de las dicotiledóneas tienen cotiledones prominentes que están unidos a tallo corto que al final tiene una raíz embrionaria conocida como **radícula**. Las semillas de las monocotiledóneas tienen un embrión pequeño con mucho endospermo y tienen un cotiledón conocido como **escutelo**. En ambas semillas, dicto como monocot, tienen radícula, **plúmula** que es vástago embrionario de donde se va desarrollar el **epicótilo**. Ésta estructura es el tallo sobre el cotiledón.

La **germinación** es un proceso fisiológico que finaliza con la emergencia del embrión que está contenido en la semilla. Este proceso es influenciado por factores externos e internos. Para que una semilla germine debe ocurrir un proceso de absorción de agua que es conocido como **imbibición**. Este proceso activa procesos metabólicos que promueven la expansión del embrión, y desarrollo y emergencia de la radícula. La absorción de agua por la semilla es la etapa inicial de la germinación. Hay semillas que quedan en estado de dormancia por mayor tiempo por las concentraciones de compuesto inhibidores dentro de estas como lo es la hormona ácido abscísico. Algunas semillas requieren pasar por exposición a luz o a temperaturas que rompan el estado de dormancia. Hay procesos artificiales de romper la dormancia en las semillas conocido como **escarificación** en donde se utiliza procesos mecánicos, químicos, sumergir en agua a altas temperaturas para poder romper la cubierta externa de la semilla. Cuando germina una semilla, primero sale la radícula y luego se desarrolla la plúmula. Dependiendo de la planta, los cotiledones de la semilla se quedan sobre el suelo y se denomina germinación **epigea**, pero en otras plantas los cotiledones quedan bajo tierra denominando como germinación **hipogea**.

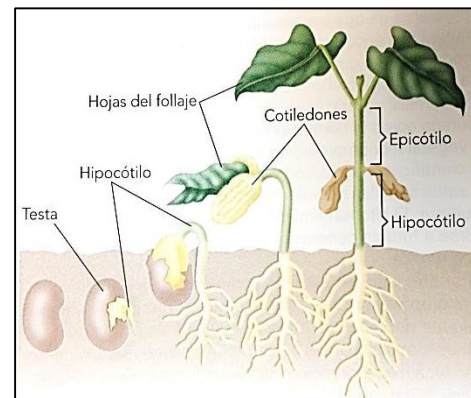


Lámina tomada del libro Introducción a la botánica

La prueba de germinación puede ser usada en experimento que quieren observar el comportamiento de las semillas de una especie de planta, en estudios del comportamiento de la semilla a condiciones ambientales como es la temperatura, la luz ó a compuestos químicos. Además, esta prueba es usada en trabajos de conservación. La prueba ayuda a medir la capacidad de germinación de las semillas de una población a un tiempo determinado, calculando un porciento de germinación. Permite realizar experimente para establecer las condiciones favorables para la germinación de las semillas de una especie de planta. En los banco de semillas, se usa la prueba de germinación para ver la viabilidad de las semillas que están almacenadas en el banco. Es una prueba rutinaria que se hace a todas las especies de plantas que se guardan en el banco de semilla. La prueba se lleva a cabo a los 7 días de haberse comenzado almacenar las semillas en el banco, a los tres meses y cada 5 a 10 años. La cantidad de semillas que se requiere para la prueba depende de la cantidad total de semillas que hay en el banco de semillas para esa especie. No se debe usar más del 10% de la colección de semillas para la planta a revisar. La prueba de germinación puede llevarse a cabo utilizando papel, arena o medio de cultivo como sustrato para colocar las semillas.

Practica

A. Medio de cultivo agar de agua a 1% (da para aproximadamente 8 platos Petri)

1. Añada 150 mL de dH₂O en un matraz de 500mL.
2. Añada 2 g de agar al agua mientras se agita suavemente.
3. Luego añada 50ml de dH₂O para hacer un volumen total de 200 mL de medio.
4. Agite continuamente y caliente hasta que el medio se vea transparente. No hervir.
5. Esteriliza el medio en una autoclave a un ciclo de 15 min a 121C° y 15 p.s.i.
6. Una vez finalizado el ciclo, espere que baje la temperatura para verterlo en los envases. No deje que se enfríe ya que se solidificará. Se vierte aproximadamente 25 ml del medio por plato Petri. Dejar que se solidifique a temperatura ambiente antes de guardarlos en la nevera. Utilice agarradera o guantes para el calor cuando este manejando el matraz con el medio caliente.

B. Higienización de las semillas

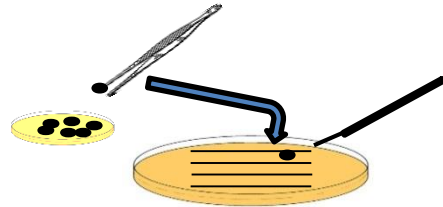
1. Coloca las 20 semillas en un plato Petri de cristal estéril o un envase estéril y añada una solución de hipoclorito de sodio (9 partes de agua y 1 parte de clorox comercial y Tween 20) hasta cubrir las semillas. Dejar sumergidas las semillas por 5-10 minutos. El hipoclorito ayuda a reducir la carga microbiana asociada al exterior de la semilla y el Tween 20 hace el efecto del jabón en la solución. Si tiene contacto con hipoclorito de sodio, enjuáguese el área con agua para evitar irritación.
2. Descarte la solución de hipoclorito de sodio en un envase designado por la instructora con cuidado de que las semillas se salgan del envase.
3. Añada agua estéril al envase con las semillas y agítelo suavemente para extraer los remanentes de hipoclorito de sodio. Descarte el agua y añada más agua al envase para un segundo enjuague. Los enjuagues permiten eliminar el remanente de hipoclorito de sodio que puede quedar en la superficie de la semilla.
4. Descarte el agua del segundo enjuague en el envase designado.

C. Porciento de germinación

Se va a cuantificar la cantidad de semillas que germinen de un total de 100 semillas. Cada mesa se va encargar de 20 semillas que equivale a 100 semillas por sección. Los datos de

las mesas serán compartidos con los otros compañeros para poder calcular el % germinación de semillas y el % de viabilidad de las semillas.

1. Limpie la mesa de trabajo con desinfectante y papel toalla para reducir contaminación por microorganismos en las semillas. Luego lávese las manos con agua y jabón.
2. Rotule con su nombre, sección y fecha en la parte de abajo del plato Petri, el número de semillas, especie de plantas que está trabajando y condiciones de germinación (temperatura y fotoperiodo). Además, puede trazar 4 líneas utilizando un marcador permanente que le ayude a designar el área en donde se colocaran las semillas.
3. Limpie una pinza con la técnica de flameado con alcohol y mechero. Sumerja la punta de la pinza en alcohol etílico 95%. Coloque la pinza en un ángulo de 45 grados con la punta hacia abajo para escurrir el exceso de alcohol. Luego pase la punta de la pinza por la flama del mechero. Déjala secar en un vaso de cristal pequeño y limpio (“beaker”). Utilice con cuidado las pinzas flameadas para evitar quemaduras. Coloque el envase que contenga alcohol etílico distante al mechero.
4. Coloque poco a poco todas las semillas limpias utilizando las pinzas limpias en el medio. Acomode las semillas en filas de 5 semillas y distantes una de la otra. Utilice la aguja de disección esterilizada a través de la técnica de flameado para acomodar las semillas en filas.



5. Coloque los platos Petri con las semillas en un lugar a 21 grados C y foto periodo de 12/12hrs.
6. Cunte cuantas semillas germinados y marque por debajo del plato con un marcador permanente las semillas germinadas. Los días que se vendrá a observar las semillas serán dado por su instructora. Deben coordinar con sus compañeros de mesas quien vendrá a hacer las observaciones. Comparta sus resultados con los otros compañeros para poder calcular el porcentaje de germinación y el porcentaje de viabilidad cuando la instructora lo indique. Este experimento tiene una duración de aproximadamente dos semanas de observación. Deben tomar fotos al plato cada vez que vienen hacer observaciones. Las fotos son parte de los resultados para el informe.
7. Al finalizar el experimento se debe verificar el estado de las semillas que no germinaron a través de la prueba de corte de semilla. Extraiga las semillas que no germinaron usando unas pinzas y colóquelas en un papel en blanco. Sujete la semilla con la pinza y corte las semillas con un bisturí. Observe las semillas bajo un estereoscopio para ver si las semillas que no germinaron están infestadas por insectos (**infestadas**), tiene hongos creciendo (**hongo**), están normales pero no germinaron (**frescas**) o tiene un desarrollo distinto a lo normal como no produjo radícula pero empezó proceso de germinación (**anormal**). Debe categorizarlas y contarlas para colocar el resultado en la tabla de abajo (tabla 2). La instructora indicará cuando se hará las observaciones de las semillas que no germinaron.

Tabla 1. Información de la planta usada para el ejercicio

Familia		Fecha (d/m/año)	Cantidad semillas
Género			
Especie			

Tabla 2. Data sobre germinación de las semillas de su mesa

Fecha										fresca	hongo	vacía	infestada	anormal	Fecha comienzo
Días															
Cantidad															% germinación
Total*															

* es acumulativo, sumas la cantidad germinadas de la vez anterior con el día que vuelves a observar. Ejemplo: 6 semillas germinadas para el día 7 y hay 5 semillas germinadas nuevas cuando hace la observación el día 14. Entonces hay 6+5 = 11 semillas germinadas para el total del día 14.

Tabla 3. Datos sobre la germinación de semillas en cada mesa

Mesa	Núm. semillas procesadas	Núm. semillas germinadas	% germinación	% viabilidad
1				
2				
3				
4				
5				

$$\% \text{ germinación} = \frac{\# \text{ semillas germinadas}}{\# \text{ semillas procesadas**}} \times 100$$

$$\% \text{ viabilidad} = \frac{(\# \text{ semillas germinadas} + \# \text{ semillas frescas} + \# \text{ semillas anormal})}{\# \text{ semillas procesadas**}} \times 100$$

** el número de semillas procesadas son el número de semillas sembradas en el medio de cultivo pero excluyendo las semillas que se observaron infestadas y/o vacías al momento de hacer la prueba de corte.

Referencia

Balbach, M. y L.C. Bliss. (1991). *A laboratory manual for botany*. Brooks/Cole, Canada.

Bewley, J.D., K.J. Bradford, H.W.M. Hilhost y H. Nonogaki. (2013). *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy*. 3^{era} ed. Springer Science+Business Media, LLC.

Davies, R., A. Di Sacco y R. Newton. (2015). *Germination testing: procedures and evaluation*. Technical Information Sheet 13a. Millennium Seed Bank Partnership. Wakehursts Place, Inglaterra.

Nabors, M.W. (2004). *Introducción a la botánica*. Pearson, España.