

TEMA IV: Fisiología, Bioquímica y Conservación

EL PROCESO DE LA GERMINACION

Jairo Correa V.

Ing. Agr. Ph.D, Profesor titular Universidad Nacional - Seccional Medellín, Medellín - Colombia.

RESUMEN

1. LA SEMILLA UN SIMBOLO

- Del comienzo de una nueva vida en el reino vegetal.
- De una unidad altamente ordenada, en forma de un paquetico de vida listo para ser transportada.

2. DEFINICIONES DE SEMILLA

- Botánica: es el óvulo fecundado y maduro.
- Otras: Energía empacada, parte de la cual está en forma de un código genético.
- Es el estado de mínima entropía en el ciclo de vida de las angiospermas y de las gimnospermas.
- Unidad de propagación que a veces es un fruto (cariósido, aquenio y frutos similares, esquizocarpos, mericarpos con o sin periantio, etc.).

3. IMPORTANCIA DE LA GERMINACION

- Fisiológica: obtención de información acerca del valor de las semillas, desde el punto de vista de su siembra en el terreno de cultivo y proporcionar resultados que permitan comparar el valor de los diferentes lotes de semillas (ISTA).

4. DEFINICION DE GERMINACION

En un ensayo de laboratorio se define la germinación como la emergencia y desarrollo a partir del embrión de la semilla, de aquellas estructuras esenciales que para la clase de semilla que se está ensayando indican la capacidad para desarrollarse en planta normal bajo condiciones favorables en el suelo (ISTA).

5. FASES DEL PROCESO

- Física (rehidratación)
Mediante procesos físicos como difusión, ósmosis, capilaridad, potencial del agua se produce la

imbibición del agua por la semilla. Esta trae como consecuencia un aumento de volumen, tanto de los tegumentos como de los materiales de reserva y del embrión en particular.

Entre los factores que afectan la velocidad de imbibición en la semilla están la composición de los tegumentos y materiales de reserva, la superficie de la semilla expuesta, la temperatura ambiente, el agua disponible en el medio, el grado de madurez de la semilla y la presión de imbibición.

— Bioquímica

Hay un fuerte incremento de la actividad enzimática como resultado de la rehidratación. Este a su vez produce un aumento de la respiración con producción de gas carbónico, agua y ATP. El incremento respiratorio tiene como consecuencia la degradación de los materiales de reserva (carbohidratos, lípidos, proteínas, hemicelulosas, etc.).

En esta fase del proceso intervienen organelos, estructuras y macromoléculas, como mitocondrias, núcleo, membranas, enzimas, ribosomas, glioxisomas y los ácidos ADN y ARN.

— Movilización de reservas hacia el embrión.

Al comienzo de la germinación los materiales de reserva complejos, son solubles e inmóviles. Después de ser digeridos pasan a ser simples, solubles y aprovechables por el embrión.

— Asimilación de reservas por el eje embrionario

Digeridas las sustancias de reserva y translocadas al embrión son utilizadas por este para la construcción de nuevos tejidos y órganos de la nueva planta.

— Formación de nuevas estructuras

Esta se lleva a cabo principalmente a través del alargamiento celular. Sin embargo, cuando el proceso de formación está avanzado interviene la división celular de tipo mitótico principalmente.

— Aparición de plúmula y radícula.

En las monocotiledóneas se forma inicialmente una raíz primaria, un hipocotilo y luego un epicotilo. En las dicotiledóneas se forma primero una radícula y luego la plúmula.

6. REQUISITOS EXTERNOS

Entre los más importantes se pueden citar el agua que debe ser abundante, el oxígeno en cantidad suficiente, la temperatura que debe ser favorable y la luz, sólo requerida por algunos tipos de semillas como el Tabaco, la Lechuga, varios pastos (gramíneas), coníferas, etc.

7. REQUISITOS INTERNOS

Entre otros pueden citarse los siguientes: madurez de la semilla, período de reposo, edad de la semilla y grado de deterioro de la misma, efectos de las fitohormonas y daño mecánico. Este último puede ser tan severo que a veces mata la semilla.

8. PRUEBAS DE GERMINACION

Los ensayos de germinación realizados en las condiciones de cultivo no son generalmente satisfactorios, ya que sus resultados no se pueden reproducir fielmente. Por ello se han desarrollado métodos de laboratorio controlando algunas o todas las condiciones externas, con el fin de obtener germinación más regular, más rápida y más completa posible, para la mayoría de las muestras de una especie determinada de semillas (ISTA).

1. INTRODUCCION.

La germinación es un proceso complejo. Para su examen existen obras muy completas como son *The Germination of Seeds* de Meyer y Poljakoff, y *Physiology and Biochemistry of Seeds* de Bewley y Black (Tomos I y II).

También hay sobre la materia capítulos completos en varios textos de Fisiología Vegetal y numerosos artículos en revistas especializadas como *Seed Science and Technology*.

Las fases del proceso son bien conocidas y la mayor parte de las investigaciones se han realizado en semillas de plantas herbáceas, pero los mismos principios se aplican a la germinación de estas que de semillas de especies arbóreas.

La germinación o su ausencia no es un hecho fortuito, ni está sujeta a las leyes del azar.

1.1 DEFINICION.

De acuerdo con las normas internacionales de la ISTA (International Seed Testing Association), en un ensayo de laboratorio se entiende por germinación "la emergencia y desarrollo a partir del embrión de todas aquellas estructuras esenciales que para la clase de semilla que se está ensayando indican la capacidad para desarrollarse en planta normal, bajo condiciones favorables en el suelo". Sin embargo, hay autores que consideran suficiente la aparición de la radícula para considerar la semilla como germinada.

1.2 IMPORTANCIA DE LA GERMINACION.

Desde el punto de vista fisiológico se considera que la finalidad de la germinación es la de obtener información acerca del valor de las semillas, desde el punto de vista de su siembra en el terreno de cultivo, y proporcionar resultados que permitan comparar el valor de los diferentes lotes de semillas.

Desde el punto de vista práctico, una rápida germinación de las semillas es muy deseable por cuanto hay menos oportunidad de daño en estas por insectos y patógenos o por condiciones desfavorables del clima o del medio ambiente, o para que las semillas sean alimento de pájaros y roedores.

2. FASES DEL PROCESO.

En reciente revisión de literatura, Mayer y Shain (1974) concluyeron que "el conocimiento del control de la germinación no es satisfactorio. La razón de esto no es falta de investigación por cuanto en más de 20.000 artículos que se han publicado durante los últimos quince años se menciona la palabra germinación. El principal problema parece ser que en la mayoría de los casos el objetivo buscado fué únicamente hallar un medio para mejorar la germinación, más bien que entender los mecanismos mediante los cuales se puede controlar este proceso. Está bien establecido que los factores ambientales afectan la germinación de la semilla. Sin embargo, no se sabe cómo estos factores ejercen su efecto en el embrión.

Para que una semilla pueda germinar hay que colocarla en condiciones favorables para este proceso. Cada especie y variedad tiene sus requisitos, y estos están determinados por factores hereditarios y por las condiciones bajo las cuales se formó la semilla. Parece existir correlación entre los factores ambientales y las condiciones ecológicas del hábitat de la planta.

Los factores ambientales más importantes que afectan el proceso son el agua, la temperatura, los gases y en algunas semillas la luz. Todos ellos interactúan, pues ninguno de ellos actúa independientemente.

2.1 FISICA (HIDRATACION).

Lo primero que ocurre durante la germinación es la toma de agua por IMBIBICION. La imbibición está determinada por la naturaleza de los materiales de reserva, la permeabilidad de las membranas seminales (tegumentos), la disponibilidad de agua en el medio y la composición del medio de germinación (solutos).

La imbibición está relacionada con los coloides. No lo está con la viabilidad de la semilla, puesto que viva o no ésta imbebe agua.

La imbibición causa la presión de imbibición y ésta la hinchazón o aumento de volumen de la semilla. Su magnitud puede llegar a ser de cientos de atmósferas, conduce a la ruptura de los tegumentos y a la apertura de espacio para la semilla en el suelo.

Las proteínas son el principal componente de los materiales de reserva que imbebe agua. También los mucílagos, celulosas y hemicelulosas. Los almidones poco o nada contribuyen a la imbibición.

2.2 BIOQUIMICA.

Como resultado de la imbibición se produce un fuerte incremento de la actividad enzimática. Este a su vez produce un aumento de la respiración, con producción de gas carbónico, agua y ATP. El incremento respiratorio tiene como consecuencia la degradación de los materiales de reserva (carbohidratos, lípidos, proteínas, etc.). En esta fase del proceso intervienen organelos, estructuras y macromoléculas como mitocondrias, núcleo, membranas citoplásmicas, enzimas ribosomas, glioxisomas, y los ácidos ADN y ARN.

2.3 ASIMILACION DE RESERVAS POR EL EMBRION.

Los materiales de reserva más abundantes en la semilla son los carbohidratos, lípidos, proteínas y compuestos que contienen fósforo.

Los diversos autores se refieren en forma individual a la movilización de estos materiales, en lugar de hacerlo en grupo, como sucede en la realidad y con un mismo tipo de planta germinando las semillas en distintas condiciones. Por ello es difícil presentar un cuadro integrado del proceso y las relaciones entre materiales son muy difíciles.

Metabolismo de los carbohidratos:

El almidón es el material de reserva más común entre los carbohidratos. Se conocen dos vías catabólicas, así: amilosas + α amilasa \rightarrow glucosa + α maltosa + α maltotriosa. amilopectina $\xrightarrow{\alpha$ amilasa} glucosa + maltosa + α maltotriosa + α límite dextrina $\xrightarrow{\alpha$ maltotriosa $\xrightarrow{\alpha$ amilasa} α maltosa + α glucosidasa \rightarrow maltosa \rightarrow glucosa

amilosa $\xrightarrow{\beta$ amilasa} maltosa
amilopectina $\xrightarrow{\beta$ amilasa} β maltosa + β límite dextrina
dextrina límite $\xrightarrow{\alpha$ glucosidasa} glucosa.

En las dicotiledóneas la degradación de los almidones produce más glucosa y maltotriosa que en las monocotiledóneas (cereales), en los que se produce más maltosa. Esto debido a la actividad de la β amilasa en las dos clases de semillas.

La otra vía catabólica es la fosforolítica, así:
amilosa + amilopectina + Pi
 $\xrightarrow{\text{fosforilasa almidón}}$ glucosa 1-P + dextrina límite

Síntesis de la sacarosa:

La sacarosa es la forma más importante en la cual los productos del catabolismo de los carbohidratos y triglicéridos son transportados al eje embrionario. La glucosa 1-P puede ser usada directamente para la síntesis de sacarosa, pero cualquier glucosa libre debe ser fosforilada antes vía glucosa 6-P y luego isomerizada.

Movilización de reservas hacia el embrión de los cereales: Comienza entre uno y tres días, dependiendo de las condiciones de germinación. La utilización de las reservas es controlada por el embrión, que secreta el factor del control: la giberelina, que es sintetizada por éste con anterioridad. No se conoce con precisión el sitio exacto de síntesis. Se ha propuesto la región nodal del embrión, inicialmente. Posteriormente la produce el escutelo. Se opina también que es al contrario. Se piensa, además, que se sintetiza auxina en la punta del coleoptilo y de allí se difunde al escutelo. La auxina promueve una extensa lignificación de la lignina en los elementos alargados de los haces provasculares del escutelo. Esto empieza cinco horas después de humedecido el grano, de tal manera que así queda preparado en una etapa temprana el transporte de metabolitos del escutelo al embrión. Y de giberelinas sintetizadas en el nudo hacia el escutelo, donde son liberadas. Que así ocurre se ha comprobado usando giberelina radiactiva y observando su movilización por los haces vasculares del escutelo.

Disolución del endospermo y papel de la aleurona:

Está comprobado que la giberelina liberada en el escutelo se difunde a la aleurona, donde se estimula la producción y liberación en el endospermo de numerosas enzimas hidrolíticas. El ácido giberélico liberado del embrión induce a la aleurona a una serie de cambios metabólicos que dan como resultado la liberación de amilasa y otras hidrolasas en el endospermo, donde degradan las reservas allí almacenadas. Hay más de una α amilasa involucrada en la digestión del almidón.

La β amilasa parece incapaz de atacar los granos de almidón y digiere al almidón previamente solubilizado por la α amilasa.

El eje embrionario y el endospermo están separados en los cereales por el escutelo o escudete, cuyo papel consiste en absorber los productos de la digestión del endospermo, convirtiéndolos en sacarosa y transportándola al eje embrionario. La glucosa es absorbida por el escutelo, tanto pasiva como activamente. El transporte se hace a través del floema de los haces vasculares que conectan embrión y escutelo, y es utilizado allí para la formación de plúmula y radícula. La glucosa también puede ser sintetizada en la aleurona, pero el mecanismo de síntesis es desconocido. Luego es absorbida por el escutelo.

2.4 FORMACION DE NUEVAS ESTRUCTURAS.

Esta se lleva a cabo principalmente a través del alargamiento celular. Sin embargo, cuando el proceso de formación está avanzado interviene la división celular del tipo mitótico, principalmente.

2.5 APARICION DE PLUMULA Y RADICULA.

En las monocotiledóneas se forma inicialmente una raíz primaria, un hipocotilo y luego un epicotilo. En las dicotiledóneas se forma primero una radícula y luego una plúmula.

3. FACTORES EXTERNOS QUE LA AFECTAN.

Entre los más importantes se pueden citar el agua que debe ser adecuada, el oxígeno en cantidad suficiente, la temperatura que debe ser favorable y la luz, sólo requerida por algunos tipos de semillas como el tabaco, lechuga, varios pastos (gramíneas), algunas coníferas, etc.

3.1 AGUA.

El efecto del agua en la germinación es muy complejo. Opiniones recientes consideran el flujo de agua hacia la semilla como un caso especial de la ósmosis. También se mencionan como responsables del flujo de agua la capilaridad y el potencial del agua (ψH_2O)

También afectan la velocidad de imbibición la superficie de la semilla expuesta, la forma de la semilla, la temperatura ambiente, el grado de madurez de la semilla y la presión de imbibición.

La mayor parte de las semillas absorben agua adicional a la que tienen para iniciar los procesos bioquímicos de la germinación. Por ejemplo, en pino blanco pasa de un original 70% a un 45% hasta llegar a un 172% en la plántula.

Si el potencial del agua en contacto con la semilla es bajo, disminuye la germinación. Dicho potencial puede ser un factor limitante para la absorción de agua por una semilla, como por ejemplo cuando el suelo está cargado de sales. Cuando el suelo está en la capacidad de campo prácticamente todas las

semillas pueden germinar. Algunas semillas de hortalizas pueden germinar en un suelo con agua cerca al punto de marchitamiento permanente. Un 20% de semillas de trigo germinan con un potencial de agua cerca de -30 atmósferas. Las semillas de especies forestales son muy sensibles al efecto del potencial osmótico ($\psi \pi$) en el sustrato. Así: un $\psi \pi$ de -8 atmósferas inhibe la germinación de semillas de coníferas y *Criptomeria japonica* germinó sólo un 10% en sacarosa 0,5 molar (-11,35 atm.), en tanto que *Chamaecyparis obtusa* germinó bien con 0,4M y apenas un 25% con solución de 0,5 M.

Cantidades excesivas de fertilizantes pueden reducir la germinación más que el crecimiento de las plántulas después de la germinación.

El grado de sumersión para la germinación varía mucho. Algunas semillas germinan bien totalmente sumergidas y otras deben estarlo apenas superficialmente. El remojo por poco tiempo estimula la germinación en algunas semillas y la reduce cuando es muy prolongado en otras, llegando a producir la pérdida de la viabilidad. Remojando semillas forestales durante 3-5 días Tumey y Durland en 1923 encontraron que no hubo problema, pero 10 días de remojo, redujo la germinación y 30 días redujo a cero la viabilidad.

3.2 TEMPERATURA.

En 1860 Sachs botánico alemán, publicó un extenso trabajo de investigación sobre el efecto de la temperatura en la germinación de las semillas. En él habló de las "temperaturas cardinales" o críticas, para caracterizar requerimientos térmicos. Las definió así:

- Máxima es la máxima temperatura a la cual las semillas germinan.
- Mínima, es la menor temperatura a la cual las semillas germinan y
- Óptima como la temperatura a la cual se da la máxima germinación, en el menor tiempo.

Estas temperaturas no caracterizan rigurosamente el tiempo de germinación, porque este es variable. Sus valores dependen del tiempo de incubación y mientras mayor es este, mayor es el desplazamiento de la óptima hacia valores más bajos. Por ejemplo: para *Pinus rigida* la temperatura óptima es de 47°C y la escala de germinación es de 38-55°C con un día de incubación. Con el correr del tiempo la óptima desciende a 23°C y la escala se amplía a 17-57°C.

Es más frecuente que una semilla esté sujeta a temperaturas fluctuantes más bien que fijas. La variación puede ser diarias o estacional.

Muchos tipos de semillas sólo germinan si son sometidas a ciclos de 24 horas e independientemente de los valores extremos que caracterizan la fluc-

tuación. ¿Por qué?. Una de las hipótesis más aceptada es la de que en los seres vivos existen ritmos metabólicos cuya periodicidad es de 24 horas. Con la imposición de una variación térmica de duración definida uno o varios de esos ritmos metabólicos se sincronizará con la temperatura periódica y desencadenará la germinación.

Las especies que responden a la variación estacional de la temperatura, requieren temperaturas bajas para germinar (rosáceas: fresno, abedul).

La germinación ocurre normalmente en un rango amplio de temperaturas, pero es mejor a temperatura alta. En la naturaleza las semillas están usualmente sometidas a fluctuaciones diarias de temperatura del día a la noche y muchas germinan mejor cuando la temperatura nocturna es más baja que la diurna.

Diferentes semillas germinan a diferentes rangos de temperatura, pero a temperaturas muy altas o muy bajas no hay germinación.

La sensibilidad a diferentes temperaturas varía con el tipo de semilla. Por ejemplo, muchas semillas secas resisten altas temperaturas. Semillas de rábano resisten temperaturas hasta de 90°C. Por encima de 90 la resistencia baja mucho. El tipo de material de reserva tiene mucho que ver en esto.

Algunas semillas germinan bien con temperaturas alternas. El rango más favorable es de $\pm 10^\circ\text{C}$. ¿Por qué?. Hay varias razones para ello:

- Tiene efecto sobre algunas reacciones en cadena
- Se dan cambios mecánicos en la semilla.
- Se dan cambios en alguna macromolécula.

3.3 GASES.

La germinación está relacionada con células vivas y requiere gasto de energía para que esas células puedan efectuar sus diversas funciones fisiológicas. La respiración es un proceso de oxidación en presencia de oxígeno. La mayoría de las semillas germinan al aire con 20% de O_2 y 0,03% de CO_2 . Algunas responden a incrementos de oxígeno por encima de 20%. A este nivel un incremento de la concentración de CO_2 no afecta la germinación, pero un descenso del O_2 considerablemente por debajo del normal hace bajar el % de germinación.

Como se ve, los gases tienen mucha influencia en la germinación. En las mesófitas y Xerófitas es favorecida por el O_2 para la respiración y el metabolismo. En las acuáticas ocurre la germinación sin O_2 (*Tipha latifolia*) y en el arroz se da con presiones parciales de oxígeno muy bajas. En ciertos casos está interrelacionada con la luz. En algunos casos el nivel de O_2 no influye en absoluto.

El CO_2 , en concentraciones muy altas, es estimulante de la germinación (alrededor de un 40% en lechuga incubada a 35°C). Algunas leguminosas (*Medicago*, *Trifolium* y *Trigonella*) germinan en atmósferas con 0,5 a 5,0 % de CO_2 . En *Trifolium subterraneum* la proporción de O_2/CO_2 es determinante de la germinación. No uno sólo de los gases.

La exigencia de O_2 varía mucho de una especie a otra. Por ejemplo el arroz germina bajo el agua. El trigo y muchos otros cereales no germinan cuando se sumerge la semilla. Semillas de especies que crecen en el sur de U.S.A. como son algunos cipreses no germinan a menos que se las exponga al aire. Por ello las plántulas crecen bien en esos suelos sólo durante veranos prolongados.

3.4 LUZ.

En general tiene muy poco efecto en la germinación, porque la mayoría de las semillas germinan con o sin luz.

La luz diurna tiene efectos similares a los que tiene el fotoperiodismo en la floración. De acuerdo con su respuesta a la iluminación las semillas se han clasificado así:

- Germinan sólo en la oscuridad.
- Germinan sólo en la luz continua (fotoblásticas)
- Germinan con una breve iluminación.
- Indiferentes, o sea que germinan en presencia o ausencia de luz.

Kinsel (1926) hizo una lista de cientos de plantas de acuerdo con su reacción frente a la luz. Las categorías que estableció fueron: germinación favorecida, no favorecida e indiferente a la luz.

Si hay efecto de la luz, este es la resultante de tres variables, a saber: intensidad, composición espectral y duración de la exposición. El fotoblastismo es relativo, particularmente cuando la semilla se incuba y más en las primeras treinta horas de incubación. De 30-48 horas los resultados en su mayoría son negativos y después de cinco días se pierde el fotoblastismo (*Phleum pratense*).

¿Cuál es el tejido receptor del estímulo? En la lechuga parece ser el endospermo, pero la semilla debe estar embebida.

La fotodependencia es el resultado de un estres (impedimento al crecimiento del embrión), ya sea de tipo físico, químico (presencia de cumarina) o hídrico u osmótico ($\psi \text{H}_2\text{O}$ de -4 a -7 atmósferas). La fotorespuesta está muy ligada al sistema FITOCROMO y el mecanismo de operación fue descrito por Borthwick en 1952 en un trabajo clásico con lechuga.

Hoy se sabe que la sensibilidad a la luz aumenta con el tiempo de imbibición, y la máxima se al-

canza antes de la máxima imbibición. Este es un tema muy discutido. Los trabajos de Hendricks en 1959, han permitido saber que esos efectos son más complicados de lo que aparecen a simple vista, con distintas plantas. La iluminación continua (excitación continua del pigmento citocromo) induce cambios en este que inhiben la germinación.

Muchas teorías se han expuesto para explicar el efecto de la luz en la germinación. Todas ellas se basan en:

- la existencia de un pigmento que absorbe luz
- que una reacción fotoquímica es el primer paso.

No está clara la forma como reacciona la molécula del pigmento después de absorber la luz. Se han dado una serie de explicaciones al respecto y una de ellas es la siguiente: después de la absorción de la luz la molécula del pigmento es elevada a un estado excitado, posiblemente de triplete. Esta molécula excitada reacciona después en alguna manera con otras moléculas, e inicia una serie de reacciones que conducen a la germinación. No está claro si esta es una reacción por colisión directa, o por formación de un ion, o por transferencia de carga sobre grandes distancias hasta de 100 amstrongs.

Algunas semillas responden a la duración del período de oscuridad. Las hay de día corto y de día largo (abedul: *Betula pubescens*). Esta respuesta es termo dependiente.

La duración del estímulo luminoso varía con las especies, así: *Plantago* una hora, *Epilobium* 24 horas y *Pulownia* 48 horas. Esto con iluminación continua o discontinua.

El P 730 es necesario para la respuesta fotoperiódica en la semilla, tanto de día corto como de día largo. Las consecuencias de la fotoestimulación son:

- Activación del metabolismo de los lípidos
- Control respiratorio

- Activación de la síntesis de enzimas
- Síntesis de giberelinas (es el efecto más conocido y experimentado).
- Cambios en la permeabilidad de las membranas.

El Acido Giberélico sustituye la luz en algunas semillas (lechuga tratada con cumarina). En algunas semillas son necesarios el AG3 y el P 730 para obtener una respuesta. La cinetina sustituye la luz en lechuga, parcialmente, porque sensibiliza la semilla a la luz roja, pero hay dependencia de la temperatura.

En las especies *Nemophila* y *Phacelia* la respuesta a la luz es negativa con la aplicación de luz blanca por períodos prolongados. Esto se debe a los componentes azul y rojo lejano de ésta, siendo la última la más inhibitoria.

4. FACTORES INTERNOS

Entre otros pueden citarse los siguientes:

- Madurez de la semilla
- Grado de deterioro de la semilla
- Período de reposo (semillas de 2/3 de las especies forestales tienen algún tipo de reposo y no germinan aún en las condiciones externas más favorables).
- Efectos de las fitohormonas
- Grado de deterioro y
- Daño mecánico

5. PRUEBAS DE GERMINACION.

De acuerdo con la ISTA, los ensayos de germinación realizados en las condiciones de cultivo no son generalmente satisfactorios, ya que sus resultados no se pueden reproducir fielmente. Por ello se han desarrollado métodos de laboratorio controlando algunas o todas las condiciones externas, con el fin de obtener germinación más regular, más rápida y más completa posible, para la mayoría de las muestras de una especie determinada de semilla.

BIBLIOGRAFIA

BEWLEY, J.D. and BLACK, M. *Physiology and biochemistry of seeds*. Tomo I. Springer-Verlag. Berlin. 1983. pp. 306.

MAYER, A.M. and POLJAKOFF-MAYBER, A. *The germination of seeds*. The Macmillan Co. New York. 1963. pp. 236.

SALISBURY, F.B. and ROSS, C.W. *Plant physiology*. Second Edition. Wadsworth Publishing Co. Belmont, California. U.S.A. 1986.

INSTITUTO NACIONAL DE SEMILLAS Y PLANTAS DE VIVERO. *Reglas internacionales para ensayos de semillas*. Ministerio de Agricultura, Madrid-España. 1977, pp. 184.