



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Ampliación en la metodología de germinación de *Colobanthus quitensis*

Manuel Sañudo Bernal

Grau de Biología

Any acadèmic 2014-15

DNI de l'alumne: 43200232E

Treball tutelat per Jeroni Galmés
Departament de Fisiologia Vegetal

S'autoritza la Universitat a incloure el meu treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació

Paraules clau del treball:
Colobanthus quitensis, germinación, Antártida, plantas vasculares, dicotiledoneas.

Abstract:

Colobanthus quitensis es una especie natural de la Antártida, la incógnita más grande es como en un ambiente tan adverso donde las condiciones climáticas de este continente se caracterizan por temperaturas medias mínimas (<0°C), ciclos circadianos de aproximadamente seis meses día, seis meses noche. Consigue postergar las generaciones de esta especie. En este trabajo se estudia cuál es el medio más propicio para la germinación de *Colobanthus quitensis*. La metodología que se usó fueron tratamientos con variación de temperatura, luz y grupos con un corte en la testa (semilla).

Los resultados obtenidos muestran que el mejor tratamiento es a 25°C con corte en la testa para tener una germinación significativamente más alta en menos de diez días. Seguido por un tratamiento a 4°C sin corte, pero se necesitó 100 días para apreciarlo. El resto de los tratamientos dieron unas tasas de germinación bajas o nulas.

Colobanthus quitensis posee un sistema de dormición para sobrevivir al ambiente adverso de su hábitat, este es conferido mayormente por testa, que impide la germinación de la semilla. La ruptura de la testa podría ser por el cambio del estado físico del agua, de sólido a líquido, y viceversa en los primeros estadios del deshielo repetidamente produciría contracciones y expansiones que provocarían un desgaste en la testa de forma natural. A 25°C con un corte en la testa,

Introducción:

La Antártida es un continente situado al sur de los 66°30' latitud S, siendo su superficie continental alrededor de $1,4 \times 10^7$ km. Las condiciones climáticas de este continente se caracterizan por temperaturas medias mínimas (<0°C), ciclos circadianos de aproximadamente seis meses día, seis meses noche. Radiación baja debido al ángulo de incidencia de la luz, así como por falta de insolación por el efecto albedo llegando a ser $<100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa, una baja humedad debido a un anticiclón permanentemente encima del continente, haciendo que sea siempre un clima nuboso, con vientos secos y fríos. (Paunero et al, 2001)

En estas condiciones tan adversas, sólo subsisten dos especies de angiospermas en la Antártida, una es *Colobanthus quitensis* (Humboldt, Bonpland & Kunth) Bartl 1831 (Cq en adelante). Es una planta dicotiledónea de la familia Caryophyllaceae (sinónimo de Silenaceae). Esta familia la constituyen especies de carácter herbáceo que presentan nudos engrosados produciendo un crecimiento secundario anómalo.

En el caso de Cq tiene una estructura de cojinete blando de aproximadamente 8 cm. Sus hojas son verdes, alargadas y estrechas que se ramifican sucesivamente desde la base, surgiendo primero las hojas, alargando el tallo y surgiendo nuevas hojas. La floración llega tras

2 meses de crecimiento en condiciones óptimas con un fotoperiodo largo en luz. Las flores son pequeñas (<1 cm) de 5 pétalos soldados y 5 sépalos soldados.

Las semillas poseen una medida inferior a 0,1 mm, son de color marrón y poseen una estructura formada por (Baskin et al. 2000): embrión, hipocotíleo, radícula, cotiledones, plúmula y testa. La testa es flexible y elástica.

Su distribución geográfica, incluye además del continente de la Antártida, gran parte de Chile extendiéndose hacia el Norte hasta la Parva (Andes), incluyendo asimismo islas próximas a Australia. (Moore. 1970)

La temperatura idónea para la fotosíntesis neta en Cq es de 4°C mientras que a 20°C (temperatura óptima para muchas especies de diversa procedencia) muestra un balance de carbono negativo (Xiong et al. 1999). Esto sugiere que Cq presenta una fisiología adaptada a temperaturas frías en durante la época de crecimiento. Sin embargo un aspecto crucial en la fisiología de Cq es la germinación, en este sentido la información que hay es poca y contradictoria Ruhland et al 2001 especificaron que la tasa de germinación era casi nula en semillas de esta especie. En cambio, otros autores manifiestan un elevado porcentaje de germinación sin necesidad de tratamientos cuando se toma la semilla directamente de la planta viva y se pone a germinar sin guardar (León Bravo, comunicación personal).

Por lo tanto, en el presente trabajo se establece la hipótesis de que esta discrepancia puede venir, o bien del uso de diferentes temperaturas de germinación en los estudios previos – la cual tendría un óptimo a bajas temperaturas en Cq debido a sus hábitat habituales- o bien al desarrollo de algún tipo de dormición que podría ser necesaria para pasar la noche Antártica. Los objetivos específicos del trabajo son: (1) estudiar si hay efecto de la temperatura sobre la germinación, y (2) dilucidar si puede haber algún tipo de dormición en semillas guardadas y almacenadas.

Material y Métodos:

Las semillas fueron dispuestas en placas Petri de 9 cm con una capa de papel de filtro (Whatman no.1) en saturación de agua, para que la germinación no estuviera limitada por la ausencia de agua. Se fue reponiendo agua adicionalmente cuando fue necesario, siempre evitando la inundación de las semillas. Se dispusieron 50 semillas en placas Petri con 3 placas (réplicas) por tratamiento. Los test de germinación fueron realizados en cámaras de germinación (Koxka, España) o en nevera. Las semillas infectadas por hongos o bacterias fueron desechadas sin tenerlas consideradas para los cálculos. El experimento requirió 100 días. El porcentaje de semillas acumulativo para las réplicas fue calculado de la siguiente manera (Galmes et al 2006).

$$\%G= 100 \times (SG/IS - ES)$$

Dónde: SG= número de semillas germinadas.

ES= número de semillas vacías.

IS= número de semillas iniciadas en el tratamiento.

Para este experimento, se compararon 3 temperaturas de germinación: 4°C día y noche, 15°C día/10°C noche, y 25°C día y noche. Debido a las características de las tres cámaras de germinación disponibles, no pudo uniformarse el tratamiento lumínico. De este modo, el tratamiento de 4°C se realizó en una nevera convencional en continua oscuridad (4°C O), mientras que para los de 15°C/10°C (en adelante 15°C, para simplificar) y 25°C se utilizó un fotoperiodo 16h luz/8h oscuridad. $56\mu\text{mol e}^{-}\text{m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ (Bota et al. 2014). Tras establecerse estos tratamientos, se observó bajo una lupa binocular la aparición de germinación durante 100 días.

La falta de uniformidad del experimento anterior en relación al fotoperiodo, se realizó un experimento adicional para estudiar específicamente el efecto de éste. Para ello se establecieron dos tratamientos con la misma temperatura (25°C) día y noche, pero distinto fotoperiodo: 16h luz/ 8h oscuridad (Día largo, DL en adelante) comparada con 13h luz/ 11h oscuridad (Día corto, DC en adelante).

Para estudiar el posible efecto de la dormición, se aplicó un tratamiento (Young et al 1978) consistente en un corte bajo lupa (40X) con un bisturí de precisión, en la testa, siendo ésta rasgada o cortada, con prevención de no dañar al embrión. Se repitieron los mismos tres tratamientos del experimento anterior para las semillas escarificadas.

Todos los valores porcentuales de G fueron analizados mediante un test ANOVA de 2 niveles (Temperatura y Luz), junto un test de múltiples comparaciones un Bonferroni/HB ($P < 0,05$).

Resultados y Discusión.

Se observó que en las semillas sin tratamiento Young, hubo una germinación muy reducida en todos los tratamientos, lo que sugiere que o bien los embriones no eran viables, o bien presentaban algún tipo de dormición (Baskin et al. 2000). La primera germinación apareció en el tratamiento 25°C FL a los 20 días del comienzo del experimento. Pasados los 50 días comenzó el tratamiento 4°C O a mostrar actividad siendo a los 80 días, cuando mostro un incremento bastante acusado comparado con el resto de los tratamientos (Figura 1), esto sugiere que la especie del estudio tiene una adaptación a los climas y a los ciclos día/noche que poseen sus hábitat disponiendo de un mecanismo evitador/retardador de la germinación para evitar germinar en momentos en que las condiciones ambientales no son propicias para el crecimiento de las plántulas.

Germinación

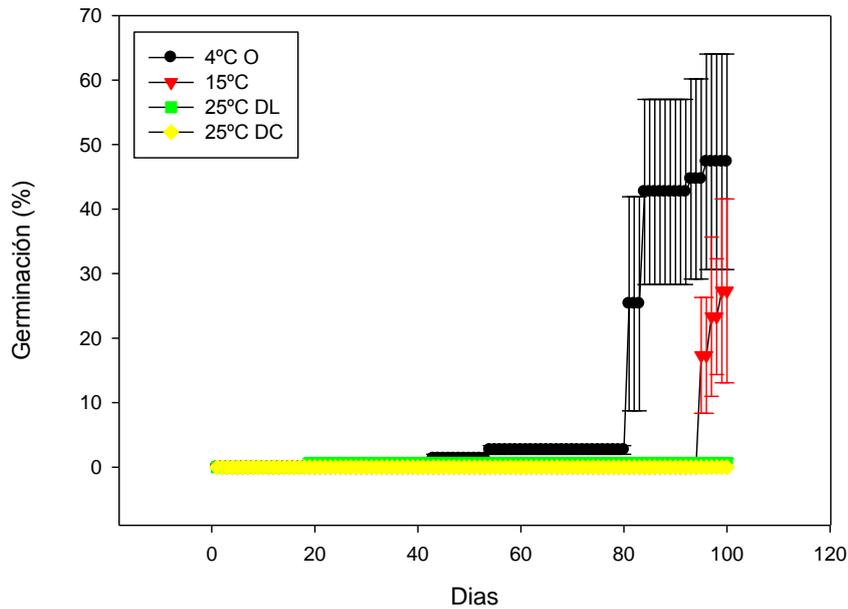


Fig 1. Se muestra el porcentaje de germinación frente al tiempo transcurrido (días), para todas las muestras sin tratamiento. 4°C O (puntos negros), 15°C (triángulos rojos), 25°C DL (cuadrados verdes), 25°C DC (cuadrados amarillos). Los datos mostrados son medias +/- error standard de 150 repeticiones por tratamiento.

En el caso de la germinación con tratamiento Young, se apreció un inicio más temprano de la germinación en los tratamientos 25°C DL y 4°C O siendo con una diferencia significativa ($P > 0,005$) el tratamiento 25°C DL que más semillas germinó (Figura 2). Esto sugiere que la germinación de la especie es en general mayor cuando la testa tiene un corte (Young et al.1978). Una de las hipótesis que se barajan para explicar este hecho sería que en sus ambientes naturales, el cambio del estado físico del agua, de sólido a líquido, y viceversa en los primeros estadios del deshielo repetidamente produciría contracciones y expansiones que provocarían un desgaste en la testa de forma natural.

Germinación con tratamiento.

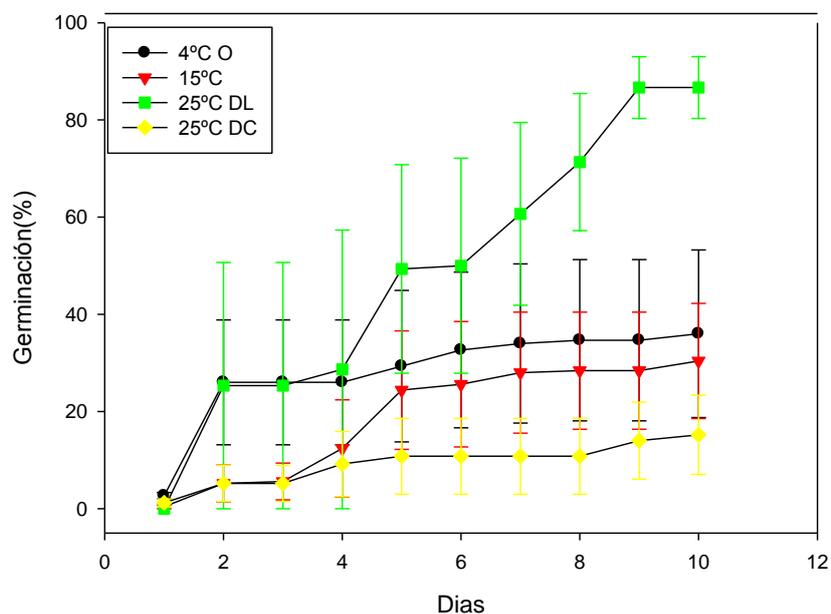


Fig 2. Se muestra el porcentaje de germinación frente al tiempo transcurrido (días), para todas las muestras tratamiento. 4°C O (puntos negros), 15°C (triángulos rojos), 25°C DL (cuadrados verdes), 25°C DC (cuadrados amarillos). Los datos mostrados son medias +/- error estándar de 150 repeticiones por tratamiento.

Por último, en la comparación no se observaron diferencias significativas exceptuando las diferencias significativas en el tratamiento 25°C DL NT con todos los demás salvo con 4°C O NT. La otra diferencia significativa es en el tratamiento 4°C O NT a 25°C DC NT (figura 3), esto sugiere que o bien por desgaste en el tiempo de la testa o por desgaste intencionado, se produciría el mismo factor iniciador de la germinación.

En conclusión, no se observa que bajas y medias temperaturas produzcan una germinación estable, pero a altas temperaturas, si la testa tiene un corte y el día es largo, la germinación será la óptima, pero en cambio si el día es corto, la germinación será significativamente menor. Esto sugiere que la temperatura juega un segundo papel importante, conjuntamente con un tercero que es el tiempo de luz.

Estos datos juntamente con los estudios sobre el balance de carbono (Xiong et al. 1999) donde muestra que las plantas en temperaturas medias tiene un balance de carbono negativo, perdiendo masa y a bajas temperaturas el balance de carbono es positivo, ganando masa. El incremento de temperatura produce un aumento del metabolismo sacando las semillas del letargo, siempre que la testa este dañada.

Desde su descubrimiento hasta la actualidad se ha observado un incremento del número de poblaciones de Cq (Fowbert et al. 1994 y Grove et al. 1997). Basándonos en los resultados de nuestro estudio podríamos deducir que el incremento de temperatura en Antártida favorece la formación de nuevas colonias.

Germinación

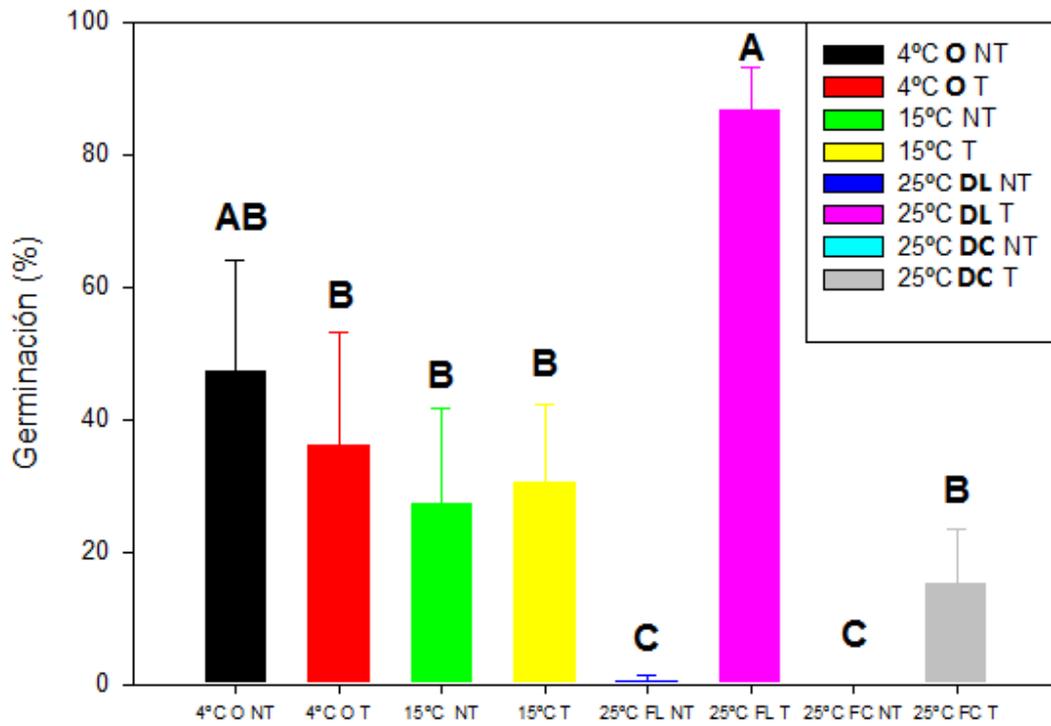


Fig 3. Se muestra el porcentaje de germinación en comparativa entre las muestras con germinación y sin germinación. 4°C O-NT (negro), 4°C O-T (rojo), 15°C NT (verde), 15°C T (amarillo), 25°C DL-NT (azul marino), 25°C DL-T (rosa), 25°C DC-NT (azul celeste), 25°C DC-T (gris). Los datos mostrados son medias +/- error estándar de 150 repeticiones por tratamiento.

Referencias:

1. Baskin, J. M., Baskin, C. C., & Li, X. (2000). Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biology*, 15(2), 139-152.
2. Bewley, J. D. (1997). Seed germination and dormancy. *The plant cell*, 9(7), 1055.
3. Bota, J., Cretazzo, E., Montero, R., Rossello, J., & Cifre, J. (2014). GRAPEVINE FLECK VIRUS (GFKV) ELIMINATION IN A SELECTED CLONE OF VITIS VINIFERA L. CV. MANTO NEGRO AND ITS EFFECTS ON PHOTOSYNTHESIS. *JOURNAL INTERNATIONAL DES SCIENCES DE LA VIGNE ET DU VIN*, 48(1), 11-19.
4. Fowbert, J. A., & Smith, R. I. L. (1994). Rapid population increases in native vascular plants in the Argentine Islands, Antarctic Peninsula. *Arctic and Alpine Research*, 290-296.
5. Galmés J., Medrano H., Flexas J.. 2006. Germination capacity and temperatura dependence in Mediterranean Species of the Balearic Islands. *Invest Agrar: Sist Recur Forv*15(1),88-95
6. Grobe, C. W., Ruhland, C. T., & Day, T. A. (1997). A new population of *Colobanthus quitensis* near Arthur Harbor, Antarctica: correlating recruitment with warmer summer temperatures. *Arctic and Alpine Research*, 217-221.
7. Komárková, V., Poncet, S., & Poncet, J. (1985). Two native Antarctic vascular plants, *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis*: a new southernmost locality and other localities in the Antarctic Peninsula area. *Arctic and Alpine Research*, 401-416
8. Moore DM (1970) Studies in *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. and *Deschampsia antarctica* Desv.: taxonomy, distribution and relationships. *British Antarctic Survey Bulletin* 23: 63-80.
9. Ruhland, C. T., & Day, T. A. (2001). Size and longevity of seed banks in Antarctica and the influence of ultraviolet-B radiation on survivorship, growth and pigment concentrations of *Colobanthus quitensis* seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 45(2), 143-154.
10. Vera, M. L. (2011). Colonization and demographic structure of *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis* along an altitudinal gradient on Livingston Island, South Shetland Islands, Antarctica. *Polar research*, 30.
11. Xiong, F. S., Ruhland, C. T., & Day, T. A. (1999). Photosynthetic temperature response of the Antarctic vascular plants *Colobanthus quitensis* and *Deschampsia antarctica*. *Physiologia Plantarum*, 106(3), 276-286.
12. Xavier Paunero. Ediciones 62(2001).Oceania.Regiones Polares. El futuro de la tierra. Índice general. (Vol.9,pp 234-244).
13. Young. J. A..R.A. Evans. R. L. Kay, R.E. Owen, and F. I., Jurak 1978. Collecting processing and germinating seeds of western wild plants. USDA Science and Education Admin. ARMW3. 36 p.

