

**Lisjak, Gastón Iván**

*Evaluación de la germinación de semillas de cynara cardunculus (L.) y panicum virgatum (L.) en soluciones de trehalosa*

**Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria  
Facultad de Ciencias Agrarias**

Este documento está disponible en la Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina, repositorio institucional desarrollado por la Biblioteca Central "San Benito Abad". Su objetivo es difundir y preservar la producción intelectual de la Institución.

La Biblioteca posee la autorización del autor para su divulgación en línea.

Cómo citar el documento:

Lisjak, Gastón I. 2012. Evaluación de la germinación de semillas de cynara cardunculus (L.) y panicum virgatum (L.) en soluciones de trehalosa [en línea]. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/evaluacion-germinacion-semillas-cynara.pdf> [Fecha de consulta:.....]

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA**

**Facultad de Ciencias Agrarias**

**Ingeniería en Producción Agropecuaria**

**“Evaluación de la germinación de semillas de *Cynara cardunculus* (L.) y *Panicum virgatum* (L.) en soluciones de Trehalosa”**

**Trabajo final de graduación para optar por el título de:  
Ingeniero en Producción Agropecuaria**

Autor: Lisjak, Gastón Iván.

Profesor Tutor: Huarte, H. Roberto.

Fecha: 14 de agosto de 2012

## ÍNDICE

---

– Resumen	Página 3
– Introducción	Página 4
– Materiales y Métodos	Página 7
– Resultados	Página 10
– Discusión	Página 15
– Conclusión	Página 18
– Bibliografía	Página 19
– Anexos	Página 21

## RESUMEN

---

La incubación de semillas en diferentes soluciones dentro de un rango de potenciales agua específicos permite determinar el comportamiento germinativo de cada especie revelando la tolerancia de las distintas especies cultivadas al estrés hídrico. Las soluciones más utilizadas para arribar a potenciales osmóticos determinados son las de cloruro de sodio (NaCl) y polietilenglicol (PEG). El problema en la utilización de dichas sustancias es que pueden tener efectos tóxicos en las células, y pueden afectar el porcentaje de semillas germinadas. En el trabajo experimental se priorizó la idea de encontrar una sustancia con las ventajas experimentales de NaCl o PEG, pero sin sus perjuicios. Es por ello que se utilizaron soluciones de Trehalosa. El objetivo del trabajo experimental fue evaluar la germinación de *Cynara cardunculus* (L.) y *Panicum virgatum* (L.) en soluciones de potencial osmótico reducido obtenidas a partir de Trehalosa. Se calculó el porcentaje de semillas germinadas y el tiempo medio de germinación (T50) en cada potencial osmótico para cada especie. En la medida que las soluciones fueron más concentradas, disminuyó el porcentaje de semillas germinadas y aumentó el T50. Cumpliendo así con la premisa de ser un compuesto para simular condiciones de sequía en condiciones de laboratorio. Al comparar los resultados obtenidos con NaCl y Trehalosa, se concluyó que al utilizar Trehalosa el porcentaje de semillas germinadas puede ser superior. Al comparar los resultados obtenidos con Trehalosa y PEG, los resultados fueron similares.

## INTRODUCCIÓN

---

El potencial agua se definió como la capacidad para realizar un trabajo por unidad de masa y mover esa masa de agua sin solutos desde su estado hasta el de agua libre (Carpena et al., 2005). Al valor del potencial de agua en estado de referencia se le asignó un valor de cero. Para determinar el estado de referencia del agua, ésta se debe encontrar pura, libre y expuesta a presión atmosférica (Terrón, 1995). Los factores que afectan el potencial del agua son: los solutos disueltos (potencial osmótico), la adsorción del agua por parte de las partículas del suelo (potencial matricial), la elevación del agua del suelo en el campo gravitatorio (potencial de gravedad) y la presión aplicada (potencial de presión). A cada uno de los potenciales se le asigna un valor, siendo la suma de los cuatro, el valor del potencial agua (Taiz, 2006). Es de gran importancia conocer el valor de potencial agua. Esto permite saber si el agua se encuentra en equilibrio o en movimiento. En el caso de las semillas, estas solo podrán absorber agua cuando el potencial interno de la misma sea más negativo que el del medio (Valverde, 1998). El potencial osmótico se ve afectado por la concentración de solutos disueltos en la célula. El agregado de solutos disminuye el potencial libre, ya que las moléculas de agua interaccionan con las moléculas de solutos, y estas interacciones no se rompen fácilmente (Mauseth, 2009). Cuando la diferencia entre el potencial osmótico del medio y el potencial osmótico interno de la semilla sea mayor, el tiempo de germinación de las semillas será menor, y el porcentaje de semillas germinadas será superior (Bradford et al., 2005). Existen sustancias con alta presión osmótica capaces de inhibir la imbibición de la semilla. En efecto, sustancias como azúcares o sales, en determinadas concentraciones pueden competir por el agua, de modo que la semilla no logre embeberse suficientemente y de esta manera permanezcan sin germinar (Copeland y McDonald, 2001). Esto se debe a que la inhibición de la imbibición desactiva procesos como la síntesis de enzimas necesarias para la finalización de la germinación (Po Abit, 2008).

Para evaluar la tolerancia de cada especie al estrés osmótico, la incubación de semillas en diferentes soluciones dentro de un rango de potenciales agua específicos demuestra el

comportamiento germinativo de cada especie revelando la tolerancia de las distintas especies cultivadas al estrés hídrico (Santa Olalla et al., 2005). En los primeros ensayos de germinación bajo condiciones de estrés osmótico se utilizaban sales. Entre ellas, el cloruro de sodio (NaCl) era la sal más utilizada. Esta sal al entrar en contacto con agua se disocia en iones sodio y cloro, que se dispersan y quedan rodeados por moléculas de agua (Kotz et al., 2006). Posteriormente al uso de sales, se empezó a utilizar manitol. Sin embargo, existe evidencia de que estas sustancias de bajo peso molecular, sales y manitol, ingresan a la semilla en germinación pudiendo interferir con su metabolismo y en determinadas concentraciones presentan efectos tóxicos (Copeland y McDonald, 2001). Esta condición determinó que el uso de compuestos de alto peso molecular tengan un uso creciente en ensayos de germinación ya que simulan adecuadamente a las condiciones de sequía sin provocar toxicidad a la semilla (Po Abit, 2008). Entre estas sustancias se encuentra el polietilenglicol (PEG). El PEG es un polímero obtenido por métodos industriales, de alta viscosidad y alto peso molecular. Este compuesto es muy empleado en ensayos de germinación ya que por ser una molécula de alto peso molecular no pasa por la membrana plasmática de las células (Emmerich et al., 1990). En contrapartida de sus beneficios experimentales, numerosas investigaciones han demostrado que el PEG tiene un efecto tóxico sobre semillas y plantas ya que disminuye la disponibilidad de oxígeno (Steuter, 1980). Los efectos tóxicos del PEG se deben a la asociación del compuesto con metales pesados como el Aluminio y Magnesio que se encuentran en altas concentraciones para su síntesis (Mexal et al., 1975). Los daños causados a la planta por falta de oxígeno por el PEG, son similares a los contemplados por estrés hídrico por exceso de agua (Mexal et al., 1975). En repetidas ocasiones el PEG bloquea las vías por las que circula el agua causando la desecación de la planta (Steuter, 1980). En el mismo trabajo, se indica que aun con altos valores de potencial agua el transporte de oxígeno por la solución puede ser insuficiente para cumplir con los requerimientos de respiración de la planta.

En función de los antecedentes señalados, el trabajo experimental priorizó la idea de encontrar una sustancia con las ventajas experimentales del PEG, pero sin sus perjuicios y se consideró que la Trehalosa sería un compuesto que reúne esas condiciones. La Trehalosa es un disacárido no reductor, formado por dos moléculas de glucosa. Se encuentra presente

en una amplia gama de organismos, llevando a cabo funciones como azúcar de reserva y como protector ante el estrés abiótico. A su vez cumple el rol de osmoprotector, y juega un papel esencial en diversas etapas de desarrollo de la planta (Mascorro-Gallardo et al., 2005). La Trehalosa, por su alto peso molecular, 378 g/mol, no pasaría por la membrana plasmática de la célula (Barros, 2009), evitando por lo tanto que interfiera en el metabolismo de la célula. Además, en comparación con otros azúcares, tiene un alto grado de interacción con el agua, lo que facilita su hidratación a un rango variado de temperaturas y concentraciones (Mascorro-Gallardo et al., 2005). El objetivo del trabajo experimental fue evaluar la germinación de dos especies vegetales, *Cynara cardunculus* (L.) y *Panicum virgatum* (L.), en soluciones de igual potencial osmótico obtenidas a partir de Trehalosa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

### ***Material vegetal***

Se utilizaron semillas de *Panicum virgatum* y *Cynara cardunculus*. Las semillas de *P. virgatum* se obtuvieron de una parcela experimental ubicada en el campus de la Facultad de Ciencias Agrarias (UCA) cosechadas durante marzo de 2011. Las semillas de *C. cardunculus* se recolectaron en un establecimiento agropecuario ubicado en el partido de Azul, Provincia de Buenos Aires, en el año 2011.

### ***Sitio del experimento***

El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de Producción Vegetal en la Facultad de Ciencias Agrarias (UCA).

### ***Evaluación de germinación***

La germinación se evaluó durante 31 días en el caso de *C. cardunculus*, y durante 25 días en el caso de *P. virgatum*. Las semillas de *C. cardunculus* (seis repeticiones de 20 semillas cada una) fueron expuestas a una temperatura constante de 20°C, con un fotoperiodo de 12 horas. Las semillas de *P. virgatum* (seis repeticiones de 25 semillas cada una) fueron expuestas a un régimen de temperaturas alternadas de 30/15°C (12 horas de termoperiodo), con un fotoperiodo de 12 horas.

### ***Descripción del experimento***

Las 20 semillas se colocaron en cajas de Petri de 9 cm de diámetro sobre dos discos de papel de filtro. Las cajas, se cubrieron con film plástico con el objeto de evitar la evaporación. Se evaluó la cantidad de semillas germinadas al someterlas a potenciales de 0, -0.46, -0.48, -0.69 y -0.88 MPa para *P. virgatum* y de 0, -0.46, -0.48, -0.69, -0.88, -1.04 y -1.34 MPa para *C. cardunculus*. El cálculo para obtener los distintos potenciales osmóticos de las soluciones de Trehalosa fue a partir una forma tabulada de la relación entre potencial agua (MPa) y la actividad del agua (aw). Se graficaron ambas variables obteniéndose una regresión lineal ( $R^2=1$ ). En base al valor de aw equivalente para cada potencial osmótico, se

obtuvo la correspondiente concentración de Trehalosa. Las soluciones correspondientes para cada potencial, fueron analizadas con un osmómetro de vapor de presión (VPO, Model 5100 C, Wescor Inc., Logan, Utah, USA) a fin de obtener el potencial osmótico real de cada solución.

En el caso de *C. cardunculus* se agregaron 8 ml de la solución correspondiente por caja de Petri, mientras que para *P. virgatum* se utilizaron 6 ml. Al transcurrir un día de iniciado el experimento se reemplazaron las soluciones en las que se encontraban embebidas las semillas, y posteriormente se reemplazaron las soluciones cada seis días. Se verificó diariamente el número de semillas germinadas de cada especie y en cada tratamiento osmótico. Las semillas se removieron de la caja de Petri, una vez germinadas.

### **Análisis de datos**

El diseño estadístico empleado fue un diseño completamente al azar (DCA), con seis replicas. Los factores a analizados fueron:

- Potenciales osmóticos en semillas de *Cynara cardunculus* con seis niveles y testigo.
- Potenciales osmóticos en semillas de *Panicum virgatum* con cuatro niveles y testigo.

Modelos:

- Porcentaje de semillas germinadas de *Cynara cardunculus* = Media poblacional de porcentaje de semillas germinadas de *Cynara cardunculus* + Efecto del potencial osmótico sobre el porcentaje de semillas germinadas + Error o residuo aleatorio.
- Porcentaje de semillas germinadas de *Panicum virgatum* = Media poblacional de porcentaje de semillas germinadas de *Panicum virgatum* + Efecto del potencial osmótico sobre el porcentaje de semillas germinadas + Error o residuo aleatorio.

Se verificó mediante el test de Anova si existen diferencias significativas entre los distintos potenciales osmóticos. En el caso de existir dichas diferencias, se procedió a implementar

el test de Tukey, para cotejar cual de los potenciales resulta el más apto para lograr una mayor proporción de semillas germinadas.

En todos los casos se verificaron los tres supuestos de un DCA, donde las observaciones son aleatorias e independientes entre sí, las observaciones proceden de poblaciones normales y los tratamientos tienen la misma variabilidad. Para comprobar que los supuestos de normalidad y homocedasticidad se cumplan, se realizó la prueba de Shapiro-Wilks (modificado) y la prueba de Levene respectivamente. En los anexos se encuentran los resultados de dichas pruebas para cada especie.

## RESULTADOS

### **Efecto del potencial osmótico sobre el porcentaje de semillas germinadas en *Cynara cardunculus***

La reducción del potencial osmótico redujo la germinación acumulada de semillas en *Cynara cardunculus* a partir de un potencial osmótico de -0.69 MPa ( $p < 0.05$ ) (Figura 1). La germinación registrada en los potenciales osmóticos de 0 ( $90 \pm 10.49\%$ ) (media  $\pm$  DE), -0.46 ( $93.33 \pm 6.06\%$ ) y -0.48 ( $81.67 \pm 6.83\%$ ) MPa superó a la obtenida en resto de los tratamientos ( $p < 0.05$ ). En efecto la germinación obtenida en el potencial de -0.69 MPa fue de  $63.33 \pm 16.63\%$ , a -0.88 MPa ( $27.50 \pm 11.29\%$ ), a -1.04 MPa ( $9.17 \pm 9.17\%$ ) y a -1.34 MPa ( $2.50 \pm 4.18\%$ ).

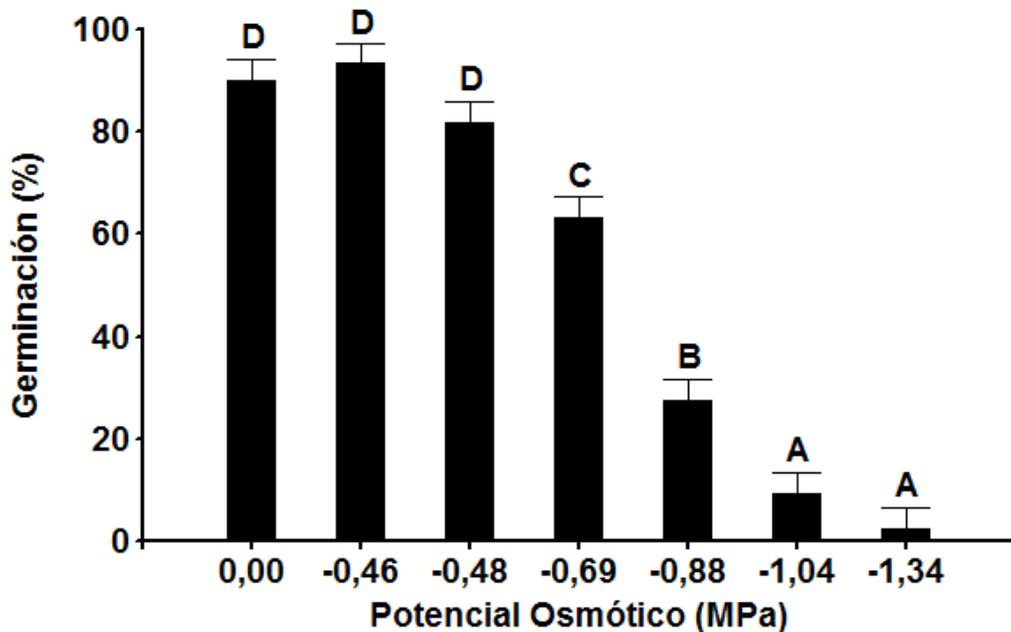


Figura 1. Efecto del potencial osmótico sobre el porcentaje de semillas germinadas en *Cynara cardunculus*. Potenciales osmóticos con una letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

## Efecto del potencial osmótico sobre el tiempo de germinación en semillas de *Cynara cardunculus*

La reducción del potencial osmótico incrementó progresivamente el tiempo medio de germinación (T50) de *C. cardunculus* (Figura 2). Se calculó el T50 para cada potencial, y para ello se estableció una regresión lineal mediante la función Gompertz. Al utilizar agua destilada (0 MPa) el T50 resultó de 5.57 días, mientras que a -0.46 MPa resultó de 4.6 días y -0.48 MPa 6.35 días. La diferencia a un potencial de -0.69 fue mayor, donde el T50 fue de 13.51 días. En potenciales de -0.88, 1.04 y 1.34 MPa no fue posible el cálculo de este parámetro debido a que no se alcanzó el 50% de semillas germinadas.

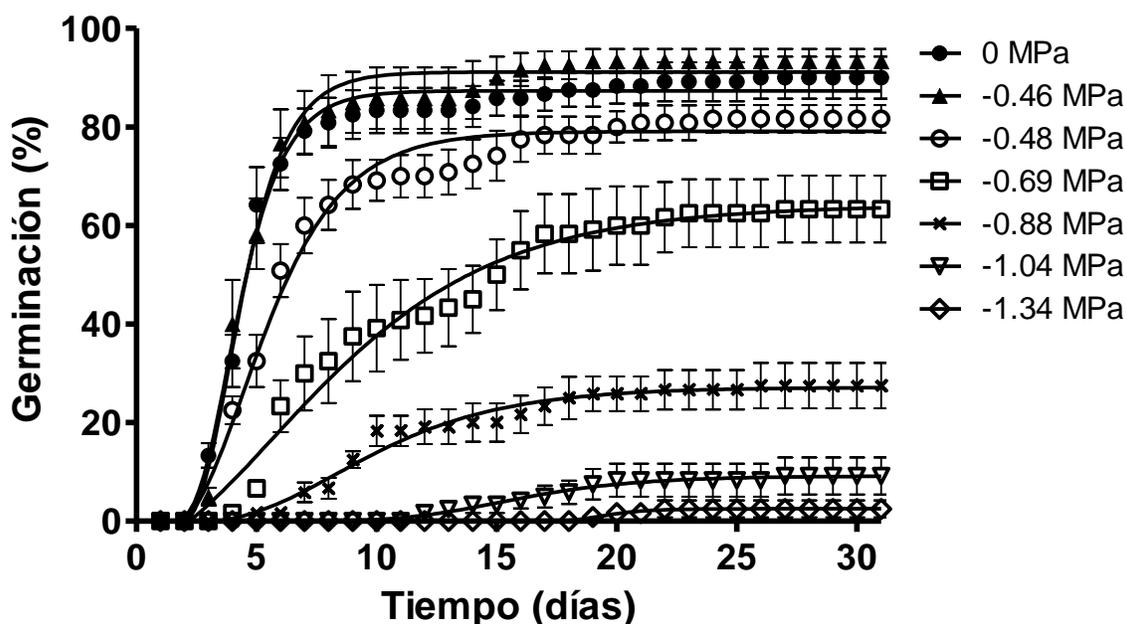


Figura 2. Tiempo de germinación de semillas de *Cynara cardunculus* en potenciales osmóticos de 0, -0.46, -0.48, -0.69, -0.88, -1.04 y -1.34 MPa.

En los primeros 7 días se observó que en los tratamientos de 0, -0.46 y -0.48 MPa el porcentaje de semillas germinadas se incrementó notablemente. A partir del día 25 se verificó que las curvas llegaron a un punto, donde el porcentaje de semillas germinadas se mantuvo invariable, incluso a potenciales osmóticos muy negativos. En la curva correspondiente al potencial -0.88 MPa el crecimiento no fue tan marcado como para los

potenciales anteriores. A partir del día 25, el porcentaje acumulado de semillas germinadas se mantuvo constante. El desarrollo de las curvas de -1.04 MPa y -1.34 MPa fue similar, se observó que el inicio de la germinación se dio pasados los 10 días y el incremento no fue tan marcado como en los casos anteriores.

### **Efecto del potencial osmótico sobre el porcentaje de semillas germinadas en *Panicum virgatum***

La reducción del potencial osmótico redujo la germinación acumulada de semillas en *Panicum virgatum* a partir de un potencial de osmótico de -0.88 MPa ( $p < 0.05$ ) (Figura 3). Potenciales osmóticos de 0 ( $91.33 \pm 5.89$ ), -0.46 ( $91.33 \pm 6.89$ ), -0.48 ( $81.33 \pm 4.84$ ) y -0.69 ( $79.33 \pm 8.55$ ) MPa demostraron un mayor porcentaje de semillas germinadas, que a un potencial de -0.88 MPa ( $62.67 \pm 11.50$ ).

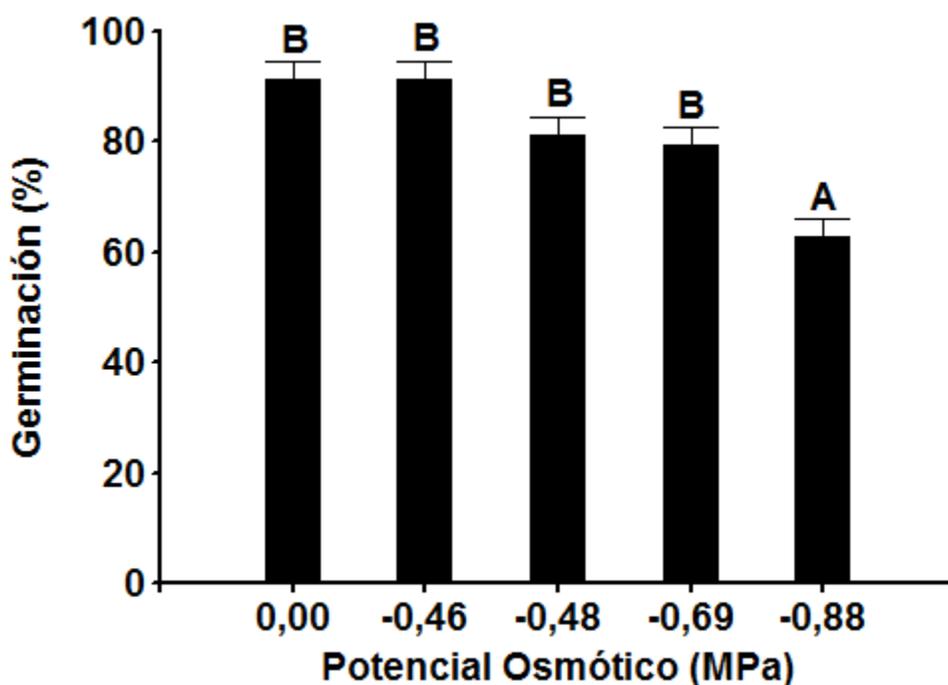


Figura 3. Efecto del potencial osmótico sobre el porcentaje de semillas germinadas en *Panicum virgatum*. Potenciales osmóticos con una letra distinta son significativamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

### **Efecto del potencial osmótico sobre el tiempo de germinación en semillas de *Panicum virgatum***

Al aplicar potenciales osmóticos más negativos se observó un retraso en la germinación de las semillas. La reducción del potencial osmótico incrementó progresivamente el tiempo medio de germinación (T50) (Figura 4). En potenciales de 0 y -0.46 MPa el T50 resultó similar, siendo de 6.71 días (0 MPa) y 7.28 días (-0.46 MPa). Los días para llegar a T50 de germinación se incrementaron en los potenciales de -0.48 MPa (9.11 días) y -0.69 MPa (11.49 días). Se obtuvo un T50 superior a todos los tratamientos en el caso de -0.88 MPa, resultando de 17.74 días.

El comportamiento de las curvas en los tratamientos 0 y -0.46 MPa fue similar, al igual que los tratamientos -0.48 y -0.69 MPa. Distinto es el caso del tratamiento -0.88 MPa que no mostró una curva similar a ninguno de los tratamientos. Al observar la figura 4 se observó que en los tratamientos de 0, -0.46, -0.48 y -0.69 MPa, el porcentaje de semillas germinadas tuvo un crecimiento marcado entre los días 5 y 15. En el tratamiento de -0.88 MPa el porcentaje de semillas germinadas comenzó a aumentar en el día 5, sin embargo dicho crecimiento es gradual, manteniéndose así hasta el día 23.

En los tratamientos de 0, -0.46, -0.48 y -0.69 MPa a partir del día 15 se advirtió que el porcentaje de semillas germinadas se mantuvo constante hasta el día de finalización del experimento, pudiendo concluir que en los primeros 15 días germinaron la mayor proporción de semillas a esos potenciales.

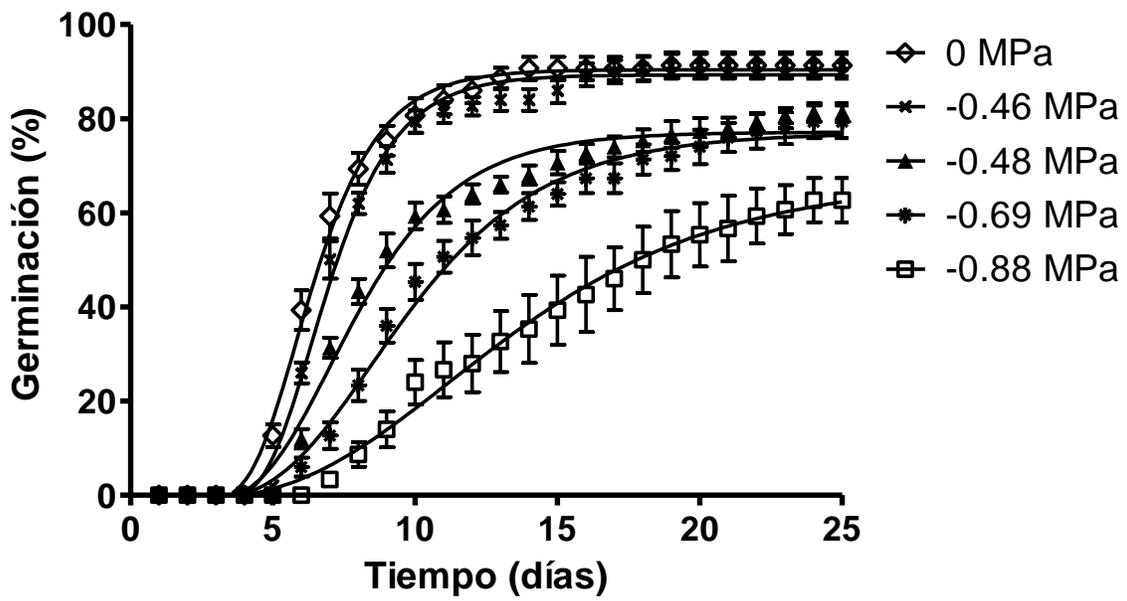


Figura 4. Tiempo de germinación de semillas de *Panicum virgatum* en potenciales osmóticos de 0,- 0.46, -0.48, -0.69 y -0.88 MPa.

## DISCUSIÓN

En la medida que la concentración de Trehalosa se incrementó, el porcentaje de semillas germinadas fue inferior. Este efecto fue más notorio cuando se utilizaron potenciales más negativos, -1.04 MPa y -1.34 MPa en *Cynara cardunculus*, y -0.88 MPa en *Panicum virgatum*. Huarte y Benech Arnold (2005) en un trabajo realizado con *Cynara cardunculus* informaron una reducción en el porcentaje de semillas germinadas semejante al obtenido en el presente trabajo experimental. En ese experimento el compuesto utilizado fue PEG 8000. En ese artículo se describió una germinación menor al 30% a potenciales de -0.8 MPa, mientras que en el presente trabajo experimental el porcentaje de semillas germinadas fue de  $27.50 \pm 11.29\%$  a un potencial de -0.88 MPa. En cambio, el mismo artículo describe una germinación menor al 75% a -0.5 MPa, mientras que en este trabajo experimental se alcanzó  $81.67 \pm 6.83\%$  de semillas germinadas bajo un potencial de -0.48 MPa. Sobre la misma población de semillas Gatti y Oliverio (datos no publicados) las incubaron en soluciones de PEG y NaCl. Al comparar potenciales de -0.46 MPa se encontró que no existen diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el porcentaje de semillas germinadas, al utilizar soluciones de Trehalosa ( $93.33 \pm 6.06\%$ ) o PEG ( $92.50 \pm 5\%$ ). En el mismo sentido, a un potencial de -0.48 MPa tampoco se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) al utilizar soluciones de Trehalosa ( $81.67 \pm 6.83\%$ ), PEG ( $97.50 \pm 2.50\%$ ) o NaCl ( $91.25 \pm 8.75\%$ ). Las comparaciones se realizaron utilizando Anova, y se detallan en los anexos. Se puede observar que los resultados obtenidos en *Cynara cardunculus* en el presente trabajo experimental y las otras investigaciones son similares.

En *Panicum virgatum* se observó una reducción de las semillas germinadas en el tratamiento a -0.88 MPa, con respecto a los demás potenciales. Guiling et al. (2012) encontraron diferencias entre tratamientos con soluciones de NaCl a distintos potenciales (-0.04 a -0.42 MPa). Guiling obtuvo a -0.10 MPa un 68% de semillas germinadas y a un potencial de -0.21 MPa 62% de semillas germinadas, mientras que en el presente trabajo experimental se logró un mayor porcentaje de semillas germinadas ( $91 \pm 6.88\%$ ) a un potencial de -0.46 MPa. Guiling también trabajó a un potencial de -0.42 MPa, logrando un porcentaje de semillas germinadas de  $36 \pm 8.2\%$ , valor que es inferior al obtenido en el

presente trabajo experimental a  $-0.46$  MPa ( $91 \pm 6.88\%$ ). Se observa que el porcentaje de semillas germinadas al utilizar Trehalosa es notablemente superior que al usar NaCl, inclusive en los potenciales más negativos. Dicho efecto puede estar explicado por el efecto tóxico que generan los iones Na y Cl al ingresar a la célula, una vez dissociados en solución (Copeland y McDonald, 2001). En otro experimento realizado con *Panicum virgatum*, Zegada-Lizarazu et al. (2012) señalan que al utilizar soluciones de PEG y NaCl con potenciales más negativos a  $-0.25$  MPa existen efectos perjudiciales sobre el porcentaje de germinación. Dicho efecto no se encontró en el presente trabajo experimental. Inclusive a un potencial de  $-0.46$  MPa ( $91 \pm 6.88\%$ ) el porcentaje de semillas germinadas no fue significativamente inferior ( $p > 0.05$ ) al obtenido a  $0$  MPa ( $91 \pm 5.88\%$ ). Al observar dichos datos se puede comprobar que al utilizar Trehalosa se mejora sensiblemente el porcentaje de semillas germinadas cuando es utilizada en potenciales hasta  $-0.46$  MPa. En otro experimento, Cipriotta (datos no publicados) trabajó con PEG y NaCl a un potencial de  $-0.44$  MPa, y sus resultados no difieren significativamente ( $p > 0.05$ ) a los obtenidos en este trabajo experimental a  $-0.46$  MPa. Al comparar otro potencial con el que trabajó Cipriotta con PEG ( $-0.56$  MPa) y un potencial similar en el presente trabajo experimental ( $-0.69$  MPa) si existieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en lo logrado con PEG, con respecto a lo obtenido con Trehalosa. El porcentaje de semillas germinadas fue superior al utilizar Trehalosa, Cipriotta a un potencial de  $-0.56$  MPa obtuvo  $57 \pm 2\%$  de semillas germinadas con PEG, mientras que en el presente trabajo experimental se logró  $79.33 \pm 8.55\%$  a un potencial de  $-0.69$  MPa. En potenciales osmóticos más negativos, al comparar los valores de Cipriotta al utilizar PEG ( $-0.79$  MPa) y NaCl ( $-0.81$  MPa) y los obtenidos con Trehalosa ( $-0.88$  MPa) se logró mejor porcentaje de semillas germinadas ( $p < 0.05$ ) al utilizar Trehalosa y NaCl, que al utilizar PEG. A  $-0.79$  MPa Cipriotta obtuvo  $0\%$  de semillas germinadas con PEG y  $71.75 \pm 5.44\%$  con NaCl ( $-0.81$  MPa), mientras que en el presente trabajo experimental se obtuvo  $62.67 \pm 11.50\%$  a un potencial de  $-0.88$  MPa. Al comparar los resultados obtenidos por Cipriotta en PEG y NaCl y los logrados en el presente trabajo experimental con Trehalosa se observa que a potenciales osmóticos moderadamente negativos ( $-0.46$  MPa), no existe diferencia en el porcentaje de semillas germinadas al utilizar NaCl, PEG o Trehalosa. Sin embargo, al comparar los valores obtenidos a

potenciales más negativos (-0.69 MPa y -0.88 MPa) se observa que el porcentaje de semillas es inferior al utilizar PEG, que al utilizar Trehalosa o NaCl. A diferencia de PEG o NaCl que a determinadas concentraciones tienen efectos tóxicos, la Trehalosa es un compuesto natural que juega un papel esencial en diversas etapas de desarrollo de los organismos vivos (Mascorro-Gallardo et al., 2005). A su vez, la Trehalosa por su alto peso molecular 378 g/mol, no pasaría por la membrana plasmática de la célula (Barros, 2009). A potenciales más negativos, los efectos negativos provocados por la utilización de PEG, como la disminución de la disponibilidad de oxígeno y efectos tóxicos (Steuter, 1980), podrían generar un menor porcentaje de semillas germinadas. Al utilizar potenciales osmóticos más negativos queda en evidencia que PEG tienen efectos negativos sobre el porcentaje de semillas germinadas logrado. A su vez, con Trehalosa se demostró puede arribar a potenciales osmóticos negativos, sin afectar el porcentaje de semillas germinadas por efectos tóxicos. Al utilizar NaCl se logró un porcentaje de semillas germinadas similar, que al utilizar Trehalosa, sin embargo en un trabajo donde se necesite realizar mediciones posteriores a la germinación (biomasa, por ejemplo) la utilización de NaCl genera el riesgo de que los resultados se vean distorsionados, ya que los iones disociados entran a las células, causando alteraciones en las funciones metabólicas de la planta (Copeland y McDonald, 2001). Por otro lado, Trehalosa es un compuesto natural, de alto peso molecular, por lo que no ingresa en la célula, y presente gran cantidad de organismos en la naturaleza.

## CONCLUSIONES

---

- La Trehalosa demostró ser un soluto que interactúa muy bien con el agua. Incluso en altas concentraciones se logró una solución homogénea.
- En la medida que la concentración de Trehalosa se incrementó, el porcentaje de semillas germinadas fue inferior.
- Utilizando potenciales osmóticos más negativos se produjo un retraso en el inicio de la germinación de las semillas en ambas especies.
- Al contrastar los resultados obtenidos en el trabajo experimental con los publicados al utilizar NaCl, se llegó a la conclusión que el porcentaje de semillas germinadas fue superior al utilizar Trehalosa.
- Se verificó que la Trehalosa obtuvo porcentajes de semillas germinadas similares a los obtenidos con PEG 8000. Sin embargo, las ventajas de la Trehalosa se manifiestan al realizar estudios no solo de germinación, sino también mediciones de biomasa posteriores. PEG puede tener efectos negativos sobre el crecimiento de la planta (Steuter, 1980). Trehalosa logra simular condiciones de sequía al igual que PEG, y por otro lado permite un óptimo desarrollo de la planta.
- En los ensayos con *Panicum virgatum* se encontró una marcada diferencia al utilizar Trehalosa y NaCl, que al utilizar a PEG. Dicha diferencia se acentuó a potenciales más negativos (-0.69 MPa y -0.88 MPa).

## BIBLIOGRAFÍA

---

Barros, C. Alimentos Nuevos y Nuevos Ingredientes Alimenticios y/o Alimentarios según la Comunidad Europea. Madrid, Editorial Visión Libros, 2009, pág. 121.

Bradford K. Seed Development and Germination. New York, Marcel Dekker, Inc., 1995, pag. 351-372.

Bradford K.; Still D. (2005) Applications of Hydrotime Analysis in Seed Testing. Lawrence, Kansas; USA.

Carpena R.; Rodríguez A. Hidrología Agroforestal. Canarias, Mundi-Prensa, 1ra edición, 2005, pág 112-113.

Copeland L.; McDonald M. Principles of seed science and technology. Massachusetts, Kluwer Academic Publishers, 4ta edición, 2001, pág. 151.

Emmerich W., Hardegree S. (1990). Polyethylene Glycol Solution contact effects on seed germination. USDA-Tucson, Estados Unidos.

Guiling S.; Neal S.; Peng X.; Baohong Z. (2012) MicroRNA Expression Analysis in the Cellulosic Biofuel Crop Switchgrass (*Panicum virgatum*) under Abiotic Stress. East Carolina University, Greenville, North Carolina, USA.

Hardegree S.; Emmerich W. (1993) Seed germination response to polyethylene glycol solution depth. Boise, USA.

Huarte H., Benech-Arnold R. (2005). Incubation under fluctuating temperatures reduces mean base water potential for seed germination in several non-cultivated species. Universidad de Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina.

Kotz J., Treichel P., Weaver C. Química y Reactividad Química. Buenos Aires, Cengage Learning Editores, 6ta edición, 2006, pág. 151.

Mascorro J., Avonce N., Iturriaga G. (2005). Biotecnología de la Trehalosa en las plantas, Revista Chapingo. Chapingo, México. 2 (11): 193-202.

Mauseth J. Botany: An Introduction to Plant Biology. Ontario, Jones and Bartlett Publishers, 4ta edición, 2009, pág. 269-273.

Mexal J., Fischer J., Osteryoung J., Patrick P. (1975). Oxygen Availability in Polyethylene Glycol Solutions and Its Implications in Plant-Water Relations. Colorado State University, USA.

Po Abit P. (2008). Ecological and Physiological Basis for the Distribution of Woody Plants Along Water Availability Gradients in the Southeastern United States Mixed Forest. Ann Arbor, USA.

Santa Olalla F., López Fuster P., Calera Belmonte A. Agua y Agronomía. Madrid, Grupo Mundi Prensa, 1ra edición, 2005, pág. 31-33.

Steuter A. (1980). Water Potential of Aqueous Polyethylene Glycol. Texas Tech University, Estados Unidos.

Taiz L., Zeiger E. Plant Physiology. Sunderland, Sinauer Associates Inc, 3ra edición, 2006, pág 64-66.

Terrón P. Tratado de Fitotecnia General. Bilbao, Grupo Mundi-Prensa, 2da edición, 1995, pág 208-209.

Valverde, J. Riego y Drenaje. Costa Rica, Universidad Estatal a distancia San Jose, 1ra edición, 1998, pág 44-45.

Zegada-Lizarazu W.; Wullscheleger S.; Surendran N.; Monti A. Switchgrass: A Valuable Biomass Crop for Energy. Londres, Springer-Verlag, 1ra edición, 2012, pág. 78.

## AGRADECIMIENTOS

---

- Jorge Chirife facilitó el cálculo de regresión para obtener la concentración de Trehalosa correspondiente a cada potencial.

- Claudio Chimenti permitió verificar los potenciales osmóticos de las soluciones en el VPO de la Facultad de Agronomía en la Universidad de Buenos Aires.

## ANEXOS

---

### **Supuestos de Anova de un factor**

#### *Cynara cardunculus*

#### **Normalidad**

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Semillas	42	0,00	9,23	0,98	0,9393

#### **Homocedasticidad**

Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RABS Semillas	42	0,28	0,16	73,73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	382,14	6	63,69	2,30	0,0566
Potencial Osmotico	382,14	6	63,69	2,30	0,0566
Error	970,83	35	27,74		
Total	1352,98	41			

#### *Panicum virgatum*

#### **Normalidad**

Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO Semillas	30	0,00	7,32	0,93	0,1682

## Homocedasticidad

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
RABS Semillas	30	0,13	0,00	77,36

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	76,68	4	19,17	0,97	0,4391
Potencial	76,68	4	19,17	0,97	0,4391
Error	491,85	25	19,67		
Total	568,53	29			

## *Cynara cardunculus* – Comparación Peg y Trehalosa -0.46 MPa

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
‡ Semillas	8	0,47	0,39	4,74

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	112,50	1	112,50	5,40	0,0591
Solución	112,50	1	112,50	5,40	0,0591
Error	125,00	6	20,83		
Total	237,50	7			

Se verificó que se cumplan los tres supuestos.

## *Cynara cardunculus* – Comparación Peg y Trehalosa -0.48 MPa

### Análisis de la varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
‡ Semillas	8	0,39	0,29	6,09

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	112,50	1	112,50	3,86	0,0972
Solución	112,50	1	112,50	3,86	0,0972
Error	175,00	6	29,17		
Total	287,50	7			

Se verificó que se cumplan los tres supuestos.

### ***Cynara cardunculus* – Comparación NaCl y Trehalosa -0.48 MPa**

#### **Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
‡ Semillas	8	0,01	0,00	10,36

#### **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,13	1	3,13	0,03	0,8588
Solución	3,13	1	3,13	0,03	0,8588
Error	543,75	6	90,63		
Total	546,88	7			

Se verificó que se cumplan los tres supuestos.

### ***Panicum virgatum* – Comparación NaCl, PEG y Trehalosa -0.46 MPa**

#### **Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
‡ Semillas	12	0,07	0,00	11,31

#### **Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	69,50	2	34,75	0,36	0,7094
Compuesto	69,50	2	34,75	0,36	0,7094
Error	876,75	9	97,42		
Total	946,25	11			

Se verificó que se cumplan los tres supuestos.

***Panicum virgatum* – Comparación NaCl, PEG y Trehalosa -0.69 MPa**

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1674,67	2	837,33	16,67	0,0009
Compuesto	1674,67	2	837,33	16,67	0,0009
Error	452,00	9	50,22		
Total	2126,67	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=13,99102

Error: 50,2222 gl: 9

Compuesto	Medias	n	E.E.	
PEG	57,00	4	3,54	A
NaCl	81,00	4	3,54	B
Trehalosa	83,00	4	3,54	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

Se verificó que se cumplan los tres supuestos.

***Panicum virgatum* – Comparación NaCl, PEG y Trehalosa -0.88 MPa**

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11979,50	2	5989,75	76,06	<0,0001
Compuesto	11979,50	2	5989,75	76,06	<0,0001
Error	708,75	9	78,75		
Total	12688,25	11			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=17,51970

Error: 78,7500 gl: 9

Compuesto	Medias	n	E.E.	
PEG	0,00	4	4,44	A
Trehalosa	61,00	4	4,44	B
NaCl	71,75	4	4,44	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ )

Se verificó que se cumplan los tres supuestos.