

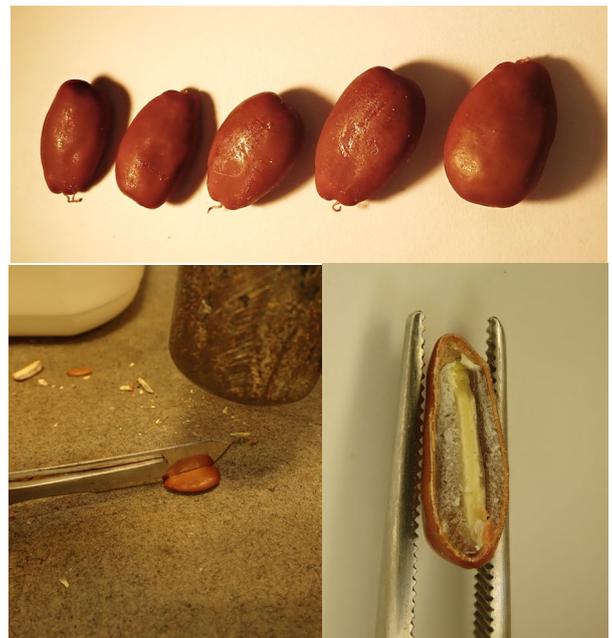


Protocolos de ruptura de la dormición física en semillas con cubierta dura: tratamientos pregerminativos.

Muchas plantas silvestres aseguran la supervivencia de las generaciones futuras manteniendo un banco de semillas en el suelo, que puede permanecer viable durante muchos años. Los pequeños embriones sobreviven en el interior de las semillas, protegidos por la cubierta externa de las SEMILLAS, que puede ser muy gruesa, dura e impermeable, aislando al embrión totalmente.

Autores: Josefa Prieto-Mossi y Elena Estrelles

Jardí Botànic de la Universitat de València, Quart 80,
46008 Valencia, España



Detalle de las semillas de algarrobo (*Ceratonia siliqua* L.), de la familia de las leguminosas con típicas semillas muy duras e impermeables, que presentan dormición física. Corte con bisturí, y sección longitudinal de la semilla, mostrando las gruesas, duras e impermeables cubiertas que posee.

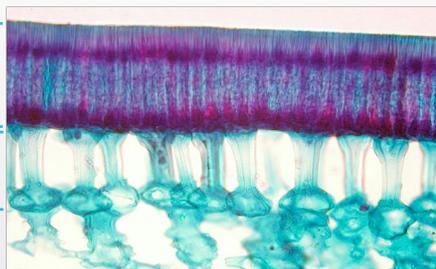
Escarificado

La **cubierta externa de la semilla** tiene un papel muy importante en el proceso de germinación ([Debeaujon et al. 2007](#)).

Normalmente, la cubierta seminal de una semilla totalmente desarrollada tiene varias capas, con una morfología y estructura característica de cada especie.

Durante el desarrollo de la semilla, tras la fecundación, se puede depositar lignina en las paredes secundarias de las células que forman parte de los tegumentos del óvulo, y que conformarán la cubierta externa de las semillas.

La lignina, en general, está compuesta por polímeros orgánicos complejos, normalmente de tipo fenólico. Tiene propiedades como una gran resistencia, rigidez y dureza. En las plantas las ligninas suelen estar presentes en las estructuras que dan rigidez a los tallos, por ejemplo, en la madera de los árboles. Otra propiedad muy importante de la lignina es la impermeabilidad. En las semillas es la responsable de la impermeabilidad de las cubiertas, y por ello de la dormición física de las semillas ([Barros et al. 2015](#)).



Estructura de la cubierta seminal (sección transversal) de *Astragalus lusitanicus* (familia Leguminosae). La cubierta está formada por células dispuestas de manera muy compacta (en empalizada), concretamente son esclereidas. Obsérvese que hay dos capas diferentes de células, una más exterior de macroesclereidas, muy lignificada (teñida de rojo), y una más interior de osteoesclereidas, de color más verdoso. Observación realizada con microscopía óptica (x 40), después de realizar una tinción con safranina - verde rápido.

Escarificado de semillas

Cuando trabajamos con semillas que tienen cubiertas impermeables, en ocasiones gruesas y muy duras, es necesario romperlas para que dichas semillas puedan absorber el agua necesaria para el inicio de la germinación. En ocasiones, también pueden impedir el paso de gases necesarios para la actividad celular, como el oxígeno.

Este tipo de cubiertas son las responsables de lo que denominamos dormición o latencia física, pues constituyen una barrera física que impide la germinación.

El tratamiento mayoritariamente utilizado para eliminar la dormición física debida a cubiertas duras es el escarificado. Este término es sinónimo de raspado. La palabra, en general, se utiliza para cualquier acción que implique hacer pequeñas incisiones superficiales en una superficie, de manera que permita el paso de líquidos y gases.

Existen diversos grupos de plantas, cuyas especies tienen este tipo de semillas de cubiertas impermeables, y que, por lo tanto, necesitarán un tratamiento previo de escarificado para poder germinar sus semillas. Entre estos, son característicos la familia de las leguminosas, las cistáceas, las malváceas, convolvuláceas, geraniáceas y ramnáceas, entre otras.



Semillas que presentan dormición física debido a la impermeabilidad de sus cubiertas: **a.** *Astragalus lusitanicus* Lam. (Leguminosae); **b.** *Lavatera triloba* L. (Malvaceae); **c.** *Cistus heterophyllus* subsp. *carthaginensis* (Cistaceae).

Estas plantas, en la naturaleza, producen semillas que en su mayoría presentan esta dormición física, de manera que solo una pequeña cantidad de ellas puede germinar después de su dispersión. La mayoría de las semillas quedan intactas en el suelo formando un reservorio o banco que puede mantenerse viable y persistente durante años. Con el tiempo, la acción de agentes externos desgastará las cubiertas, permitiendo la germinación y el desarrollo de plantas adultas.

Este tipo de latencia en semillas de plantas silvestres es bastante frecuente. En plantas cultivadas ésta se suele perder gradualmente tras varias generaciones en cultivo, por ello leguminosas de origen comercial, como las lentejas o garbanzos, no muestran este tipo de problema en la germinación.

Sin embargo, cuando queremos germinar semillas de especies silvestres que muestran dormición física para obtener planta con fines diversos que requieren su cultivo, bien se trate de un jardín, huerto o vivero, el porcentaje de germinación suele resultar muy bajo sin aplicar un tratamiento previo.

Por tanto, el tratamiento de escarificado es una técnica necesaria para obtener resultados de germinación elevados en semillas con cubiertas impermeables. La abrasión de las capas más externas de estas cubiertas se puede hacer de diferentes maneras. Pero siempre, se debe tener mucho cuidado de no dañar los tejidos del interior de la semilla, especialmente el embrión.

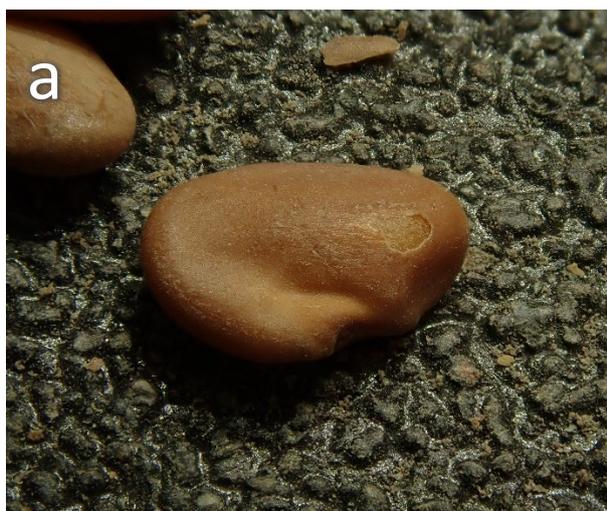
La escarificación la podemos realizar principalmente, por métodos mecánicos, químicos o térmicos.

Métodos mecánicos o físicos

- Raspado con papel de lija: se colocan las semillas entre dos trozos de papel de lija y se deslizan uno sobre otro aplicando una ligera presión. El grano del papel de lija se escoge dependiendo del tamaño de éstas. Los más frecuentes son de grano fino (números de 180 a 300) o de grano medio (de 80 a 180) La presión aplicada dependerá de su dureza. Por ejemplo, las semillas del algarrobo (*Ceratonia siliqua*) son muy grandes y duras, por lo que se requerirá un papel de lija de grano grueso y aplicaremos una presión al realizar el raspado superior a la que se aplica a una semilla más pequeña, como puede ser la del trébol (especies del género *Trifolium*, en general). Se puede visualizar este procedimiento en el [video](#) que hemos preparado en el laboratorio.

- Realización de incisiones con la punta de una aguja o pequeños cortes con un cuchillo o bisturí: este método es un poco más peligroso que el anterior porque se utiliza un elemento cortante. Además, no suele resultar sencillo debido a la forma redondeada que tienen la mayoría de las semillas. Hay que intentar evitar que estas herramientas resbalen sobre la superficie de la semilla para evitar herirse en los dedos. Además, tenemos que sujetar la semilla con firmeza con unas pinzas para que no salte al ejercer presión. Por tanto, por su dificultad y riesgo, no es un método recomendado en determinadas circunstancias, como puede ser la realización de prácticas con alumnos en un aula, o cuando el volumen de semillas a escarificar es elevado.

- Equipos especialmente diseñados para el escarificado mecánico de semillas a nivel industrial: estos aparatos se usan a nivel industrial, por ejemplo, en empresas de forrajes.



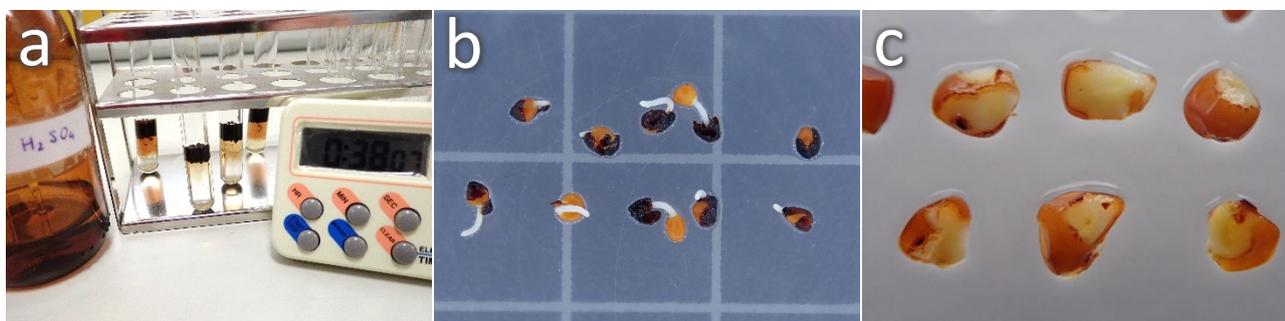
Aspecto de las semillas de *Medicago citrina* (Font Quer) Greuter tras el proceso de escarificado de la cubierta con papel de lija: **a.** Semilla escarificada correctamente; **b.** Semillas excesivamente escarificadas; obsérvese que el raspado ha alcanzado los tejidos del embrión, por lo que, aunque la semilla pueda germinar, es posible que la plántula no se desarrolle correctamente.

Métodos químicos

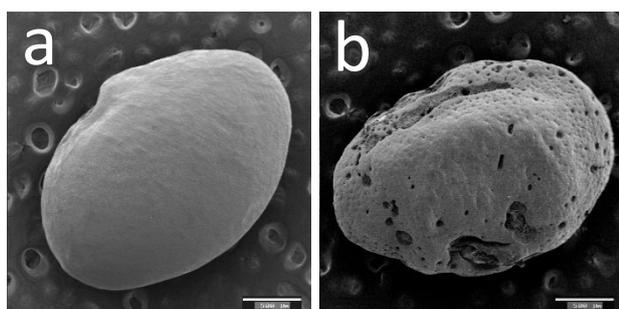
De manera rutinaria, en el laboratorio, se aplica el tratamiento con ácido sulfúrico concentrado, producto muy corrosivo, oxidante y deshidratante, con el que hay que llevar las máximas precauciones. El contacto con la piel produce quemaduras graves, y en los ojos puede provocar daños permanentes, incluso ceguera.

El tiempo de aplicación del ácido es muy variable, dependiendo del tipo de semilla, de la especie, e incluso, de la muestra. En algunos casos, se requieren tiempos muy cortos, por ejemplo, las semillas de las especies del género *Mesembryanthemum* necesitan solo un minuto de exposición para un escarificado adecuado. Otras plantas pueden necesitar varias horas para romper la dormición física, por ejemplo, *Ceratonia siliqua* requiere 3 h de exposición para alcanzar una buena respuesta de germinación.

La determinación del tiempo óptimo de exposición para un escarificado adecuado requiere un estudio previo para cada muestra, aunque sean de la misma especie, pues las semillas no siempre reaccionan de igual manera. El efecto del ácido puede ser muy variable entre lotes recolectados en años y/o poblaciones diferentes. Este efecto depende fundamentalmente del grosor de la cubierta seminal, y puede existir bastante variación, por lo que siempre conviene ajustar los tiempos cada vez que se trabaja con una nueva muestra.



Escarificado de las semillas con ácido sulfúrico concentrado: **a.** Proceso de aplicación del ácido en el laboratorio con control del tiempo de exposición; **b.** Semillas de *Cistus heterophyllus* subsp. *carthagenensis* germinadas después de un escarificado químico de 2 h sin agitación; obsérvese que la parte más externa de la cubierta ha quedado ennegrecida por el efecto del ácido, pero la más interna permanece intacta; **c.** Aspecto de las semillas de *Cistus albidus* L. expuestas un tiempo excesivo, de manera que el ácido ha alcanzado los tejidos internos de la semilla; en este caso la exposición ha sido de 3 h.



Aspecto de las capas externas de la semilla de *Anthyllis lagascana* Benedí, observadas con un microscopio electrónico de barrido para poder ver los detalles que no se aprecian en la lupa: **a.** Semillas sin ningún tratamiento; **b.** Semillas escarificadas químicamente, con ácido sulfúrico concentrado durante 30 minutos.

Hay un detalle muy “**IMPORTANTE**” que debemos tener en cuenta durante la manipulación del ácido sulfúrico durante el proceso de escarificado, especialmente al final, cuando vamos a eliminar el ácido y lavar con abundante agua. Nunca se debe verter agua sobre el ácido. Siempre al revés. Se debe vaciar el ácido sobre un recipiente que contiene el agua. Cuando se vierte agua sobre ácido se produce una reacción exotérmica muy fuerte que provoca salpicaduras, pudiendo alcanzar la piel o los ojos. El uso de este producto químico nunca está recomendado fuera del ámbito profesional. Siempre se debe usar un equipo de protección adecuado, que incluya guantes y gafas de seguridad. Además, se recomienda disponer de una solución de bicarbonato de sodio o de potasio para neutralizar las posibles salpicaduras, que nunca deben lavarse con agua hasta que el ácido se neutraliza totalmente (Doran *et al.* 1983).

Métodos térmicos

La exposición a un choque térmico durante un tiempo limitado es un pretratamiento frecuente, y normalmente bastante efectivo, para romper la dormición física en semillas de cubierta dura. Estos cambios de temperatura causan la rotura de las capas seminales más externas, con la aparición de grietas que permiten la absorción del agua necesaria para iniciar la germinación.

Este tipo de tratamiento puede simular las condiciones a las que las semillas se ven expuestas en la naturaleza. Por ejemplo, las altas temperaturas que las semillas soportan en el suelo durante el verano, que alcanzan alrededor de los 50 °C, dependiendo de la humedad y la cobertura vegetal. Esto es fácil de comprobar, pues existen protocolos sencillos para poder [tomar medidas de la temperatura del suelo](#).

Un choque con temperaturas muy altas también puede simular el paso de un incendio, que estimula la germinación de algunas plantas pirófilas como las jaras, cistáceas en general, entre otras muchas.

El choque térmico puede aplicarse, fundamentalmente, mediante dos métodos: 1. calor seco, por ejemplo, utilizando un horno, y 2. calor húmedo, introduciendo las semillas en agua caliente. Las temperaturas más efectivas, y por ello utilizadas en este tipo de tratamientos pregerminativos, están entre 80 a 100 °C, y los tiempos de aplicación entre 1 a 10 minutos, siempre dependiendo de las especies.

El calor seco se aplica introduciendo las semillas en un horno o estufa de laboratorio, termo-block o baño de arena. Para ello necesitaremos tubos, viales o recipientes de metal o vidrio resistentes al calor.

Para aplicar calor húmedo necesitaremos una malla metálica, a modo de colador, o bolsita de papel de filtro, donde colocaremos las semillas para sumergirlas en el agua caliente.



Semillas preparadas para introducirlas en la estufa para aplicación de calor seco.



Escarificado de las semillas de *Cistus* por inmersión en agua caliente: **a.** Semillas en el baño de agua a 80 °C durante 5 minutos; **b.** Semillas después del escarificado; **c.** Semillas de *Cistus albidus* germinadas después del escarificado por aplicación de calor húmedo.

Puedes visualizar este proceso en el [video demostrativo](#) que tenemos disponible.

En este tipo de tratamientos siempre se busca una combinación de temperatura y tiempo de duración que cause un choque tal que rompa la cubierta, sin disminuir la viabilidad o vigor de las semillas. Previo a la aplicación de estos tratamientos, se recomienda consultar la información publicada sobre la especie objetivo o especies próximas, y hacer pruebas, con una pequeña cantidad de semillas para determinar la mejor combinación de temperatura y tiempo de aplicación.

También puede aplicarse un choque térmico utilizando temperaturas bajas, por debajo de cero grados. Se utilizan temperaturas de congelación que generen un choque lo suficientemente brusco para generar tensiones suficientes para abrir grietas superficiales en estas capas externas. Encontramos referencias de este tipo de choque térmico utilizando nitrógeno líquido en diversos estudios. Por ejemplo, [Morbidoni et al. 2008](#) observan que una muestra de semillas de *Anthyllis barba-jovis* L., de la familia de las leguminosas, con más del 95% de semillas durmientes, alcanza el máximo de germinación después de ser sometidas a varios ciclos de congelación y descongelación con nitrógeno líquido.

Los resultados que se obtienen con este método son análogos a los obtenidos con el raspado o el choque de calor. El inconveniente que tiene es que requiere una infraestructura poco asequible con personal especializado que pueda manipular el nitrógeno líquido. Este es el motivo por el que es un método menos utilizado y poco recomendado, a pesar de su efectividad.



Extracción de muestras de un pequeño tanque de nitrógeno líquido en el Banco de Germoplasma del Jardín Botánico de la Universidad de Valencia.

En general, el efecto de estos tratamientos para la ruptura de la cubierta seminal se puede observar a las pocas horas después de hidratar las semillas. Cuando la estructura de las capas externas se rompe o agrieta, se torna permeable y puede absorber agua. Conforme avanza la imbibición se observa como la semilla se hincha y aumenta su tamaño. Si no hemos realizado el pretratamiento de manera adecuada la semilla no embeberá y permanecerá dura, manteniendo el mismo tamaño. En este caso deberemos repetir el procedimiento aumentando la presión en los métodos mecánicos, o el tiempo en los tratamientos químicos o térmicos.

Placa de semillas de *Astragalus lusitanicus*, familia Leguminosae. Obsérvese la diferencia de tamaño entre las semillas cuyas cubiertas no son impermeables y han iniciado la fase de imbibición de agua, frente a las semillas cuyas cubiertas son impermeables y no pueden absorber agua, que permanecen en su tamaño inicial.



No existe un protocolo general de escarificado de semillas único recomendado para todas las semillas. La elección depende de diversos factores. Entre ellos citaremos los más importantes:

1. La especie, lo cual determina el tipo de semilla y de cubierta.
2. El volumen de la muestra.
3. La experiencia de la persona que aplicará el pretratamiento.

Normalmente, si no tenemos experiencia previa con una muestra lo que se recomienda es probar varios tipos de tratamiento con una pequeña cantidad de semillas para ver cuál es el más efectivo. Además, suele ser necesario evaluar la intensidad del tratamiento óptima, como es el tiempo de aplicación, o, en su caso, la temperatura utilizada, antes de tratar la totalidad de la muestra.

En todos los casos, debemos insistir en que se deben considerar y aplicar las medidas de seguridad necesarias.

Glosario

Cubierta seminal – Capa más externa de la semilla, cuya función principal es la protección del tejido nutritivo, y principalmente del embrión. Es un tejido, genéticamente, de origen materno, ya que procede de las capas externas del óvulo (tegumentos), presentes en las flores femeninas de la planta madre que produce las semillas tras la fecundación.

Dormición – Estado en el cual una semilla viable y madura no germina, aunque los factores externos, fundamentalmente suficiente agua, temperatura e iluminación, sean favorables para ello.

Dormición física – Impedimento físico que imposibilita que la semilla absorba el agua necesaria para poder germinar. Normalmente está relacionada con la dureza e impermeabilidad de las cubiertas externas de la semilla.

Escarificar – Raspar, rayar o hacer incisiones superficiales en cualquier objeto o cuerpo, en nuestro caso, en la superficie externa de las semillas o frutos.

Esclerida – Son un tipo de células vegetales cuyas paredes están reforzadas con depósitos de lignina, aportando dureza, rigidez e impermeabilidad al tejido que conforman.

Familia – En botánica utilizamos el término familia para agrupar plantas con características comunes. Es uno de los niveles de clasificación utilizados en la taxonomía de los seres vivos, que nos ayuda a su estudio.

Imbibición – Fase inicial de la germinación, durante la cual la semilla absorbe el agua necesaria para activar el metabolismo celular.

Lignina – Químicamente es un polímero orgánico de composición diversa, que forma parte de la pared celular de los vegetales. Sus características principales son su dureza, rigidez, resistencia e impermeabilidad. Forma parte de los tejidos estructurales de las plantas, por ejemplo, el sistema vascular. En las semillas aparece principalmente en las cubiertas seminales externas.

Nitrógeno líquido – Es nitrógeno puro, que mantenido a una temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ está en estado líquido. Uno de sus usos es la criopreservación de muestras. Por encima de $-195,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ entra en ebullición y se evapora. Es peligroso no solo por la baja temperatura, sino porque puede desplazar rápidamente el oxígeno en una sala cerrada, pudiendo causar asfixia.

Viabilidad de las semillas – Proporción de semillas vivas en una muestra, es decir, con capacidad para germinar y producir plantas en condiciones adecuadas.



Aspecto de las semillas de algunas leguminosas, sembradas en placa después de 24 h de hidratación: **a.** Semillas de *Anthyllis lagascana*; **b.** Semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. Obsérvese como se hinchan las semillas que no tienen cubierta impermeable frente a las que tienen dormición física.

Agradecimientos

La elaboración de esta ficha ha recibido el apoyo de la Fundación Biodiversidad, a través del Proyecto: Bases para la conservación de la jara de Cartagena, especie en peligro crítico. Convocatoria 2019.



Referencias bibliográficas

- Barros, J., Serk, H., Granlund, I. & Pesquet, E. (2015). [The cell biology of lignification in higher plants](#). *Annals of Botany*, 115(7), 1053-1074.
- Debeaujon, I., Lepiniec, L., Pourcel, L. & Routaboul, J.M. (2007). [Seed coat development and dormancy](#). *Seed development, dormancy and germination*, 27, Wiley-Blackwell, p. 392, *Annual Plant Reviews*, ff10.1093/aob/mcn167ff.ffhal-01203973f. (https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01203973/file/Ann.Plant.Rev%202007_1.pdf).
- Morbidoni, M., Estrelles, E., Soriano, P., Martínez-Solís, I. & Biondi, E. (2008). [Effects of environmental factors on seed germination of Anthyllis barba-jovis L.](#) *Plant Biosystems*, 142(2), 275-286.
- Doran, J.C., Boland, D.J., Turnbull, J.W. & Gunn, B.V. (1983). Manual sobre las semillas de acacias de zonas secas; [7. Tratamientos para estimular la germinación de la semilla](#). CSIRO. Canberra. Accesible en: <https://www.fao.org/3/Q2190S/Q2190S08.htm>. Consultado el 25/10/2020.

A efectos bibliográficos, se sugiere citar este documento como:

Prieto-Mossi J. & Estrelles E. 2020. Protocolos de ruptura de la dormición física en semillas con cubierta dura: tratamientos pregerminativos. *Botanic asPPECTS* 6.2: 6 - 12.