

El efecto de la disponibilidad de agua durante el crecimiento de *Lycopersicon chilense* sobre la capacidad de sus semillas para germinar a distintas temperaturas y concentraciones de manitol y NaCl

Effect of water availability during the growth of *Lycopersicon chilense* on the capacity of their seeds to germinate at different temperatures and concentrations of manitol and NaCl

CARLOS MALDONADO¹, EDGAR PUJADO¹ & FRANCISCO A. SQUEO²

¹Laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular, ²Laboratorio de Ecofisiología Vegetal, Casilla 599, Departamento de Biología, Universidad de La Serena, La Serena, Chile; e-mail: maldonadouls@yahoo.com

RESUMEN

El número de semillas producidas por una planta puede estar limitada por factores ambientales adversos, los cuales también pueden afectar el desarrollo, originando semillas no viables. En la Primera Región de Chile hemos observado que *Lycopersicon chilense*, una especie de tomate endémica del Desierto de Atacama, presenta una alta producción de frutos y de semillas, sin embargo se observa una escasa regeneración de nuevos individuos. Se plantea que esto se debe a dos factores: (a) las plantas madres, producto de las condiciones adversas donde crecen desarrollan semillas no viables o (b) las semillas son viables pero las condiciones ambientales son desfavorables para la germinación. Se estudió la capacidad germinativa de semillas de *Lycopersicon chilense* sometidas a distintas temperaturas y concentraciones de manitol y NaCl, provenientes de plantas madres que crecieron con buen abastecimiento hídrico (+H₂O) y de otro grupo que creció con un abastecimiento hídrico deficiente (-H₂O). El nivel de riego tuvo un efecto sobre el número de semillas germinadas y sobre el tiempo que necesitan las semillas para germinar frente a distintas temperaturas y diferentes potenciales hídricos. Las semillas de plantas -H₂O fueron capaces de germinar a potenciales hídricos más negativos y en menor tiempo que las semillas provenientes de plantas +H₂O en el caso de manitol. Una relación inversa ocurrió respecto a NaCl, en que un mayor porcentaje de germinación y un menor tiempo de germinación se presentó en las semillas provenientes de plantas +H₂O. La germinación de *L. chilense* disminuye progresivamente a potenciales hídricos menores de -0,5 MPa siendo esta disminución más notoria con NaCl, en ambos casos se observó un retraso en la germinación. El óptimo de temperatura para la germinación se encontró entre los 15 y los 25 °C. *Lycopersicon chilense* no germinó a temperaturas menores de 8 °C y mayores de 35 °C. Los datos mostraron que las plantas de *L. chilense* producen semillas viables bajo las condiciones de déficit hídrico estudiadas. Sin embargo, la capacidad de germinar está limitada a un rango estrecho de condiciones ambientales. Se postulan algunas hipótesis para explicar su presencia en ambientes desérticos.

Palabras clave: *Lycopersicon chilense*, germinación, déficit hídrico, manitol, NaCl, temperatura.

ABSTRACT

The number of seeds produced by a plant can be limited by adverse environmental factors, which can also affect the seed development originating non-viable seeds. In the I Region, Chile we have observed that *Lycopersicon chilense*, a tomato species endemic to Atacama Desert, has high fruit and seed production, but a low plant recruitment. We hypothesize that this could be due to two factors: (a) mother plants produce non-viable seeds because of the adverse conditions where they grow or (b) seed are viable but the environmental conditions are not suitable for seed germination. We determined the germination capacity of *L. chilense* seeds, subjected to different temperatures and mannitol and NaCl concentration, from mother plants growing with plenty water supply (+H₂O) and other groups growing with water deficit (-H₂O). Water supply affected the number of seeds germinated and the time needed by the seeds to germinate under different temperatures and water potential. Seeds from -H₂O plants were able to germinate at lower water potentials and in shorter time than seeds from +H₂O plants in the case of mannitol. The contrary occurred with NaCl, in which a higher seed germination and shorter time for germination occurred in seeds coming from +H₂O plants. Seed germination of *L. chilense* progressively decrease at water potentials lower than -0,5 MPa, being this decrease more evident with NaCl; in both cases there was a germination delay. The optimum temperature for seed germination was between 15 and 25 °C. Seeds of *L. chilense* did not germinate at temperatures lower than 8 °C or higher than 35 °C. Data show that although *L. chilense* plants produce viable seeds under the various water conditions studied, the capacity of seeds to germinate is limited to a narrow range of environmental conditions. Some hypotheses are advanced to explain the presence of this species in desert environments.

Key words: *Lycopersicon chilense*, germination, water deficit, mannitol, NaCl, temperature.

INTRODUCCIÓN

La disponibilidad de agua es una condición esencial para la germinación de las semillas, ya que determina la imbibición y posterior activación de procesos metabólicos, como rehidratación, mecanismos de reparación (membranas, proteínas y ADN), elongación celular y aparición de la radícula (Dubreucq et al. 2000).

En condiciones naturales, las plantas deben sincronizar sus ciclos de crecimiento y reproducción con un adecuado abastecimiento hídrico (Foley & Fennimore 1998). Esto es especialmente importante en ambientes desérticos, donde los eventos de lluvia son esporádicos o inexistentes. La disponibilidad de agua durante el crecimiento de una planta madre afecta el desarrollo de sus semillas, alterando su capacidad germinativa positiva o negativamente (Pallas et al. 1977, Benech et al. 1992, Gutterman 2000).

Lycopersicon chilense es una especie de tomate silvestre ampliamente distribuida en variados ambientes del desierto de Atacama, desde el sur del Perú hasta Paposos en Chile y desde la costa (20 m de altitud) hasta la precordillera (3.000 m de altitud) (Warnock 1991). La amplia distribución de *L. chilense* hace pensar que es una especie adaptada a una serie de condiciones ambientales extremas, por lo que ha sido investigada en el extranjero y Chile como posible fuente de genes para el mejoramiento del tomate cultivado (Chen & Tabaeizadeh 1992, Sánchez et al. 1995, Scott et al. 1996, Ruíz et al. 1998¹, Yu et al. 1998, Canady et al. 2001, Griffiths & Scott 2001). Estudios ecofisiológicos en *L. chilense* son escasos, desconociéndose varios aspectos de su biología. Uno de ellos es el escaso número de plántulas que se observa en sus poblaciones naturales (C. Maldonado resultados no publicados).

En este trabajo se postula que, entre los factores que podrían explicar el bajo número de plántulas observado en terreno están: (a) la escasez de agua a la que estarían expuestas las plantas madres durante su crecimiento originaría que el desarrollo de las semillas sea incompleto o alterado, ocasionando una reducción del número de semillas viables y/o, (b) las semillas serían viables

pero su germinación estaría restringida a un rango estrecho de condiciones ambientales.

Para evaluar estas hipótesis se hicieron crecer plantas con dos niveles contrastantes de riego y sus semillas se hicieron germinar bajo condiciones de laboratorio a distintas concentraciones de manitol, NaCl y diferentes temperaturas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Crecimiento de las plantas madres

Las plantas madres provienen de semillas recolectadas a los 1.350 m en la Primera Región de Chile (18° 19' 34" S, 69° 59' 57" O). Estas semillas se colocaron a germinar en placas Petri durante 2 semanas y luego fueron traspasadas a una bandeja de germinación por cuatro semanas más. Cuando las plántulas crecieron aproximadamente 10 cm fueron puestas en bolsas de 10 litros, con una mezcla de tierra de hoja: arena (2:1), en el invernadero del Laboratorio de Ecofisiología Vegetal de la Universidad de La Serena.

Un grupo de 32 plantas creció con un riego de 80 % capacidad de campo del suelo (+H₂O) y un segundo grupo de 32 plantas fue sometido a riego con sólo un 20 % capacidad de campo del suelo (-H₂O). Estos valores fueron determinados previamente mediante métodos gravimétricos. El riego se realizó en forma automática; sin embargo, la humedad del suelo fue controlada continuamente para mantener los niveles de riego deseados.

Las plantas fueron dispuestas en cuatro filas de 16 plantas en un diseño experimental al azar. Adicionalmente se colocó una fila extra de plantas para reducir el efecto borde.

La fructificación comenzó transcurridos 3 meses. Los frutos se recolectaron a los 5 meses cuando habían alcanzado su madurez fisiológica, basados en los criterios agronómicos utilizados en *Lycopersicon esculentum* (Volosky 1974).

Experimento de germinación

En experimentos separados, un total de 1.200 semillas de las plantas +H₂O y -H₂O fueron puestas en placas Petri de 9 cm de diámetro sobre papel filtro humedecido. La unidad experimental para cada ensayo fue de 16 semillas por placa con cinco réplicas cada situación. Las semillas germinaron en oscuridad a 15 °C y se evaluaron diariamente durante 14 días. Como semilla germinada se consideró la aparición de la radícula.

Para estudiar el efecto del déficit hídrico sobre la germinación, se utilizaron seis niveles de po-

¹RUÍZ LS, M YÁÑEZ, I VERDUGO & VE GONZÁLEZ (1998) Caracterización de promotores de retrotransposones LTRs y su relación con la respuesta a estrés abiótico en tomate. Libro de Resúmenes del Cuarto Congreso Nacional de Biotecnología, Talca, Chile.

tencial hídrico logrados por adición de manitol: 0 (H₂O), -0,2, -0,5, -0,9, -1,5 y -1,8 MPa.

Para analizar el efecto de la salinidad sobre la germinación, se utilizaron distintas concentraciones de NaCl hasta lograr los potenciales hídricos de 0, -0,2, -0,5 y -1,5 MPa.

Para evaluar el efecto de la temperatura, se colocaron las semillas a 4, 8, 15, 25, 35 y 45° C (temperatura constante).

Las semillas que no germinaron en los ensayos, fueron transferidas a placas Petri con agua destilada a 15 °C por una semana, con el objetivo de evaluar un posible efecto negativo de los potenciales hídricos o de las temperaturas extremas sobre la capacidad de germinar posteriormente.

Análisis estadístico

Cada uno de los experimentos descritos en la sección anterior fue analizado mediante un ANDEVA de dos vías, utilizando el programa SYSTAT 9.0. Según el experimento, los factores analizados fueron: (a) riego (+H₂O y -H₂O) y potencial hídrico (seis niveles de manitol), (b) riego (+H₂O y -H₂O) y potencial hídrico (cuatro niveles de NaCl), (c) riego (+H₂O y -H₂O) y temperatura (seis niveles). Como prueba a posteriori se utilizó Tukey. Las variables respuestas fueron (a) la germinación de semillas al día 14 y (b) el tiempo requerido para alcanzar un 50 % de germinación (G50). Los resultados son presentados como la media \pm 1 error estándar.

RESULTADOS

Manitol

No se observó un efecto significativo del nivel de riego al que fueron sometidas las plantas madres sobre la capacidad que presentan las semillas de germinar en diferentes concentraciones de manitol (Tabla 1). Sin embargo, la disminución de los potenciales hídricos provocó una reducción significativa del número total de semillas germinadas a partir de potenciales menores a -0,5 MPa (Fig.1). Al mismo tiempo se observó que la disminución de los potenciales hídricos produjo una demora en la germinación. Para estandarizar el efecto del tiempo sobre la germinación se determinó el momento en que ocurre el 50 % de la germinación (G50) para cada curva. El 50 % de las semillas provenientes de plantas -H₂O germinaron en promedio a los $2,6 \pm 1,4$ días, mientras que las plantas +H₂O tuvieron un retardo significativo de la germinación de un día ($3,8 \pm 0,1$ días)

TABLA 1

Análisis de varianza de dos vías para el porcentaje de semillas germinadas al día 14. Los resultados son la media de cinco experimentos independientes

Two-way analysis of variance of seeds germinated at 14th day. The results are the means of five independent experiments

| | Grados de libertad | Valor de F | Valor de P |
|-------------------|--------------------|------------|------------|
| Manitol | | | |
| Riego | 1 | 1,309 | 0,259 |
| Potencial hídrico | 5 | 56,818 | 0,000 * |
| R x P | 5 | 1,036 | 0,421 |
| NaCl | | | |
| Riego | 1 | 9,545 | 0,005 * |
| Potencial hídrico | 3 | 164,423 | 0,000 * |
| R x P | 3 | 10,939 | 0,000 * |
| Temperatura | | | |
| Riego | 1 | 0,006 | 0,941 |
| Temperatura | 5 | 45,786 | 0,000 * |
| R x T | 5 | 0,950 | 0,402 |

* P < 0,05

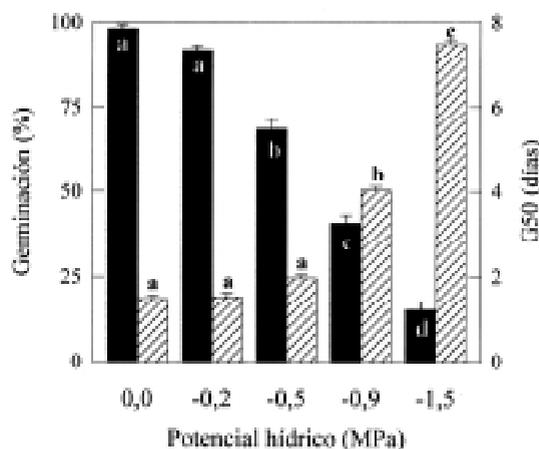


Fig. 1: Efecto del déficit hídrico por adición de manitol sobre el porcentaje de semillas germinadas (■) y el tiempo necesario para que germine el 50 % de las semillas (▨). Los valores son la media de cinco experimentos independientes (\pm EE). Las diferencias significativas $P < 0,05$ (prueba de Tukey) se indican con letras distintas.

Effect of water deficit through mannitol addition on seed germinations percentage (■) and the time needed for 50 % seed germination (▨). Values are the means of five independent experiments (\pm SE). Different letters indicate significant differences $P < 0.05$ (Tukey test).

(Tabla 2). Un retardo en la germinación de las semillas expuestas a déficit hídrico se observa a partir de los -0,9 MPa (Fig. 1). Las semillas que no germinaron a -1,8 MPa presentaron una germinación del 99 % al ser puestas en agua destilada a 15 °C (Tabla 3).

NaCl

La cantidad de semillas germinadas al día 14 se vio influida por el riego, el potencial hídrico y por la interacción entre ambos factores (Tabla 1). El porcentaje de semillas que germinó en plantas -H₂O fue de 66,2 ± 1, mientras que en las plantas +H₂O germinó un mayor porcentaje (79 ± 2). Una reducción del número de semillas germinadas junto con la disminución de potenciales hídricos se observó a partir de los -0,5 MPa (Fig. 2). Un efecto de interacción riego x potencial se encontró a los -0,5 MPa. Semillas de plantas -H₂O germinaron en menor porcentaje (5,2 ± 0,8) que las semillas de plantas +H₂O (42,2 ± 1). Se encontró un efecto significativo de tiempo necesario para que germine el 50 % de las semillas para riego, potencial hídrico y su interacción (Tabla 2). Un mayor retardo en la germinación se evidenció en las plantas -H₂O (5,1 ± 0,02 días) respecto a las plantas +H₂O (2,3 ± 0,02 días).

TABLA 2

Análisis de varianza de dos vías para el tiempo que necesitan el 50 % de las semillas en germinar. Para el análisis se utilizaron sólo aquellos valores donde hubo germinación. Los resultados son la media de cinco experimentos independientes

Two-way analysis of variance of time at which 50 % seeds germinate. For the analysis we used values where germination occurred only. The results are the means of five independent experiments

| | Grados de libertad | Valor de F | Valor de P |
|-------------------|--------------------|------------|------------|
| Manitol | | | |
| Riego | 1 | 11,758 | 0,001* |
| Potencial hídrico | 4 | 50,280 | 0,000* |
| R x P | 4 | 2,155 | 0,091 |
| NaCl | | | |
| Riego | 1 | 41,104 | 0,000* |
| Potencial hídrico | 2 | 30,038 | 0,000* |
| R x P | 2 | 15,077 | 0,000* |
| Temperatura | | | |
| Riego | 1 | 0,004 | 0,947 |
| Temperatura | 2 | 0,294 | 0,748 |
| R x T | 2 | 1,944 | 0,165 |

*P < 0,05

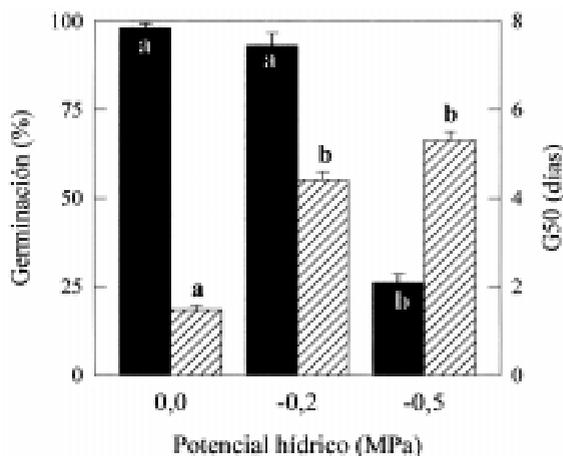


Fig. 2: Efecto de la disminución de los potenciales hídricos por adición de NaCl sobre el porcentaje de semillas germinadas (■) y el tiempo necesario para que germine el 50 % de las semillas (▨). Los valores son la media de cinco experimentos independientes (± EE). Las diferencias significativas P < 0,05 (prueba de Tukey) se indican con letras distintas.

Effect of water potentials decreased by NaCl addition on seed germinations percentage (■) and the time needed for 50 % seed germination (▨). Values are the means of five independent experiments (± SE). Different letters indicate significant differences P < 0.05 (Tukey test).

Potenciales hídricos de -0,2 y -0,5 MPa retardan la germinación entre 3 y 4 (± 0,2) días respecto de las semillas germinadas a 0 MPa (Fig. 2). Se encontró interacción entre el nivel de riego y potenciales hídricos de -0,2 y -0,5 MPa. En ambos casos plantas -H₂O demoraron más en germinar (G50) que las plantas +H₂O. No se encontró diferencias significativas a potenciales hídricos de 0 MPa. El porcentaje de germinación de semillas que no germinaron en NaCl al ser colocadas en agua destilada a 15 °C por una semana fue de 97 % (Tabla 3).

Temperatura

El nivel de riego al cual crecieron las plantas madres no tuvo un efecto significativo sobre el número de semillas germinadas sometidas a distintas temperaturas (Tabla 1). Las temperaturas investigadas afectaron la germinación. El óptimo de temperatura para la germinación se encontró entre los 15 y los 25 °C. A los 35 °C sólo germinó un 63,1 ± 3,3 %, mientras que a los 4, 8 y 45 °C, las semillas de *L. chilense* no germinaron (Fig. 3). El tiempo de germinación (G50) no mostró dife-

TABLA 3

Porcentaje de germinación en semillas de *L. chilense* que no germinaron a distintas temperaturas y concentraciones de manitol y NaCl, luego de ser puestas en agua destilada a 15 °C

Seed germination percentage of *L. chilense* that did not germinate under different temperatures and mannitol and NaCl concentrations, after being left in distilled water at 15 °C

| Tratamiento previo | Manitol | | NaCl | | Temperatura | | |
|--------------------|------------|------------|------------|--|-------------|----------|-------|
| | -1,8 (MPa) | -0,5 (MPa) | -1,5 (MPa) | | 4 °C | 8 °C | 45 °C |
| Germinación (%) | 99 ± 0,6 | 97 ± 1,3 | 98 ± 0,8 | | 89 ± 4,6 | 95 ± 2,8 | 0 |

rencias en cada una de las temperaturas (Tabla 2). Las semillas expuestas a 4 y 8 °C que no germinaron, si lo hicieron a 15 °C, mientras que las que estuvieron a 45 °C no germinaron (Tabla 3).

DISCUSIÓN

La germinación de semillas en especies que habitan ambientes extremos pareciera estar asociada con un alto grado de resistencia a condiciones de sequía, salinidad y temperatura extremas. Esta

resistencia sería adquirida durante la formación de la semilla y afectada por las condiciones medio ambientales a la que es expuesta la planta madre (Pallais & Espinola 1992, Grossniklaus et al. 1998, Donohue 1999, Munir et al. 2000, Galloway 2001).

En nuestro experimento, un grupo de plantas creció con buen abastecimiento hídrico y otro grupo fue sometido durante todo su desarrollo a condiciones deficitarias de agua. Se encontró que esta diferencia en la cantidad de agua a la que crecieron las plantas madres, tuvo efectos en el número de semillas germinadas y en el tiempo que demoran en germinar el 50 % de las semillas al ser sometidas a potenciales hídrico negativos y distintas temperaturas. Las semillas de plantas -H₂O germinaron más rápidamente que las semillas provenientes de plantas +H₂O al ser sometidas a distintas concentraciones de manitol. Sin embargo, en soluciones de NaCl la relación fue inversa a la que se encontró para manitol, germinando primero las semillas de plantas +H₂O que las semillas de plantas -H₂O.

¿Cuál podría ser la causa de la diferencia en el número y en el tiempo de germinación de las semillas sometidas a distintas concentraciones de manitol o NaCl, cuando provienen de plantas madres que crecieron con abastecimiento hídrico deficiente? Respuestas semejantes e igual de contradictorias han sido descritas en semillas de especies como *Amaranthus retroflexus*, *Avena fatua* y *Sorghum bicolor* en las cuales una disminución del contenido hídrico del suelo induce una germinación más temprana, mientras en otras especies como *Arachis hypogaea* y *Spergularia mariana* el déficit hídrico aumenta la latencia de las semillas (Pallas et al. 1977, Chadoeuf-Hannel & Barralis 1982, Peters 1982, Sawhney & Naylor 1982, Okusanya & Ungar 1983, Benech et al. 1992). Al respecto no existen muchos anteceden-

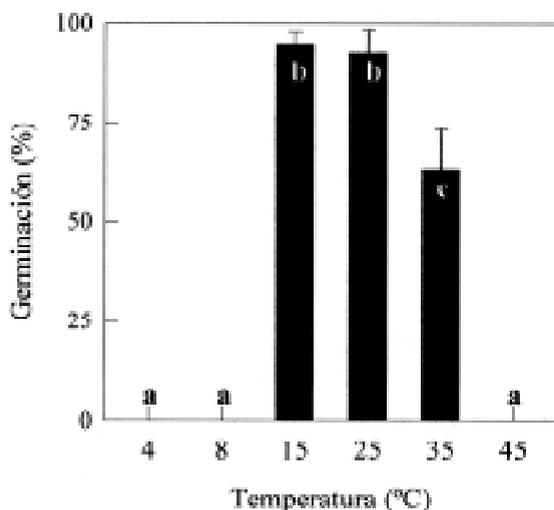


Fig. 3: Efecto de la temperatura sobre el porcentaje de semillas germinadas de *L. chilense*. Los valores son la media de cinco experimentos independientes (\pm EE). Las diferencias significativas $P < 0,05$ (prueba de Tukey) se indican con letras distintas.

Temperature effect on seed germination percentage of *L. chilense*. Values are the means of five independent experiments (\pm SE). Different letters indicate significant differences $P < 0.05$ (Tukey test).

tes que permitan explicar estas respuestas. Estudios fisiológicos durante el proceso de maduración de las semillas muestran que la tolerancia a la desecación es diferente entre las especies y depende principalmente de dos factores: la velocidad a la cual se produce la pérdida de agua y el contenido final de agua que queda en la semilla después del proceso de desecación (Hong & Ellis 1992, Ellis & Hong 1994, Wechsberg et al. 1994, Hay & Probert 1995). Tampoco está claro como estos cambios inducen transformaciones metabólicas que se traducen en una mayor resistencia de las semillas a condiciones adversas cuando germinan. Se postula que aumentos en los contenidos de ABA, carbohidratos solubles y la expresión diferencial de genes que codifican para proteínas LEA (late-embryogenesis-abundant) serían responsables de la resistencia en semillas de plantas sometidas a estrés hídrico y salino (Adams et al. 1983, Bartels et al. 1988, Chen & Burris 1990, Leprince et al. 1990, Blackman et al. 1991, Blackman et al. 1992, Vertucci & Farrant 1995, Black et al. 1996, Black et al. 1999, Carles et al. 2002), sin embargo, a pesar de la información acumulada, estos antecedentes no permiten explicar a cabalidad la relación inversa de germinación entre manitol y NaCl debido a un efecto materno.

Una hipótesis más plausible es el rol que puede cumplir una familia de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (HRGPs) que se depositan en la pared celular de diferentes órganos y tejidos en condiciones de estrés (Showalter 1993). Como es sabido, la pared celular está compuesta principalmente de celulosa la que es atravesada por moléculas no celulósicas como hemicelulosa y pectinas. A esta red se unen proteínas estructurales que incluyen HRGPs, GRPs, PRPs, lectinas y arabinogalactanos, formando una red altamente entrelazada. Las HRGPs son glicoproteínas en las que la porción polipeptídica (hidrofóbica) va unida a cadenas cortas de carbohidratos (hidrofílicas). Estos carbohidratos son importantes para mantener la estructura lineal de HRGPs y permitir mantener unida la matriz de la pared celular (Biggs & Fry 1990, Iiyama et al. 1994, Kieliszewski & Lampert 1994, Qi et al. 1995). Durante el desarrollo y bajo condiciones de déficit hídrico y salinidad, se ha observado un aumento en la expresión de genes que codifican para la síntesis de HRGPs, los que serían regulados en forma específica por cada tejido (Keller & Lamb 1989, Ye & Varner 1991, Ye et al. 1991, Showalter 1993).

Hall & Cannon (2002), estudiando embriones mutados de *Arabidopsis* incapaces de codificar para el gen que sintetiza HRGPs encontraron que éstas se localizan principalmente en la pared ce-

lular rodeando principalmente al embrión. Las semillas que se desarrollan de estas mutantes son morfológicamente anormales y aún cuando germinan son incapaces de desarrollarse. Resultados similares han sido reportados por Lu & Showalter (2001) y Gao & Showalter (2000) en semillas de tomate, quienes utilizando la técnica "antisense" han encontrado que las semillas que no expresan HRGPs son incapaces de hidratarse adecuadamente y germinar.

Proponemos a nivel de hipótesis que las glicoproteínas ricas en hidroxiprolina se sintetizarían durante el desarrollo de las semillas cuando las plantas madres están sometidas a condiciones de sequía. Esta respuesta mantendría la funcionalidad de la matriz de la pared celular en condiciones de déficit hídrico, lo que permitiría la adhesión física del agua por capilaridad a las moléculas que forman la pared celular y la interacción con los polímeros hidrofóbicos favoreciendo la rápida imbibición de la semilla y su pronta germinación, cuando existe disponibilidad hídrica. En el caso de NaCl el excesivo ingreso de Na junto con el agua, ejercería rápidamente un efecto inhibitorio. En conclusión, bajo las condiciones experimentales analizadas es posible suponer un efecto materno ocasionado por la disponibilidad de agua sobre la capacidad de germinar a distintos potenciales hídricos, pero no de salinidad.

Esto significa que una misma planta madre de *L. chilense* puede producir semillas con distinta capacidad germinativa en diferentes años, dependiendo de si el año es seco o lluvioso. El banco de semillas de esta especie sería heterogéneo con respecto a su capacidad germinativa. Nuestros resultados muestran que las semillas de *L. chilense* son viables lo que permite descartar la primera hipótesis. Sin embargo, la capacidad de germinación está limitada a un rango estrecho de condiciones ambientales.

La disminución en los potenciales hídricos por adición de manitol inhibió progresivamente la germinación, debido a una menor disponibilidad del agua libre necesaria para el inicio de los procesos de imbibición y activación metabólica (Obroucheva & Antipova 1997). El reemplazo de manitol por NaCl, a potenciales hídricos equivalentes, evidenció el efecto iónico de Na sobre el metabolismo celular inhibiendo la germinación (Hayward & Bernstein 1958). Temperaturas bajo los 15 °C no son congelantes pero provocaron una reducción de la germinación debido probablemente a que las enzimas hidrolíticas de los cotiledones no fueron activadas, sin desencadenar la activación metabólica de la semilla (Obroucheva & Antipova 1997, Nonogaki &

Morohashi 1999). Temperaturas sobre los 35 °C provocaron la muerte del embrión por exceso de temperatura, lo que fue avalado en los experimentos de rehidratación.

Potenciales hídricos de -1,8 MPa logrados con manitol y de -1,5 con NaCl impiden la germinación, pero no provocaron daño permanente en las semillas, las que germinaron rápidamente al ser puestas en agua destilada. Estos resultados muestran que sin bien condiciones extremas impiden su germinación, si las temperaturas son moderadas y al mismo tiempo llueve, las semillas serán capaces de salir de su latencia fisiológica y germinar. Estudios sobre la germinación en algunas plantas de desierto muestran valores semejantes a los descritos. Por ejemplo, en *Zygophyllum dumoso*, un arbusto que crece en el desierto israelí, es capaz de germinar a potenciales hídricos del suelo cercanos a los -10 MPa. La germinación se reduce en un 50% al ser sometidas a potenciales hídricos de -0,2 MPa logrados con NaCl, lo que sugiere una baja tolerancia a la salinidad y alta al déficit hídrico. El rango de temperatura óptima de germinación se encuentra entre los 10 y 25 °C (Agami 1986). En varias especies de *Allium* que crecen en distintos lugares del desierto de Negev, Gutterman et al. (1995) encontraron una reducción del 50% de semillas germinadas en NaCl, a potenciales hídricos entre los -0,05 y los -0,3 MPa, con un rango óptimo de germinación a temperaturas de 10 y 20 °C.

Valores semejantes de germinación en semillas sometidas a NaCl (G50) han sido documentados en poblaciones de *Atriplex repanda* para la región semiárida de Chile (Moreno et al. 1990).

En arbustos del desierto californiano del género *Chrysothamus* y *Sarcobatus*, este último asociado a ambientes salinos, Garaldine & Donovan (1999) encontraron diferencias en el G50 frente a déficit hídrico y salino. Mientras *Sarcobatus* presenta G50 a -1,5 MPa, *Chrysothamus* tiene una reducción del 50% a potenciales hídricos de -0,8 MPa. En estas plantas no se observan diferencias en la reducción de la germinación ya sea sometidas a polietileno glicol (PEG) o NaCl, suponiendo un efecto materno en el caso de las semillas de *Sarcobatus*.

Estos antecedentes y los de Baskin & Baskin (1998) que muestra un acabado resumen para semillas de semidesiertos y desiertos, sugieren que las semillas de arbustos de desierto no presentarían una gran resistencia a factores climáticos extremos y serían especialmente sensibles a NaCl. Esto implica que las semillas de desiertos deben germinar en las épocas de año cuando las condiciones ambientales sean benignas. Un caso total-

mente distinto parece ser el de árboles como *Prosopis chilensis* en donde semillas sometidas a NaCl son capaces de germinar (G50) a potenciales hídricos cercanos a los -2,6 MPa (Cazebonne et al. 1999).

¿Cómo logra *L. chilense* sobre la base de estos antecedentes y en las condiciones climáticas donde habita mantener sus poblaciones? Por sobre los 3.000 m las temperaturas medias mensuales son inferiores a 10 °C durante todo el año, lo que limitaría la germinación de las semillas. Esto es concordante con las observaciones que *L. chilense* se encuentra hasta los 3.000 m, donde comienza a ser reemplazado por *Lycopersicon peruvianum* (observaciones personales). Entre el nivel del mar y los 2.000 m las temperaturas son adecuadas para la germinación prácticamente todo el año. Sin embargo, las precipitaciones durante el año son nulas o no superan los 3 mm en los meses de primavera más lluviosos, impidiendo la germinación aún cuando las temperaturas sean favorables. Las poblaciones de *L. chilense* que crecen bajo los 2.000 m se localizan exclusivamente asociadas a cursos de agua. Al parecer las mejores condiciones para el desarrollo de *L. chilense* se encuentran entre los 2.000 y 3.000 m, en aquellos sitios donde la combinación de temperaturas y precipitaciones, especialmente en los meses de verano, permitan la germinación de algunas de sus semillas, ya que en invierno las precipitaciones son escasas o nulas (CORFO 1982).

La germinación de *L. chilense* debiera estar restringida a los periodos favorables, es decir precipitaciones abundantes y temperaturas moderadas, creciendo rápidamente antes de que ocurra un cambio de las condiciones ambientales, lo que puede demorar años; incluso se puede pensar en una relación con eventos climáticos como "El Niño" (ENOS), debido a que *L. chilense* es una planta perenne. Al respecto, Holmgren et al. (2001) mencionan que eventos ENOS podrían inducir la recuperación de la vegetación en estas regiones, si la cantidad de agua caída es suficiente. El hecho de que *L. chilense* presente casi un 100% germinación ya a los 3 días después de ser embebidas las semillas y el rápido desarrollo que presenta en pocas semanas, parecen avalar esta hipótesis. Sin embargo hacen falta estudios de dinámica poblacional en los hábitat naturales de *L. chilense* para poder validar esta hipótesis.

Adicionalmente a la reproducción sexual a través de semillas, *L. chilense* se reproduce vegetativamente a través de raíces adventicias. El aporte de estas dos estrategias de reproducción a la dinámica poblacional debería ser analizada en más detalle.

De los antecedentes aquí mostrados podemos concluir que la capacidad de germinación de las semillas de *L. chilense* está restringida a condiciones de temperatura y abastecimiento hídrico favorable. El posterior establecimiento de las plántulas debe ocurrir en meses donde las condiciones ambientales son extremas, lo que implica que la resistencia a la sequía, la salinidad o temperaturas que presenta *L. chilense* en sus hábitat naturales no es una tolerancia que esté presente en las plántulas, sino que debe ser necesariamente un proceso posterior que se adquiere durante su desarrollo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Julio Gutiérrez por la corrección del manuscrito y sus valiosos comentarios, como también a Luis Corcuera (editor asociado) y a dos correctores anónimos por sus acertadas sugerencias. Este estudio fue financiado por el proyecto FONDECYT de post-doctorado 3000020.

LITERATURA CITADA

- ADAMS CA, MC FJERSTAD & RW RINNE (1983) Characteristics of soybean maturation: necessity for slow dehydration. *Crop Science* 23: 265-267.
- AGAMI M (1986) The effects of different soil water potentials, temperature and salinity on germination of seed of the desert shrub *Zygophyllum dumosum*. *Physiologia Plantarum* 67: 305-309.
- BARTELS D, M SINGH & F SALAMINI (1988) Onset of desiccation tolerance during development of the barley embryo. *Planta* 175: 485-492.
- BASKIN CC & JM BASKIN (1998) Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press, San Diego, California. 666 pp.
- BLACK M, F CORBINEAU, M GRZESIK, P GUY & D CÔME (1996) Carbohydrate metabolism in the developing and maturing wheat embryo in relation to its desiccation tolerance. *Journal Experimental Botany* 47: 161-169.
- BLACK M, F CORBINEAU, H GEE & D CÔME (1999) Water content, raffinose, and dehydrins in the induction of desiccation tolerance in immature wheat embryos. *Plant Physiology* 120: 463-472.
- BLACKMAN SA, SH WETTLAUFER, RL OBENDORF & AC LEOPOLD (1991) Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. *Plant Physiology* 96: 868-874.
- BLACKMAN SA, RL OBENDORF & AC LEOPOLD (1992) Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds. *Plant Physiology* 100: 225-230.
- BENECH A, RL FENNER & PJ EDWARDS (1992) Changes in dormancy level in *Sorghum halepense* seeds induced by water stress during seed development. *Functional Ecology* 6: 596-605.
- BIGGS KJ & SC FRY (1990) Solubilization of covalently bound extensin from *Capsicum* cell walls. *Plant Physiology* 92: 197-204.
- CARLES C, N BIES-ETHEVE, L ASPART, KM LÉON-KLOOSTERZIEL, M KOORNNEEF, M ECHEVERRIA & M DELSENY (2002) Regulation of *Arabidopsis thaliana* Em genes: role of ABI5. *Plant Journal* 30: 373-383.
- CANADY MA, MR STEVENS, MS BARINEAU & JW SCOTT (2001) Tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in tomato derived from *Lycopersicon chilense* Dun. LA 1938. *Euphytica* 117: 19-25.
- CAZEBONNE C, AI VEGA, DA VARELA & LA CARDEMIL (1999) Salinity effects on germination and growth of *Prosopis chilensis*. *Revista Chilena de Historia Natural* 72: 83-91.
- CHADOEUF-HANNEL R & G BARRALIS (1982) Influence de differents regimes hydriques sur la croissance vegetative, le poids et al germination des graines d'une mauvaise herbe cultivee en serre: *Amaranthus retroflexus* L. *Agronomie* 2: 835-841.
- CHEN RD & Z TABAEIZADEH (1992) Expression and molecular cloning of drought-induced genes in the wild tomato *Lycopersicon chilense*. *Biochemistry Cell Biology* 70: 199-206.
- CHEN Y & JS BURRIS (1990) Role of carbohydrates in desiccation tolerance and membrane behavior in maturing maize seed. *Crop Science* 30: 971-975.
- CORFO (1982) Análisis de los ecosistemas de la I Región. Gerencia de Desarrollo, Corporación de Fomento, Santiago, Chile. 195 pp.
- DONOHUE K (1999) Seed dispersal as a maternally-influenced character: Mechanistic basis of maternal effects and selection on maternal characters in an annual plant. *American Naturalist* 154: 674-689.
- DUBREUCQ B, N BERGER, E VINCENT, M BOISSON, M CABOCHE & L LEPINIEC (2000) The Arabidopsis AtEPR1 extensin-like gene is specifically expressed in endosperm during seed germination. *Plant Journal* 23: 643-652.
- ELLIS R & TD HONG (1994) Desiccation tolerance and potential longevity of developing seeds of rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 73: 501-506.
- FOLEY ME & SA FENNIMORE (1998) Genetic basis for seed dormancy. *Seed Science Research* 8: 173-182.
- GALLOWAY LF (2001) The effects of maternal and paternal environments on seed characters in the herbaceous plant *Campanula americana* (Campanulaceae). *American Journal of Botany* 88: 832-840.
- GAO M & AM SHOWALTER (2000) Immunolocalization of LeAGP-1, a modular arabinogalactan-protein, reveals its developmentally regulated expression in tomato. *Planta* 210: 865-874.
- GERALDINE LD & LA DONOVAN (1999) Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *American Journal of Botany* 86: 1146-1153.

- GRIFFITHS PD & JW SCOTT (2001) Inheritance and linkage of tomato mottle virus resistance genes derived from *Lycopersicon chilense* accession LA 1932. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 126: 462-467.
- GROSSNIKLAUS U, JP BIELLA-CALZADA, MA HOEPPNER & WB GAGLIANO (1998) Maternal control of embryogenesis by MEDEA a polycomb group gene in *Arabidopsis*. *Science* 280: 446-450.
- GUTTERMAN Y, R KAMENETSKY & M VAN ROOYEN (1995) A comparative study of seed germination of two *Allium* species from different habitats in the Negev Desert highlands. *Journal of Arid Environments* 29: 305-315.
- GUTTERMAN Y (2000) Maternal effects on seed during development. En: Fenner M (ed) *Seed: the ecology of regeneration in plant communities*: 59-84. CAB International, Wallingford, United Kingdom.
- HALL Q & MC CANNON (2002) The cell wall hydroxyproline-rich glycoprotein RSH is essential for normal embryo development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14: 1161-1172.
- HAY FR & RJ PROBERT (1995) Seed maturity and the effects of different drying conditions on desiccation tolerance and seed longevity in foxglove (*Digitalis purpurea* L.). *Annals Botany* 76: 639-647.
- HAYWARD HE & L BERNSTEIN (1958) Plant growth relationship on salt affected soils. *Botanical Review* 24: 484-635.
- HOLMGREN M, M SCHEFFER, E ZCURRA, JR GUTIÉRREZ & MJM GODEFRIDUS (2001) El Niño effects on the dynamics of terrestrial ecosystems. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 89-94.
- HONG TD & RH ELLIS (1992) Development of desiccation tolerance in Norway maple (*Acer platanoides* L.) seeds during maturation drying. *Seed Science Research* 2: 169-172.
- IYAMA K, TB-T LAM & BA STONE (1994) Covalent cross-links in the cell wall. *Plant Physiology* 104: 315-320.
- KELLER B & CJ LAMB (1989) Specific expression of a novel cell wall hydroxyproline-rich glycoprotein gene in lateral root initiation. *Genes Development* 3: 1639-1646.
- KIELISZEWSKI MJ & DTA LAMPORT (1994) Extensin: repetitive motifs, functional sites, posttranslational codes, and phylogeny. *Plant Journal* 5: 157-172.
- LEPRINCE O, R BONCHART & R DELTOUR (1990) Changes in starch and soluble sugars in relation to the acquisition of desiccation tolerance during maturation of *Brassica campestris* seed. *Plant Cell Environment* 13: 539-546.
- LU H, M CHEN & AM SHOWALTER (2001) Developmental expression and perturbation of arabinogalactan-proteins during seed germination and seedling growth in tomato. *Physiologia Plantarum* 112: 442-450.
- MORENO RJ, JR GUTIÉRREZ & LE AGUILERA (1990) El efecto del NaCl en la germinación de semillas de poblaciones de *Atriplex repanda* en la región semiárida de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 63: 61-68.
- MUNIR J, LA DORN, K DONOHUE & J SCHMITT (2000) The effect of maternal photoperiod on seasonal dormancy in *Arabidopsis thaliana*. *American Journal of Botany* 88: 1240-1249.
- NONOGAKI H & Y MOROHASHI (1999) Temporal and spatial pattern of the development of endo- β -mannanase activity in germinating and germinated lettuce seeds. *Journal Experimental Botany* 50: 1307-1313.
- OBROUCHEVA NV & OV ANTIPOVA (1997) Physiology of the initiation of seed germination. *Russian Journal of Plant Physiology* 44: 250-264.
- OKUSANYA OT & IA UNGAR (1983) The effects of time of seed production on the germination response of *Spergularia marina*. *Physiologia Plantarum* 59: 335-342.
- PALLAS JE, JR STANSELL & RR BRUCE (1977) Peanut seed germination as related to soil water regime during pod development. *Agronomy Journal* 69: 381-383.
- PALLAIS N & N ESPINOLA (1992) Seed quality as affected by nitrogen during potato seed production moisture condition during storage. *American Potato Journal* 68: 85-93.
- PETERS NBC (1982) The dormancy of wild oat seed (*Avena fatua* L.) from plants grown under various temperature and soil moisture condition. *Weed Research* 22: 205-212.
- QI X, BX BEHRENS, PR WEST & AJ MORT (1995) Solubilization and partial characterization of extensin fragments from cell walls of cotton suspension cultures. Evidence for a covalent cross-link between extensin and pectin. *Plant Physiology* 108: 1691-1701.
- SÁNCHEZ PP, SE FENDER & MA O'CONNELL (1995) Leaf water relation of *Lycopersicon chilense* during a drought cycle. *Tomato Genetics Coop Report* 45: 40-41.
- SAWHNEY R & NAYLOR JM (1982) Dormancy studies in seed of *Avena fatua* L. Influence of drought stress during seed development on duration of seed dormancy. *Canadian Journal Botany* 57: 59-63.
- SCOTT JW, MR STEVENS, JHM BARTEN, CR THOME, JE POLSTON, DJ SCHUSTER & CA SERRA (1996) Introgression of resistance to whitefly-transmitted geminiviruses from *Lycopersicon chilense* to tomato. En: Gerling D & R Mayer (eds) *Bemisia* 1995: taxonomy, biology, damage, control and management: 357-367. Intercept, Andover, United Kingdom.
- SHOWALTER AM (1993) Structure and function of plant cell wall proteins. *Plant Cell* 5: 9-23.
- VERTUCCI CW & JM FARRANT (1995) Acquisition and loss of desiccation tolerance. En: Kigel J & G Galil (eds) *Seed development and germination*: 237-272. Marcel Dekker, New York, New York.
- VOLOSKY E (1974) *Hortalizas: cultivo y producción en Chile*. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. 353 pp.
- WARNOCK SJ (1991) Natural habitats of *Lycopersicon*. *HortScience* 26: 466-471.
- WECHSBERG GE, CM BRAY & RJ PROBERT (1994) Expression of dehydrin-like proteins in orthodox seeds of *Ranunculus scleratus* during development and water stress. *Seed Science Research* 4: 241-246.

- YE Z-H & JE VARNER (1991) Tissue-specific expression of cell wall proteins in developing soybean tissues. *Plant Cell* 3: 23-37.
- YE Z-H, Y-R SONG, A MARCUS & JE VARNER (1991) Comparative localization of three classes of cell wall proteins. *Plant Journal* 1: 175-183.
- YU L-X, M DJEBROUNI, H CHAMBERLAND, JG LAFONTAINE & Z TABAEIZADEH (1998) Chitinase: Differential induction of gene expression and enzyme activity by drought stress in the wild (*Lycopersicon chilense* Dun.) and cultivated (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tomatoes. *Journal of Plant Physiology* 153: 745-753.

Editor Asociado: L. Corcuera

Recibido el 14 de marzo de 2002; aceptado el 2 de septiembre de 2002