

Moreno Banegas, Gabriela

*Caracterización de la respuesta a la temperatura
en la germinación de semillas de Jatropha curcas*

**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:

Moreno Banegas, G. 2012. Caracterización de la respuesta a la temperatura en la germinación de semillas de Jatropha curcas [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/caracterizacion-respuesta-temperatura-germinacion.pdf> [Fecha de consulta:.....]

(Se recomienda indicar fecha de consulta al final de la cita. Ej: [Fecha de consulta: 19 de agosto de 2010]).



UCA

Facultad de Ciencias Agrarias

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA

Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería en Producción Agropecuaria

**“Caracterización de la respuesta a la temperatura en la
germinación de semillas de *Jatropha curcas*”**

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

Autor: Moreno Banegas, Gabriela

Profesor Tutor: Ing. Agr. Liliana Beatriz Windauer

Fecha: 20 de Marzo de 2012

Resumen

La situación energética actual, la insaciable demanda energética y alimenticia y el complejo panorama sobre el futuro de los combustibles fósiles, han forzado a la búsqueda acelerada de nuevas fuentes alternativas para producir energía, entre ellas la producción de energía a partir de productos vegetales. Para no enfrentar ambas necesidades, el desafío de encontrar productos vegetales no comestibles, que se adapten a zonas marginales, que sean rentables y que proporcionen una fuente alta de energía, promete ser la alternativa prometedora que encaje en el escenario futuro y actual.

El estudio profundo de nuevas especies, como *Jatropha curcas* para la producción de biodiesel adquiere relevancia. Este trabajo tiene el propósito de ampliar la frontera del conocimiento en el mecanismo fisiológico de germinación de *J. curcas*. El objetivo es poder caracterizar la respuesta a la temperatura durante la germinación de esta especie usando el análisis de tiempo térmico. Para esto se incubaron semillas de *J. Curcas* a cuatro diferentes temperaturas (20, 25, 30 y 35°C) en agua destilada ($\Psi_a=0$ MPa).

La temperatura base y temperatura óptima fueron 19°C y 30°C respectivamente. Aproximadamente el 40% de la población de semillas manifestó dormición absoluta. Otra parte de la población presentó dormición relativa, que se expresó progresivamente en distintas fracciones cuando la temperatura de incubación se alejó de los 30°C.

La aplicación práctica de los resultados encontrados en esta tesis, revela severas dificultades tanto para la germinación como para el establecimiento del stand de plantas de *Jatropha curcas*, las cuáles deberán ser consideradas por los mejoradores durante el proceso de selección y domesticación. La más importante de las limitaciones es el estrecho rango de temperaturas en el cual no se encuentran los problemas de dormición y la elevada tendencia que presenta la semilla para entrar en dormición secundaria con temperaturas mayores a 30°C.

Índice

Introducción.....	pág 3
Objetivo del proyecto.....	pág 8
Materiales y Métodos	
• Generalidades.....	pág 8
• Germinación de semillas.....	pág 9
• Tratamientos.....	pág 11
• Procesamiento de datos.....	pág 11
Resultados	
• Experimento 1 en laboratorio	
- <i>Dinámica de Germinación</i>	pág 12
- <i>Determinación del Tiempo de germinación y Tasa de desarrollo</i>	pág 13
- <i>Determinación de Temperatura base, óptima y Tiempo térmico</i>	pág 16
• Experimento 2 y 3 en laboratorio.....	pág 17
Discusión.....	pág 18
Conclusiones.....	pág 19
Bibliografía.....	pág 20
Anexos.....	pág 22

Introducción

La extracción mundial de petróleo, combustible fósil, está en disminución, mientras la demanda mundial no cesa su incremento. A su vez, el crecimiento explosivo de la población mundial y el aumento de la intervención del hombre en la naturaleza ha provocado un notable deterioro de los recursos naturales (Soriano, 1996). Este panorama pone a los productores en una situación desconcertante y sin precedentes, para la cuál se deben buscar distintas alternativas para satisfacer la incesable demanda de productos y servicios entre los cuáles se encuentran el alimento y la provisión de energía (FAO, 2000).

Una posible solución a esta problemática, estaría dada por del reemplazo progresivo de los combustibles fósiles por otros renovables (Ploschuk y Windauer, 2006), a través de la introducción de mayor cantidad de fuentes vegetales alternativas para producir energía renovable proveniente de biomasa, es decir, energía solar transformada (Moreno González, 1997).

La producción mundial de biocombustibles se ha visto triplicada entre el año 2000 y el 2007 (Sims and Tylor, 2007). Este panorama lleva a los países latinoamericanos a formular leyes que regulen y promuevan la producción sustentable de biocombustibles y su introducción en la mezcla con combustibles fósiles. Es así, que en el año 2008 Argentina promulga la ley de Regulación y Promoción para la Producción y el Uso sustentable de Biocombustibles, en donde se dicta que el combustible fósil debe ser mezclado en un 5 por ciento con biodiesel a partir del cuarto año siguiente a la promulgación de la ley. (Art. 7, Ley de biocombustibles 26.093, 2008). A partir del año 2010 la ley entra en vigencia y genera la oportunidad de incursionar con mayor seguridad en el desarrollo de los biocombustibles.

En la actualidad la mayor producción de biodiesel se obtiene a partir de la extracción de aceite de cultivos tradicionales, los que son utilizados para la alimentación humana y animal, como la colza, la soja, el girasol. Además de esto, tales cultivos son producidos en los suelos más fértiles de la República Argentina. Esto demuestra que no se está dando relevancia a la situación alimenticia y energética actual.

Se espera que el balance mundial de oferta y demanda de alimentos sea más ajustado durante las próximas tres o cuatro décadas que lo que fuera en décadas recientes. Se prevé que para el 2050 la producción mundial de alimentos aumentará en un 70 por ciento. Este aumento de la demanda de alimentos, aunado a la competencia por la demanda de otros usos como ser la producción de biocombustible, ejercerá una presión sin precedentes en los sistemas de producción agrícola de todo el mundo (FAO, 2008).

Esto significa que tenemos la apremiante necesidad de compatibilizar ambas necesidades existentes, buscando alternativas más sustentables y que se adecuen a la situación para la obtención de energía, sin comprometer la producción y oferta de alimentos sanos, ni su accesibilidad (Ploschuk y Windauer, 2006).

Frente a esta demanda combinada, los biocombustibles provenientes de especies vegetales no comestibles y adaptadas a condiciones marginales, donde no ejerzan competencia con los cultivos tradicionales, aparecen como una alternativa posible. Es en este punto donde entra la opción de utilizar un cultivo oleaginoso alternativo como *Jatropha curcas*, cuyo aceite es no comestible, por ser altamente tóxico para el organismo, y se adapta perfectamente a condiciones marginales sin generar competencia con los cultivos tradicionales destinados a la alimentación. Sin embargo, vale la pena destacar de que se trata de una especie con bajo nivel de domesticación, de la cuál se tiene poco conocimiento sobre sus mecanismos fisiológicos. Por tal motivo, no existe un paquete tecnológico fiable y probado en esta especie, lo cuál conlleva a una serie de inconvenientes para su producción comercial.

Jatropha curcas aparece como la gran candidata a convertirse en una especie generadora de energía renovable. Es tal la importancia que *Jatropha curcas* ha adquirido en los últimos años que se prevé que en 2015 habrán sembradas alrededor de 13 millones de hectáreas en las regiones tropicales de Asia, África y América (Ovando et al., 2009); sin embargo, se desconocen muchos aspectos de la especie, incluyendo la diversidad genética y sus demás procesos fisiológicos.

Jatropha curcas es una especie de la familia de las Euforbiáceas, es perenne, puede vivir y producir por más de 40 años. Originaria de México y Centroamérica, adaptada a condiciones marginales. Se la encuentra en regiones áridas a semiáridas. Esta ampliamente distribuida en Sudamérica, Centroamérica, India, África y en el sudeste Asiático. (Sanchez-Gutierrez et al., 2010).

Crece en forma de arbusto de corteza blanco grisácea, de tamaño mediano y alcanza 3 a 5 metros de altura. Del tallo se extrae un látex translucido y de sus hojas y corteza, sustancias que son usadas como insecticidas orgánicos naturales por su alto grado de toxicidad. Las hojas se forman con 5 a 7 lóbulos acuminados, pocos profundos y grandes con pecíolos largos de 10 a 15 cm y de igual ancho (Ver Foto 1). Es un arbusto con hojas caducas. Normalmente se forman cinco raíces, una central y cuatro periféricas.



a)



Foto 1:a) y b) Planta de *Jatropa curcas* proveniente del Ensayo sembrada en el Inveráculo de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UCA.

La inflorescencia se forma terminalmente en el axial de las hojas en las ramas. Ambas flores, masculinas y femeninas, miden entre 6 y 8mm y son de color amarillo verdoso. Cada inflorescencia rinde un manojo de aproximadamente 10 frutos ovoides o más (Torres, 2008). (Ver Foto 2).

El fruto de *Jatropa curcas* es una cápsula drupácea y ovoide con un diámetro que mide entre 1,5 y 3 cm, es triocular, con una semilla en cada cavidad. La semilla es negra, relativamente grande y en estado seco mide 1,5 a 2 cm de largo y entre 1,0 y 1,3 cm de ancho. Puede pesar de 0,551 a 0,797 gr. dependiendo de la variedad, condiciones agronómicas y manejo de la planta. La semilla de *Jatropa curcas* contiene 25 a 40% de aceite, el cuál es de color amarillo claro, inodoro y fácil de extraer por presión mecánica (Braga, 1976). El desarrollo del fruto necesita 90 días desde la floración hasta la madurez fisiológica de la semilla, tornándose el fruto marrón al completarse el proceso (Torres, 2008).

El aceite de *Jatropa sp.* contiene alcaloides, sapogeninas, taninos, esteroides, toxoalbúminas y compuestos cianogénicos. Además, contiene aceites fijos, ácidos grasos como el palmítico, oleico, linoleico y esteárico. El aceite tiene un poder calorífico de 9,470kcal/kg (Torres, 2008).



Foto 2: Fruto de *Jatropha curcas*.

Jatropha curcas es una especie muy rústica. Resiste normalmente el calor aunque también soporta bajas temperaturas y puede resistir hasta una escarcha ligera. Sin embargo, su tolerancia a las heladas es baja. Su requerimiento de agua es sumamente bajo y puede soportar períodos largos de sequía (Torres, 2008).

Desde el punto de vista económico y social el cultivo de esta especie representa una oportunidad para las economías rurales al diversificar la fuente de energías de la región, generar fuentes de trabajo y desarrollar nuevas cadenas de valor. La producción en pequeñas escalas tiene como objetivo el desarrollo local, facilitar la diversificación productiva y bajar los costos internos de la empresa agropecuaria (Rasetto y Midulla, 2006).

Sin embargo, y pese a estas cualidades, es necesario sortear una serie de limitaciones en pos de garantizar la factibilidad del cultivo. La baja productividad, se suma al principal inconveniente que esta especie presenta, dada por la dormición de sus semillas.

Tradicionalmente las plantaciones se realizan mediante la propagación de estacas enraizadas, debido a que las semillas presentan dormición. Sin embargo, el uso de estacas aumenta los costos de implantación para el productor, debido a la gran cantidad de mano de obra que se emplea, sumado a que las plantas obtenidas por este método de propagación tienen una menor vida útil, mayor susceptibilidad al ataque de enfermedades y menor tolerancia a la sequía (Heller, 1996).

La dormición es una condición interna de la semilla que impide su germinación aún bajo condiciones hídricas, térmicas y gaseosas adecuadas (Benech-Arnold et al., 2000) y es el resultado de adaptaciones fisiológicas a través de los procesos evolutivos que le ha permitido a las especies sobrevivir frente a condiciones ambientales adversas (Hilhorst, 2008). Existen distintos

tipos de dormición que varían según la condición de la semilla que esté provocando la dormición. Se puede dar por impermeabilidad de las cubiertas seminales más externas o por las mismas membranas celulares que impidan la llegada del agua al embrión. Otro motivo puede estar relacionado con la madurez fisiológica del embrión, ya sea porque es rudimentario o se encuentra inmaduro aún. Es causa la presencia de sustancias de origen hormonal que inhiban a la germinación. Comunmente se da también la dormición fisiológica, la cuál es provocada por el mismo funcionamiento y metabolismo de la propia semilla. Ésta se divide en dormición primaria o innata, que se inicia al final de la maduración de la semilla, cuando ésta se encuentra aún en la planta madre. La dormición secundaria o inducida es la que se inicia en semillas maduras como consecuencia de una agresión del medio ambiente (Cuadra, 1993).

Conocer la capacidad de la especie para sortear la etapa germinación-emergencia con éxito es fundamental para determinar su factibilidad como cultivo. La temperatura (T) es uno de los reguladores primarios del proceso de germinación. La mayoría de las semillas presentan un mínimo (T_b), un óptimo (T_o) y un máximo (T_m) valor de temperaturas para germinar. En el rango subóptimo podría utilizarse el concepto de tiempo térmico para caracterizar el tiempo a germinación a diferentes temperaturas, según la ecuación:

$$\theta_T(g) = (T - T_b) t_g \quad \text{Ec (1)}$$

donde $\theta_T(g)$ es el tiempo térmico para que la fracción g de la población complete la germinación, T es la temperatura a la cuál esta sometida la semilla, T_b es la temperatura base, y t_g es el tiempo para que la fracción g complete la germinación (Bierhuizen and Wagenvoort, 1974). Si bien pueden existir excepciones, particularmente cuando la dormición está implicada (Welbaum y Bradford, 1991) la situación general para semillas que no presentan dormición es que existe muy poca variación en T_b dentro de la población (García-Huidobro et al., 1982). Si T_b es igual para todas las semillas, la Ecuación 1 indica que el tiempo térmico $(T - T_b) t_g$ para un determinado porcentaje de germinación es constante, $\theta_T(g)$, pero que diferentes fracciones requieren diferente tiempo térmico para completar la germinación.

La tasa de germinación puede definirse como la inversa del tiempo que necesita una determinada fracción de la población para completar la germinación ($GR_g = 1/t_g$).

Entonces:

$$GR_g = 1/t_g = (T - T_b) / \theta_T(g) \quad \text{Ec (2)}$$

En estudios recientes en condiciones controladas sobre semillas de *J. curcas* se observó que una parte importante de las semillas presentaban dormición (Martínez, 2010 y Windauer et. al., 2012). Estos estudios sugieren

también que la expresión de dormición y/o la inducción a dormición secundaria de estas semillas es dependiente de la temperatura a la cuál están expuestas las semillas durante el período de germinación.

El avance en la comprensión de los procesos anteriormente mencionados constituye un primer paso en el desafío de lograr mejorar la performance del cultivo de *J. curcas* en áreas potencialmente aptas para la producción de este cultivo.

Objetivo

El objetivo del trabajo se centra en caracterizar la respuesta a la temperatura durante el proceso de germinación de semillas de *Jatropha curcas* enteras. Se utilizará el modelo de tiempo térmico para obtener la temperatura base, óptima, y máxima, así como también el tiempo térmico de la fase de germinación. También se pretende determinar el efecto de la temperatura sobre la expresión de la dormición y/o la inducción a la dormición secundaria en las semillas.

Cabe aclarar que otro de los objetivos del trabajo era dilucidar si la dormición de la semilla estaba impuesta por las cubiertas, ya sea de forma mecánica o a través de la segregación de alguna sustancia que inhiba la germinación. Sin embargo no pudo obtenerse resultados de este experimento, dado que las semillas desnudas iniciaron un proceso de descomposición acelerado.

Materiales y Métodos

Generalidades:

El experimento se realizó en el Laboratorio de Producción Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Católica Argentina. Se utilizaron semillas de *Jatropha curcas* provenientes de Misión Laishi, Formosa, Argentina (26° 13'S, 37° 60' O), las cuáles estuvieron almacenadas durante un año a temperatura ambiente.

Previo al inicio del ensayo y posterior a éste, se sometió a las semillas al Test de Tetrazolio para comprobar su viabilidad. Se trata de un método que permite realizar una rápida estimación de la viabilidad de la semilla mediante el uso de esta sal como medio de tinción. Para ello las cubiertas de la semillas enteras se retiraron y los embriones fueron colocados en una solución de tetrazolio. Después de un período de tinción de 24 horas, las semillas fueron calificadas como viables o no viables. Una semilla viable se tiñe en aquellos tejidos cuya viabilidad es necesaria para el normal desarrollo de la misma (International rules for seed testing, 2008). La viabilidad de las semillas obtenida previo al inicio del ensayo en el Test de Tetrazolio fue del 97 %.

Antes de iniciar los ensayos de germinación, todas las semillas fueron tratadas con fungicida (Maxim XL, Syngenta) con el objetivo de evitar y/o reducir la contaminación fúngica durante el período de incubación.

Germinación de semillas:

Se utilizaron bandejas de plástico (147x109x50) con el fondo de algodón recubierto en papel absorbente. Estas camas de germinación, se encontraban previamente humedecidas con 15ml de agua destilada. Para cada temperatura y cada tipo de tratamiento a la semilla se realizaron de 3 a 4 repeticiones con 20 semillas por bandeja. En todos los casos, las bandejas de germinación fueron envueltas en papel film para evitar la evaporación del agua. Cada bandeja representa una repetición para cada tratamiento. (Ver Foto 3)



Foto 3: Bandejas para la incubación y germinación con semillas de *Jatropha curcas*.

A partir del momento en que las semillas se pusieron a germinar en las diferentes temperaturas, se realizó un monitoreo cada 24 horas respetando horarios durante el transcurso de 20 días, y se retiraron las semillas ya germinadas de las camas de germinación. Se consideró como semilla germinada, a aquella cuya radícula haya alcanzado los 2mm de largo (Ver

Foto 4). El porcentaje de germinación se calculó como una proporción del total de semillas germinadas sobre el número total incubado en cada tratamiento. Cabe destacar que entre extracción de semillas germinadas de una bandeja y otra, se esterilizó el material constantemente con Alcohol al 70% para no diseminar alguna enfermedad entre los distintos tratamientos. En caso de una contaminación fúngica muy temprana durante el período de incubación, se realizó una segunda desinfección y se renovaron las “camas” para frenar el desarrollo de hongos y su posible efecto sobre la germinación.

Pasadas las 48 hrs de iniciado el ensayo, se volvieron a agregar 15ml de agua destilada en cada bandeja y durante los próximos 20 días se fue reponiendo agua destilada en medidas de 5ml cuando se consideró necesario.



a)



b)

Foto 4: a) Semillas de *Jatropha curcas* recién germinadas, b) Semillas germinadas con mayor crecimiento de radicular (más horas de germinación).

Tratamientos:

Experimento 1

SEMILLAS ENTERAS (SE)

Las bandejas con semillas se pusieron a germinar en cámaras de crecimiento en ausencia de luz a 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, temperatura constante durante 20 días.

SE-T20; SE-T25; SE-T30; SE-T35

Experimento 2

SEMILLAS DESNUDAS (SD)

Se inició el ensayo embebiendo las semillas en un recipiente forrado en papel absorbente saturado en agua por un tiempo total de 24 horas. El objetivo de este proceso fue ablandar las cubiertas anticipadamente para poder realizar los posteriores pasos con mayor facilidad. Para retirar las cubiertas de la semilla y dejar al embrión expuesto al medio externo, se utilizó una cuchilla previamente esterilizada con Alcohol al 70%.

Una vez finalizado el armado de los ensayos se llevo a cada tratamiento a incubar en cámaras de crecimiento en ausencia de luz a 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, temperatura constante durante 20 días.

SD-T20; SD-T25; SD-T30; SD-T35

Experimento 3

SEMILLAS CON CUBIERTAS EN EL MEDIO (SC)

Para este tratamiento se procedió de igual forma que en el Experimento 2, pero en este caso las cubiertas retiradas fueron distribuidas en las camas de incubación.

SC-20; SC-T25; SC-T30; SC-T35

Procesamiento de datos:

Luego de obtener todos los datos de germinación de cada uno de los tratamientos se procedió a digitalizar la información y utilizando el software *Infostat* se realizó el análisis estadístico para obtener las temperaturas cardinales y el tiempo térmico para la germinación de esta especie.

Resultados

Experimento 1 en laboratorio

Dinámica de Germinación

La dinámica de germinación de las semillas sometidas a los diferentes tratamientos de temperatura fue disímil. Al analizar la dinámica de germinación de las semillas en los tratamientos en las distintas temperaturas constantes (SE: T20; T25; T30; T35), se observó que el aumento progresivo de la temperatura acortó el tiempo de germinación de las semillas incubadas en agua (Figura 1) hasta los 30°C. Sin embargo, el porcentaje máximo de germinación final no superó el 56.2% y se logró cuando las semillas fueron incubadas a 30°C. Las semillas sometidas a 30°C y 35°C, iniciaron la germinación al primer día de incubación, mientras que el tratamiento a temperatura de 25°C se observó un retraso de 3 días en el inicio de la misma. Sin embargo, a pesar de este retraso, las semillas incubadas a 25°C tuvieron un porcentaje final de germinación (%G) mayor que aquellas incubadas a 35°C (Figura 1). Cuando las semillas fueron incubadas a 20°C la germinación recién comenzó al octavo día. Siendo el %G final de 13,3% al finalizar el experimento (Figura 1).

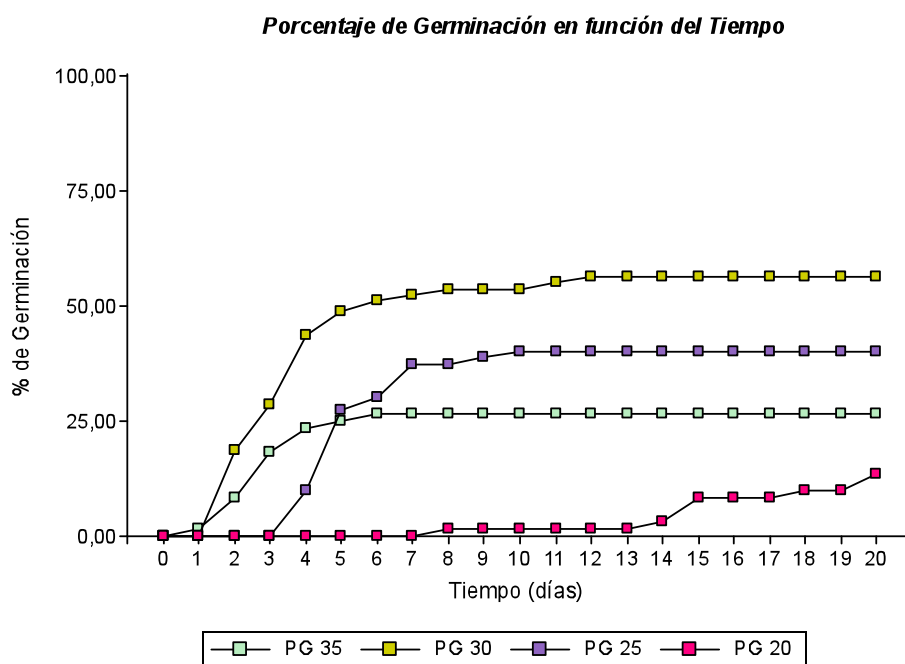


Figura 1: Porcentaje de Germinación en función del tiempo a diferentes temperaturas en semillas de *Jatropha curcas*.

Determinación del Tiempo de Germinación y de la Tasa de Desarrollo

Para establecer el tiempo que tardaría en germinar el 30% de las semillas en cada tratamiento térmico, se utilizó el *Modelo de Regresión No Lineal logístico* (Figura 2,3,4 y 5). Este modelo estadístico trabaja con el tipo de curvas sigmoideas. Debido a que la germinación en el ensayo no fue lineal, se estableció que este modelo tendría un ajuste más preciso. (Anexo 2)

Para determinar el tiempo que tardaría en germinar el 30% de la población se aplicó la ecuación:

$$PG = \alpha / (1 + \beta * \exp(-\delta * t))$$

donde, PG es el porcentaje de germinación al que se desea llegar, en este caso esta establecido en 30%. α es la porcentaje máximo de germinación promedio, que será determinado a partir de la gráfica de cada temperatura. β y δ son valores predeterminados por el programa para ajustar el modelo a cada curva. (Tabla 1)

<i>Jatropha curcas</i>				
Temperatura	α	β	δ	Tiempo de Germinación del 30%
20	14,16	914,16	0,43	x
25	39,55	897,37	1,44	5,51
30	55,22	24,93	1,11	3,05
35	26,6	45,61	1,51	x

Tabla 1: Valores del *Análisis de Regresión No Lineal logístico*, α , β y δ para cada temperatura. Tiempo de germinación en días del 30% de las semillas despejado de la ecuación.

Para determinar el tiempo de germinación del 30 % de las semillas incubadas a 20 y 35°C se utilizó el *Modelo de Regresión Lineal*, ya que el ajuste dado por el *Modelo No lineal logístico* no era confiable debido a la distribución dispersa del modelo de germinación en estos dos tratamientos (Tabla 2).

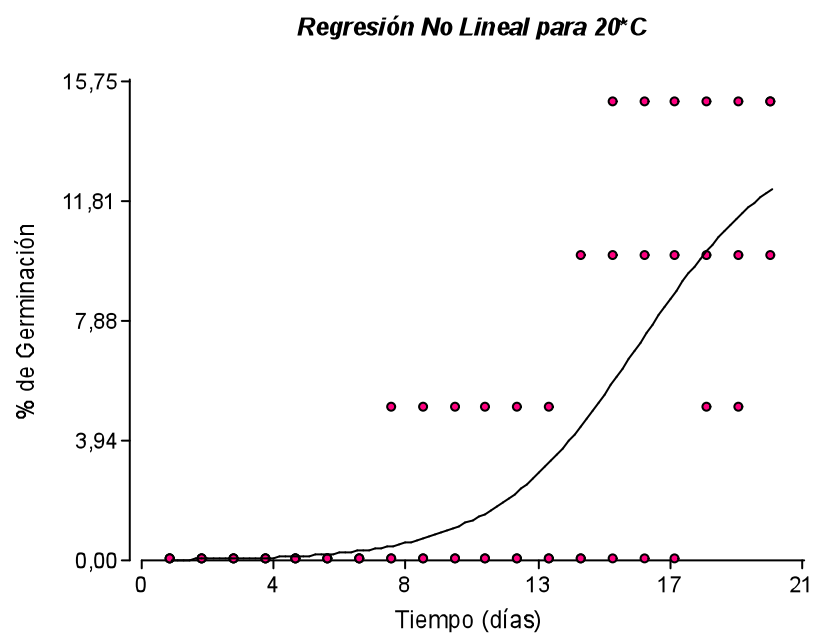


Figura 2: Distribución por réplicas del porcentaje de germinación en función del tiempo en días a 20°C en semillas de *Jatropha curcas*.

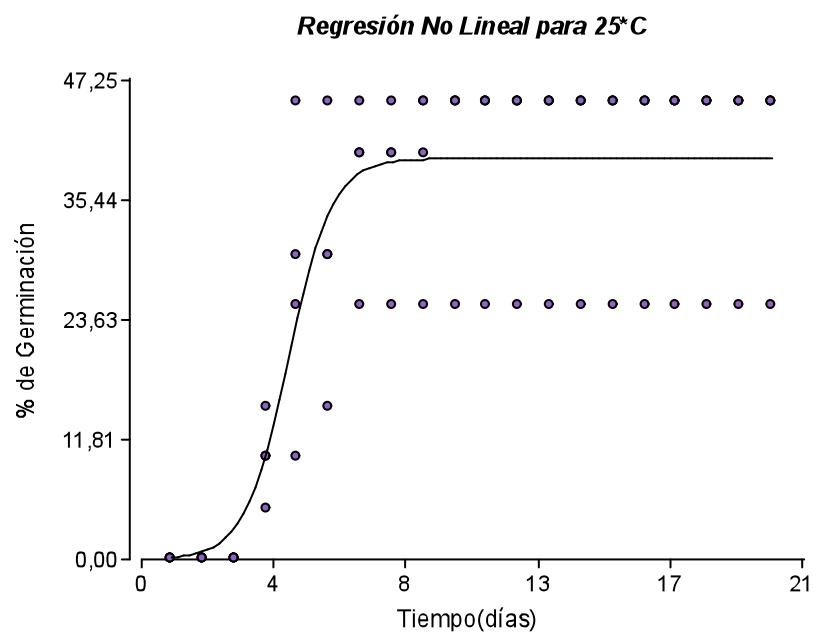


Figura 3: Distribución por réplicas del porcentaje de germinación en función del tiempo en días a 25°C en semillas de *Jatropha curcas*.

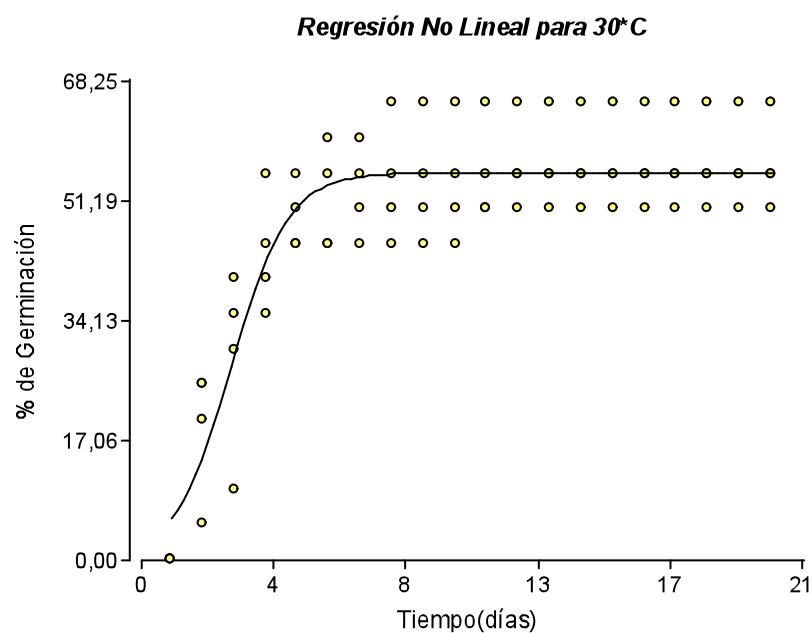


Figura 4: Distribución por réplicas del porcentaje de germinación en función del tiempo en días a 30°C en semillas de *Jatropha curcas*.

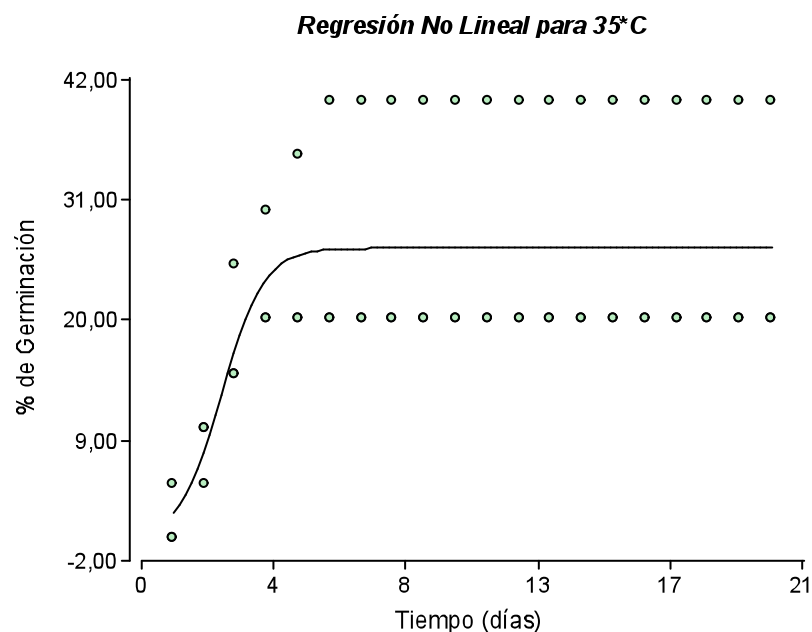


Figura 5: Distribución por réplicas del porcentaje de germinación en función del tiempo en días a 35°C en semillas de *Jatropha curcas*.

Una vez establecido el tiempo de germinación del 30 % de las semillas, se determinó la tasa de germinación $GR_{(30)}$, que es la inversa de la duración en horas (Tabla 2).

Como puede observarse, la temperatura afecta la velocidad con la que trascurren eventos de desarrollo determinados por unidad de tiempo

calendario, es decir, la tasa de desarrollo y como consecuencia de este efecto la duración es alterada. La tasa de desarrollo fásico (la velocidad con que trascurren eventos de desarrollo que conducen a la concreción de una etapa) puede estimarse indirectamente como la inversa del tiempo que duró ésta. Así a mayor temperatura (hasta llegar a la temperatura óptima) habrá una tasa de desarrollo proporcionalmente mayor y se requerirán menos días para que trascorra la etapa (Miralles, Windauer y Gómez, 2003).

Este evento se observa claramente en el incremento de $GR_{(30)}$ que ocurre entre 20°C, 25°C y 30°C (0,001; 0,008 y 0,014 respectivamente), para luego descender a 0,002 en 35°C (Tabla 2).

<i>Jatropha curcas</i>			
T°C	Tiempo(h) Germinación 30%	Tasa de Germinación(1/h)	Porcentaje final de Germinación
20	1080	0,001	13,33
25	132,24	0,008	40
30	73,2	0,014	56,25
35	540	0,002	26,67

Tabla 2: Tiempo de germinación del 30% de la población de semillas (horas), tasa de germinación del 30% de la población (horas⁻¹) y porcentaje final de germinación a distintas temperaturas de incubación para *Jatropha curcas*.

Determinación de la Temperatura Base, Óptima y el Tiempo Térmico

Se determinó la temperatura base de esta población de semillas (T_b) mediante el trazado de la relación lineal entre la tasa de germinación ($GR_{(30)}$, inversa de la duración en días) y la temperatura. La intersección de ésta recta con el eje de abscisas es la T_b (Figura 6). La T_b calculada fue de 19°C y surge del despeje de la ecuación de la recta $y = -0,0248 + 0,0013x$.

La temperatura óptima (T_o) se determinó mediante el trazado de la relación lineal a “ojo” entre la tasa de germinación $GR_{(30)}$ y la temperatura, entre los 30°C y los 35°C, ya que $GR_{(30)}$ fue menor a esta última temperatura (Figura 6).

El tiempo térmico (θT , grados-día o grados-hora por encima de la temperatura base) necesario para completar la germinación del 30 % de la población de semillas, se calculó como la inversa de la pendiente de la relación entre la $GR_{(30)}$ y la temperatura, téngase en cuenta que este modelo termoperiódico tiene límites más allá de los cuales no se puede aplicar; *i.e.* cuando las temperaturas medias están por encima o por debajo de la

temperatura óptima y base, respectivamente (Miralles y Windauer, 2006). El tiempo térmico determinado fue de 33,33°d o 769,2°h (Figura 6).

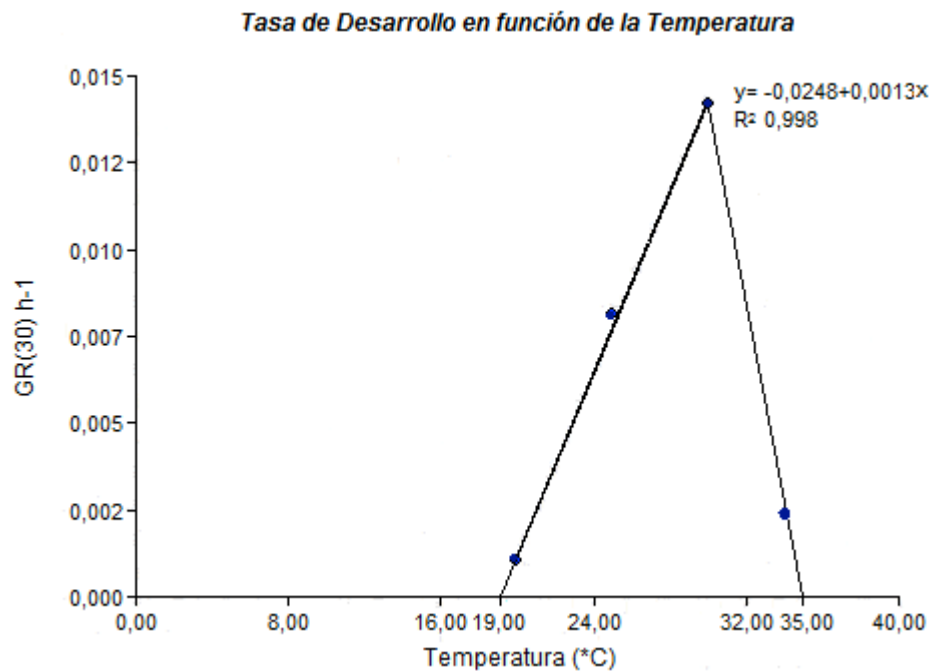


Figura 6: Tasa de germinación para el 30% de la población (horas⁻¹) en función de la temperatura en semillas de *Jatropha curcas*.

Experimentos 2 y 3 en laboratorio

Debido a que las semillas sin tegumento iniciaron un rápido proceso de descomposición a partir del segundo día de incubación, los resultados obtenidos de los Experimentos 2 y 3 no fueron confiables, considerándose fallidos dichos experimentos y no permitiendo cumplir parte de los objetivos planteados. (Ver Foto 5)



Foto 5: Diferencia entre semilla desnuda y semillas enteras de *Jatropha curcas* con 3 días de germinación.

Discusión

Los resultados de este trabajo muestran que una parte de la población de estas semillas de *J. curcas* posee dormición absoluta (43%), lo que fue comprobado haciendo el test de viabilidad a las semillas que no germinaron. Esto fue coincidente con otros trabajos realizados en semillas de esta especie (Martínez, 2010); aunque en este trabajo el nivel de dormición absoluta fue algo menor (22%).

El análisis de tiempo térmico permitió obtener los valores de los parámetros de germinación que deberán ser tenidos en cuenta en caso de que se desee poner bajo producción la especie en cuestión. En primer lugar, la T_b estimada fue de 19°C, esto es más elevado que lo encontrado recientemente por Martínez (2010) y Windauer et al. (2012), que fue de alrededor de 14°C en los dos estudios. Esta T_b tan elevada, limita la utilización de semillas de este lote o con estas características a zonas donde durante una parte del año la temperatura del suelo supere holgadamente este valor. Además, que la T_o y/o la tasa de desarrollo haya sido máxima a 30°C significa que cuando la temperatura del suelo se encuentre cercana a este valor, las semillas presentarán la máxima velocidad de germinación. Así, a esta temperatura se necesitará menor cantidad de tiempo para que la germinación ocurra y en consecuencia la emergencia será más rápida.

La hipótesis para explicar la diferencia entre valores encontrados por Martínez (2010) y Windauer et al. (2012) y este trabajo, podría ser que en semillas con un grado de dormición absoluta elevado, como la que presenta el lote de semillas utilizado en esta tesis, la temperatura de incubación (30 y 35°C), podría estar induciendo a dormición secundaria a estas semillas. Tal como lo sostiene Batla et al. (2009) y Windauer et al. (2012) que demuestran que las semillas de algunas especies adquieren dormición secundaria durante la incubación, lo que modificaría de alguna manera la T_b en este lote de semillas.

Conclusiones

Los resultados de este trabajo permiten hacer una amplia caracterización de la respuesta a la temperatura durante el proceso de germinación de las semillas de *Jatropha curcas*. La aplicación práctica de los resultados encontrados en esta tesis, revelan severas dificultades tanto para la germinación como para el establecimiento del stand de plantas de *Jatropha curcas*, las cuáles deberán ser consideradas por los mejoradores durante el proceso de selección y domesticación. La más importante de las limitaciones es el estrecho rango de temperaturas en el cual no se encuentran los problemas de dormición y la elevada tendencia que presenta la semilla para entrar en dormición secundaria a temperaturas superiores a los 30°C.

Bibliografía

- Batlla, D., Grundy, A., Dent, K.C., Clay H.A., Finch-Savage, W.E. (2009). A quantitative analysis of temperature-dependent dormancy changes in *Polygonum aviculare* seeds. *Weed Research*. 49 (4): 428-438.
- Benech-Arnold, R.L., Sánchez, R.A., Forcella F., Kruk B.C., and Ghersa, C.M. (2000) Environmental control of dormancy in weed seed soil banks. *Field Crops Research*. 67: 105-122.
- Bierhuizen, J.F, and Wagenvoort, W.A. (1974) Some aspects of seed germination in vegetables. I: The determination and application of heat sums and minimum temperature for germination. *Scientia Horticulturae*. 2: 213-219.
- Braga, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. En: Congresso Brasileiro de Florestas Tropicais, 2., 1976, Mossoró. Anales Mossoró: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 1976. p. 412-413 (Colecao Mossoroense, v XLII).
- De la Cuadra, C. Germinación, Latencia y Dormición de las semillas. Dormición de las avenas locas. Madrid, España. Instituto Nacional de Reforma y Desarrollo Agrario Editorial. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 3ª edición. 1993. pág.10-11.
- Freitas, C. y Penteado, M. Biodiesel – energia do futuro. Monte Alto, Brasil. Editorial Letra Boreal. 1ª edición. 2006. pág. 142.
- Garcia- Huidobro, J., Monteith, J., y Squire, G. (1982) Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides* S.H.) I: Constant temperature. *Journal of Experimental Botany*. 33: 288-293.
- Heller, J. Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of plant Genetic and crop Plant Research, Gatersleben, International Plant Genetic Resources Institute, Rome (1996).
- International Rules for Seed Testing. (2008) ISTA. Basserdorf, Switzerland. Chapter 6 *Tetrazolium Test*, page 25.
- Jatrophacurcasweb.com.ar Semillas de *Jatropha curcas*. Agosto, 2008.
- Latham, M.C. Nutrición humana en un mundo en desarrollo. Roma, Italia. Colección FAO Nutrición y Alimentación. 29ª edición. 2002. Capítulo 5. Población, alimentación y planificación familiar.

- Martínez, J.F. 2010. Caracterización de las respuestas a la temperatura y al potencial agua en semillas de *Jatropha curcas* L. Tesis para optar al grado de Ingeniero Agrónomo. UBA.
- Miralles, D., Windauer, L., Gomez, N. Producción de Granos. Universidad de Buenos Aires. Edición 2003. pág.63-65.
- Moreno González, A. La energía. Madrid, España. Acento Editorial. 6^{ta} edición. 1997. pág 37.
- Poder ejecutivo nacional. Ley de biocombustibles 26.093. Artículo 7. 2008.
- Rasetto, M. y Midulla, G. Biodiesel, autoconsumo y desarrollo local. En Vilella, F (ed.) Bioenergía. Buenos Aires, Argentina. Editorial Facultad de Agronomía, Colección Agronegocios. 2007. pág. 91-106.
- Sánchez-Gutierrez, A., Ovando-Medina, I., Adriano-Anaya, L., y Salvador-Figueroa, M. (2010). Diversidad Genética de Poblaciones de *Jatropha curcas* L. del Estado de Chiapas, México. Internation Journal of molecular sciences. Centro de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas. 1 (10):1-17.
- Sims, R., Tylor, M. From first to second generation biofuel technologies. An overview of current industry and RD&D activities. OECD/IEA edition. Paris, France. 2008. page 5.
- Solaw. The state of the world's land and water resources for food and agriculture. Rome, Italy. 37th FAO edition. 2011. page 6.
- Torres C. Primer manual del cultivo *Jatropha curcas*. Cultivos Energeticos SRL. La Banda, Santiago del Estero, Argentina. 2008.
- Windauer, L., Martínez, J., Rapoport, D., Wassner, D., Benech-Arnold, R., (2012). Germination responses to temperature and water potential in *Jatropha curcas* seeds: a hydrotime model explains the difference between dormancy expression and dormancy induction at different incubation temperatures. Annals of Botany 109: 265-273.

Anexos

Anexo 1. Planillas de Germinación

Planilla de Germinación - <i>Jatropha curcas</i>									
	Diarias			Acumulado			Porcentajes		
20°C	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Día 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 8	0	1	0	0	1	0	0	5	0
Día 9	0	0	0	0	1	0	0	5	0
Día 10	0	0	0	0	1	0	0	5	0
Día 11	0	0	0	0	1	0	0	5	0
Día 12	0	0	0	0	1	0	0	5	0
Día 13	0	0	0	0	1	0	0	5	0
Día 14	0	1	0	0	2	0	0	10	0
Día 15	0	1	2	0	3	2	0	15	10
Día 16	0	0	0	0	3	2	0	15	10
Día 17	0	0	0	0	3	2	0	15	10
Día 18	1	0	0	1	3	2	5	15	10
Día 19	0	0	0	1	3	2	5	15	10
Día 20	1	0	1	2	3	3	10	15	15

Planilla de Germinación - <i>Jatropha curcas</i>												
	Diarias				Acumulado				Porcentajes			
25°C	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
Día1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día4	3	1	2	2	3	1	2	2	15	5	10	10
Día5	3	4	0	7	6	5	2	9	30	25	10	45
Día6	0	1	1	0	6	6	3	9	30	30	15	45
Día7	2	2	2	0	8	8	5	9	40	40	25	45
Día8	0	0	0	0	8	8	5	9	40	40	25	45
Día9	0	1	0	0	8	9	5	9	40	45	25	45
Día10	1	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día11	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día12	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día13	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día14	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día15	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día16	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día17	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día18	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día19	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45
Día20	0	0	0	0	9	9	5	9	45	45	25	45

Planilla de Germinación - <i>Jatropha curcas</i>												
	Diarias				Acumulado				Porcentajes			
30°C	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
Día 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Día 2	5	4	1	5	5	4	1	5	25	20	5	25
Día 3	3	2	1	2	8	6	2	7	40	30	10	35
Día 4	1	2	5	4	9	8	7	11	45	40	35	55
Día 5	0	1	3	0	9	9	10	11	45	45	50	55
Día 6	0	0	2	0	9	9	12	11	45	45	60	55
Día 7	1	0	0	0	10	9	12	11	50	45	60	55
Día 8	0	0	1	0	10	9	13	11	50	45	65	55
Día 9	0	0	0	0	10	9	13	11	50	45	65	55

Día 10	0	0	0	0	10	9	13	11	50	45	65	55
Día 11	0	1	0	0	10	10	13	11	50	50	65	55
Día 12	0	1	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55
Día 13	0	0	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55
Día 14	0	0	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55
Día 15	0	0	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55
Día 16	0	0	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55
Día 17	0	0	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55
Día 18	0	0	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55
Día 19	0	0	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55
Día 20	0	0	0	0	10	11	13	11	50	55	65	55

Planilla de Germinación - <i>Jatropha curcas</i>									
	Diarias			Acumulado			Porcentajes		
35°C	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Día1	0	1	0	0	1	0	0	5	0
Día2	2	1	1	2	2	1	10	10	5
Día3	1	3	2	3	5	3	15	25	15
Día4	1	1	1	4	6	4	20	30	20
Día5	0	1	0	4	7	4	20	35	20
Día6	0	1	0	4	8	4	20	40	20
Día7	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día8	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día9	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día10	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día11	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día12	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día13	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día14	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día15	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día16	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día17	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día18	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día19	0	0	0	4	8	4	20	40	20
Día20	0	0	0	4	8	4	20	40	20

Anexo 2. Análisis de Regresión No Lineal

Análisis de regresión no lineal para 20°C

Modelo PG $\alpha/(1+\beta \cdot \exp(-\gamma \cdot \text{TIEMPO}))$

Variable	N	CMError	AIC	BIC	Iteración
PG	60	12,03	79,84	86,13	7

Parámetros	Cota inf.	Cota sup.	Val.Ini.	Estimación	E.E.
T	p-valor				
ALFA	-1E30	1E30	15,00	14,16	
4,38 3,23	0,0021				
BETA	-1E30	1E30	15834,81	914,95	
2078,55	0,44	0,6615			
GAMMA	-1E30	1E30	0,58	0,43	
0,18 2,34	0,0226				

Matriz de correlación de las estimaciones

	ALFA	BETA	GAMMA
ALFA	1,00	-0,74	-0,85
BETA	-0,74	1,00	0,98
GAMMA	-0,85	0,98	1,00

Análisis de regresión no lineal para 25°C

Modelo PG $\alpha/(1+\beta \cdot \exp(-\gamma \cdot \text{TIEMPO}))$

Variable	N	CMError	AIC	BIC	Iteración
PG	80	69,28	221,52	228,67	5

Parámetros	Cota inf.	Cota sup.	Val.Ini.	Estimación	E.E.
T	p-valor				
ALFA	-1E30	1E30	45,00	39,55	
1,14 34,61	<0,0001				
BETA	-1E30	1E30	50,96	897,37	
1719,22	0,52	0,6032			
GAMMA	-1E30	1E30	0,61	1,44	
0,41 3,56	0,0006				

Matriz de correlación de las estimaciones

	ALFA	BETA	GAMMA
ALFA	1,00	-0,19	-0,24
BETA	-0,19	1,00	0,99
GAMMA	-0,24	0,99	1,00

Análisis de regresión no lineal para 30°C

Modelo PG $\alpha/(1+\beta \cdot \exp(-\gamma \cdot \text{TIEMPO}))$

Variable	N	CMError	AIC	BIC	Iteración
PG	80	46,27	189,22	196,37	4

Parámetros	Cota inf.	Cota sup.	Val.Ini.	Estimación	E.E.
T	p-valor				
ALFA	-1E30	1E30	65,00	55,22	0,90
	61,29 <0,0001				
BETA	-1E30	1E30	3,55	24,93	12,75
	1,96 0,0541				
GAMMA	-1E30	1E30	0,28	1,11	0,17
	6,55 <0,0001				

Matriz de correlación de las estimaciones

	ALFA	BETA	GAMMA
ALFA	1,00	-0,16	-0,27
BETA	-0,16	1,00	0,95
GAMMA	-0,27	0,95	1,00

Análisis de regresión no lineal para 35°C

Modelo PG $\alpha/(1+\beta \cdot \exp(-\gamma \cdot \text{TIEMPO}))$

Variable	N	CMError	AIC	BIC	Iteración
PG	60	75,85	190,34	196,62	1

Parámetros	Cota inf.	Cota sup.	Val.Ini.	Estimación	E.E.
T	p-valor				
ALFA	-1E30	1E30	26,60	26,60	1,28
	20,84 <0,0001				
BETA	-1E30	1E30	45,61	45,61	94,22
	0,48 0,6302				
GAMMA	-1E30	1E30	1,51	1,51	0,79
	1,91 0,0616				

Matriz de correlación de las estimaciones

	ALFA	BETA	GAMMA
ALFA	1,00	-0,14	-0,22
BETA	-0,14	1,00	0,96
GAMMA	-0,22	0,96	1,00

Anexo 3. Análisis de Regresión Lineal

Análisis de regresión lineal de la Tasa de desarrollo del 30% en función de la Temperatura

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP	AIC
BIC					
GR(30) h-1	3	0,9980	0,9961	2,3E-06	-35,6040
		-38,3082			

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	E.E.	LI(95%)	LS(95%)
T	p-valor	CpMallows		
const	-0,0248	0,0015	-0,0434	-0,0063
-16,9801	0,0374			
Temperatura	0,0013	0,0001	0,0006	0,0020
22,5167	0,0283	255,0000		

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-
valor					
Modelo.	0,0001	1	0,0001	507,0000	
0,0283					
Temperatura	0,0001	1	0,0001	507,0000	
0,0283					
Error	1,7E-07	1	1,7E-07		
Total	0,0001	2			