

Efecto de la temperatura, salinidad y déficit hídrico en la germinación y desprendimiento de etileno en semillas de *Medicago sativa* y *Trifolium brachycalycinum*

APARICIO-TEJO, P., SÁNCHEZ-DÍAZ, M., PEÑA, J. y BECANA, M.

Dpto. Fisiología Vegetal. Universidad de Navarra,
Apartado 273, 31080 Pamplona.

RESUMEN

Se ha investigado el efecto de la temperatura, NaCl (-0,5 MPa) y polietilenglicol (PEG-6000) (-0,5 MPa) en la germinación, absorción de agua y desprendimiento de etileno en semillas de Medicago sativa.

Independientemente de la temperatura, tanto el porcentaje de germinación como la tasa de absorción de agua disminuyen con los tratamientos de PEG y NaCl, siendo más acusado el efecto producido por el PEG. T. brachycalycinum muestra una cierta adaptación a temperaturas relativamente bajas ya que es la única especie que a 5° C presenta en los controles emergencia radicular. A temperaturas elevadas (35° C), en cambio, sólo se presentó emergencia radicular en las alfalfas. Este tipo de comportamiento estaría ligado al carácter aridopasivo y aridoactivo, respectivamente, de Trifolium brachycalycinum y Medicago sativa.

Las alfalfas muestran para todos los tratamientos una mayor absorción de agua que T. brachycalycinum, debido probablemente a la presencia de galactomananos en el endospermo de Medicago. La máxima producción de etileno coincide con los porcentajes más altos de emergencia radicular, indicando que se encuentra estrechamente ligado a la rotura de las cubiertas como consecuencia de la emergencia radicular.

INTRODUCCIÓN

El control de la germinación es ejercido a través de factores físicos del ambiente, tales como luz, temperatura y disponibilidad de agua. Asimismo, es conocido que los valores de estos parámetros que controlan la germinación varían de una especie a otra (LANG, 1965; STOKES, 1965). Por tanto, es razonable suponer que las respuestas de la germinación a las variaciones de dichos parámetros son adaptativas, y que el éxito o fracaso en una población de una especie en un hábitat particular dependerá del modo de respuesta de su germinación a dicho ambiente.

Las características típicas del clima mediterráneo son la sequía estival y la presencia de lluvias en invierno; por ello, las plantas de este ambiente han desarrollado dos estrategias diferentes en su adaptación al medio. Las anuales disponen de mecanismos para soportar el frío y poder germinar durante la época de lluvias, mientras que las perennes disminuyen su crecimiento durante el invierno y germinan a temperaturas más altas siempre que haya suficiente agua disponible. La temperatura juega un papel importante en el control de la germinación, si bien diversos autores han señalado que su efecto podría interactuar fuertemente con otros factores tales como el déficit hídrico o la salinidad (KOLLER, 1972; KAUFFMANN y ECKARD, 1977).

En consecuencia, en el presente trabajo se pretende investigar el efecto de la temperatura y su interacción con la salinidad y el déficit hídrico sobre la germinación, absorción de agua y desprendimiento de etileno en especies y cultivares adaptadas a mayor disponibilidad de agua, tales como *Medicago sativa* «Aragón» y otras de régimen más árido como *M. sativa* «Tierra de Campos» y *Trifolium brachycalycinum*, con el fin de conocer mejor sus estrategias y mecanismos adaptativos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron semillas de *Medicago sativa* (cvs. «Aragón» y «Tierra de Campos») y *Trifolium brachycalycinum* KATZN et MORLEY (= *T. subterraneum* L. cv. «Clare») previamente seleccionadas. Se escogieron las semillas de *Medicago sativa* con pigmentación más clara, amarillo verdosas, desechando las de cubiertas oscuras, y las de mayor tamaño de *T. brachycalycinum*.

Condiciones de germinación y tratamientos

Las semillas fueron esterilizadas por inmersión durante 10 min. en una solución conteniendo hipoclorito cálcico al 5 % (p/v) en tampón K-fosfato 0,5 M, pH 6,0 y Tritón X-100 al 1 % (v/v), lavándolas posteriormente con abundante agua destilada. A continuación, se colocaron en placas Petri esterilizadas (50 por placa) de 10 cm. de diámetro sobre 2 discos de papel de filtro, a fin de mantener la humedad interna a saturación durante el experimento.

Los tratamientos se iniciaron mediante la adición de 10 ml. de una solución estéril de Polietilenglicol (PEG 6000 USP, 19 g.l⁻¹) Hoechst Ibérica, S. A.) o de NaCl (0,11 m.). Los controles se obtuvieron por la adición de 10 ml. de agua destilada estéril. El potencial hídrico de las soluciones de PEG y NaCl se determinó en una cámara Wescor C-52 mediante un psicrómetro de termopares (Microvoltímetro HR-33T Wescor), siendo en ambas de $-0,5$ MPa.

Las semillas se incubaron en una cámara de ambiente controlado Conviron (EF/7H) a temperaturas de 5, 15, 25 y 35° C.

El experimento tuvo una duración de 6 días, de los cuales 3 se dedicaban a la imposición del tratamiento y los otros 3 a la recuperación. En ésta, las soluciones de PEG y NaCl se sustituyeron por agua destilada estéril. Los intervalos de medida de cada uno de los parámetros analizados fueron de 24 h. El experimento se repitió tres veces obteniéndose resultados similares, y los tratamientos se realizaron siempre por duplicado.

Porcentaje de germinación

Según el criterio de EVENARI (1956), se consideró que una semilla había germinado cuando presentaba emergencia radicular (penetración de la radícula a través de los tegumentos).

Desprendimiento de etileno

Las semillas se colocaron en recipientes herméticos de 140 ml. (2 g. de semillas/recipiente). El etileno desprendido se cuantificó diariamente por cromatografía de gases con un cromatógrafo Carlo Erba con detector de ionización de llama de hidrógeno. Las condiciones de trabajo fueron descritas previamente (APARICIO-TEJO y cols., 1980).

Debido a que la anaerobiosis incrementa la producción de etileno (ADAMS y YANG, 1979) e inhibe la germinación (POPAY y ROBERTS,

1970), se comprobó en cada determinación que el nivel de oxígeno en el interior de los recipientes no bajaba del 10 %. La determinación de oxígeno se realizó mediante cromatografía de gases, utilizando un cromatógrafo de gases Cromatix KNK-2000 con detector de conductividad térmica, provisto de una columna de Carbosieve B de 60-80 mallas, y utilizando N₂ como gas portador.

Después de cada medida, los recipientes se abrían y se renovaba completamente la atmósfera interior, de modo que la siguiente medida de etileno correspondiese únicamente a un nuevo período de 24 horas.

Presentación de datos

Debido al gran número de tratamientos y a la necesidad de simplificar con fines de representación gráfica los datos obtenidos durante los períodos de tratamiento y recuperación, se ha utilizado como valor indicativo de la variación de cada parámetro (porcentaje de germinación, absorción de agua y producción de etileno) en función del tiempo, la media de los valores correspondientes a los tres días de tratamiento y a los tres de recuperación. De acuerdo con varios autores (LYON y COFFELT, 1966; NEGM y SMITH, 1978), este parámetro es proporcional al área desarrollada bajo la correspondiente curva en los períodos de tratamiento y recuperación.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental corresponde a un análisis de la varianza trifactorial, siendo los factores las especies y/o cultivares (*M. sativa*, «Aragón», «Tierra de Campos» y *T. brachycalcycinum*), las soluciones (PEG y NaCl) y temperaturas (5, 15, 25 y 35° C). Para cada combinación de factores se obtuvieron 18 datos (3 días de tratamiento o recuperación x 3 series x 2 repeticiones). Se calculó la media $\pm$ SE ($n=18$) y se ensayó la significación de la diferencia entre las medias a un nivel del 5 % de probabilidad con el test «a posteriori» SS-STP de Gabriel (SOKAL y RHOLF, 1969).

Los valores medios correspondientes al porcentaje de germinación (p) se transformaron previamente al análisis estadístico para normalizarlos según la ecuación $p' = \text{arc. sen } \sqrt{p}$ (SOKAL y RHOLF, 1969).

RESULTADOS

Porcentaje de emergencia radicular

El comportamiento de las especies y cultivares empleados manifiesta una gran diversidad. A 5° C la única especie que presentó emergencia radicular, tanto para el control como para los tratamientos fue *T. brachycalycinum* (5 %) (Fig. 1). En la recuperación, esta misma especie alcanzó los mayores porcentajes de germinación (66 %) para los controles, no siendo significativas ($P > 0,05$) las diferencias entre los tratamientos. Los dos cultivares de *M. sativa* en condiciones control mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$): «Aragón» alcanzó un índice de germinación del 40 %, mientras que en «Tierra de Camps» sólo fue de un 11 % (Fig. 1).

A 15 y 25° C, los porcentajes de germinación para los controles de las tres especies y cultivares fueron bastante similares (Fig. 1). El PEG inhibió la germinación de manera más significativa que el NaCl, siendo de destacar en las tres especies y cultivares que el efecto del NaCl fue mucho más marcado a 25° C. En la recuperación, se obtuvieron valores de germinación muy similares a los controles (Fig. 1).

A 35° C los cultivares de *M. sativa* exhibieron una capacidad germinativa (> 10 %) muy superior a la de *T. brachycalycinum* (1 %) (Fig. 1). A esta temperatura, la presencia de NaCl o de PEG suprimió completamente la germinación. Resultados similares se obtuvieron en la recuperación, ya que si bien en condiciones control los cultivares de *M. sativa* alcanzaban valores próximos al 50 % de germinación, en *T. brachycalycinum* eran únicamente de un 6 % (Fig. 1); no se encontraron diferencias con los tratamientos de PEG y NaCl (7 y 9 %, respectivamente). En la recuperación tras los tratamientos de PEG y NaCl, sólo se obtuvieron valores entre el 5 y 10 % de germinación para los cultivares de *M. sativa* (Fig. 1).

Absorción de agua

En las especies y cultivares estudiados, a 5° C no se encontraron diferencias significativas en los valores de absorción de agua entre el control y el tratamiento con NaCl (Fig. 2); por el contrario, el tratamiento con PEG originó en todos los casos una disminución bastante acusada.

En todas las especies y tratamientos, los valores más elevados de absorción de agua se alcanzaron a 25 y 15° C, siendo nuevamente el

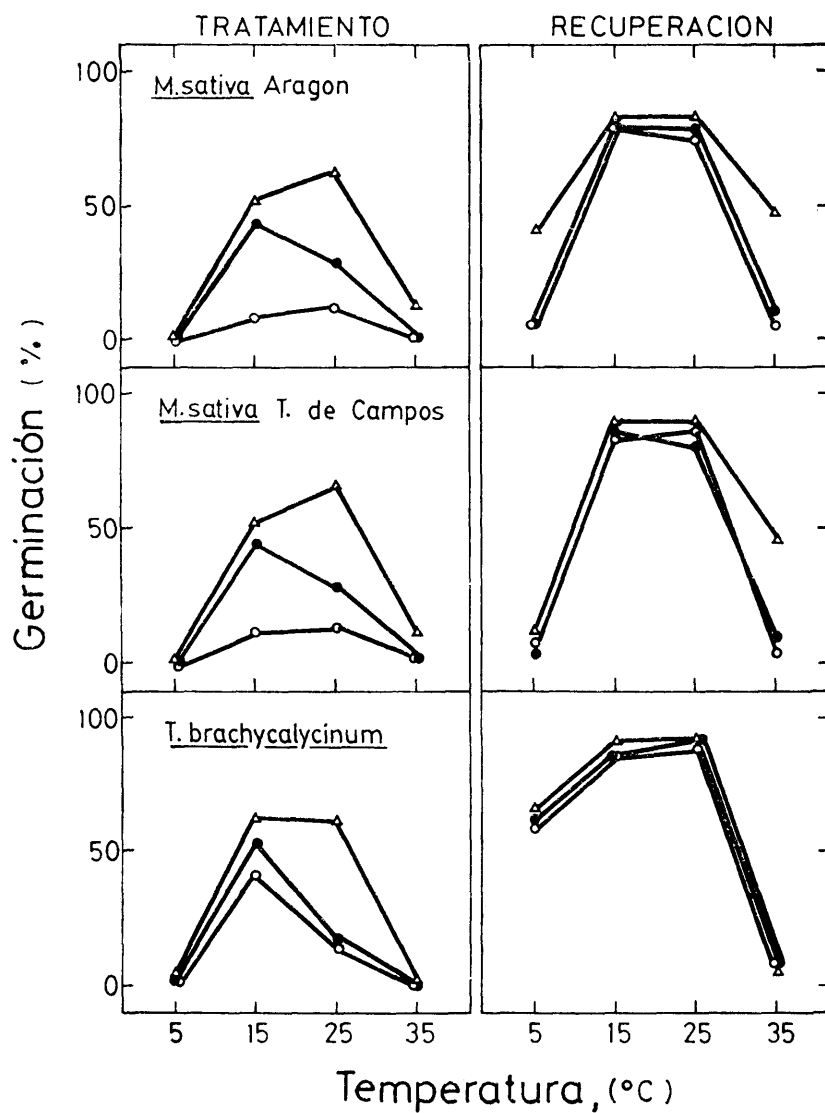


Fig. 1.—Porcentaje de germinación bajo condiciones control (Δ — Δ), NaCl 0,5 MPa ($\bullet$ — $\bullet$) y PEG-6000 0,5 MPa ($\bullet$ — $\bullet$) durante el tratamiento y la recuperación.

tratamiento con PEG el que presentó valores de absorción de agua significativamente inferiores a los del resto. *T. brachycalycinum* mostró también los valores inferiores de absorción para ambas temperaturas. Durante la recuperación, se mantuvo el mismo comportamiento, aproximándose más los valores de absorción del tratamiento con PEG a los del tratamiento con NaCl y los controles; no obstante, las diferencias fueron significativamente mayores que para la temperatura de 5° C (Fig. 2).

A 35° C se observaron diferencias similares a las obtenidas a 5° C. Los valores de absorción de agua a 35° C fueron muy bajos tanto durante el tratamiento como en la recuperación, siendo sólo ligeramente superiores a los obtenidos a 5° C.

Desprendimiento de etileno

En la Fig. 3 se representan los valores de etileno producidos por las especies y cultivares estudiados, y para las temperaturas y tratamientos aplicados; se indican, asimismo, los períodos de tratamiento y recuperación. A 5° C, y durante el período de tratamiento, no pudo detectarse etileno. En la recuperación se pudo cuantificar etileno, aunque a concentraciones muy bajas: 0,4 y 0,2 nmol etileno. gPS⁻¹ . día⁻¹ en «Aragón» y «Tierra de Campos» respectivamente, en los controles, y 0,1 nmol etileno. gPS⁻¹ . día⁻¹ para ambos cultivares durante los tratamientos.

Los máximos valores de desprendimiento de etileno se obtuvieron, tanto para los controles como para los tratamientos, a 25° C en todas las especies y cultivares, destacando los de *T. brachycalycinum* por su elevada magnitud (4 nmol etileno. gPS⁻¹ . día⁻¹) frente a los de «Aragón» y «Tierra de Campos» (3,2 y 2,5 nmol., gPS⁻¹ . día⁻¹ respectivamente). Tanto el PEG como el NaCl inhibieron marcadamente el desprendimiento de etileno, aunque este efecto fue mayor en el caso del PEG.

Los resultados a 35° C fueron, junto con los de 5° C, los de valores más bajos. Con el tratamiento no se observó prácticamente respuesta en ninguna especie, siendo notable el desprendimiento alcanzado para el control a 35° C en *T. brachycalycinum* (2,2 nmol etileno. gPS⁻¹ . día⁻¹). Durante la recuperación, los controles de *Medicago* presentaron idénticos valores a los de días anteriores; Tierra de Campos fue el único que presentó desprendimiento de etileno a 35° C en las semillas tratadas previamente con PEG (1,7 nmol etileno. gPS⁻¹ . día⁻¹). El control de *T. brachycalycinum* mantuvo un desprendimiento tres veces inferior al del período inicial, mientras que los trata-

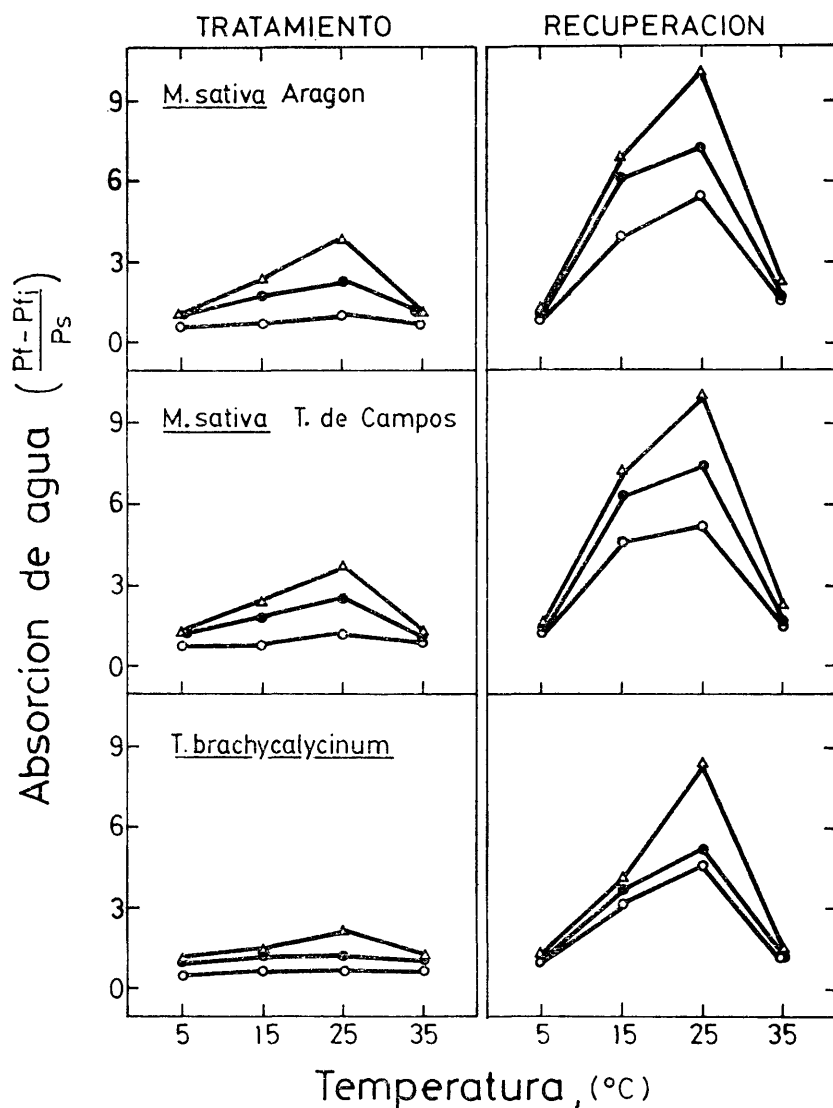


Fig. 2.—Absorción de agua bajo condiciones control (Δ — Δ), NaCl 0,5 MPa ($\bullet$ — $\bullet$) y PEG-6000 0,5 MPa ($\bullet$ — $\bullet$), durante el tratamiento y la recuperación (Pf es el peso fresco de las semillas germinadas, Pfi el peso fresco de las semillas antes de la germinación y Ps el peso seco de las semillas desecadas a 80°C durante 48 h).

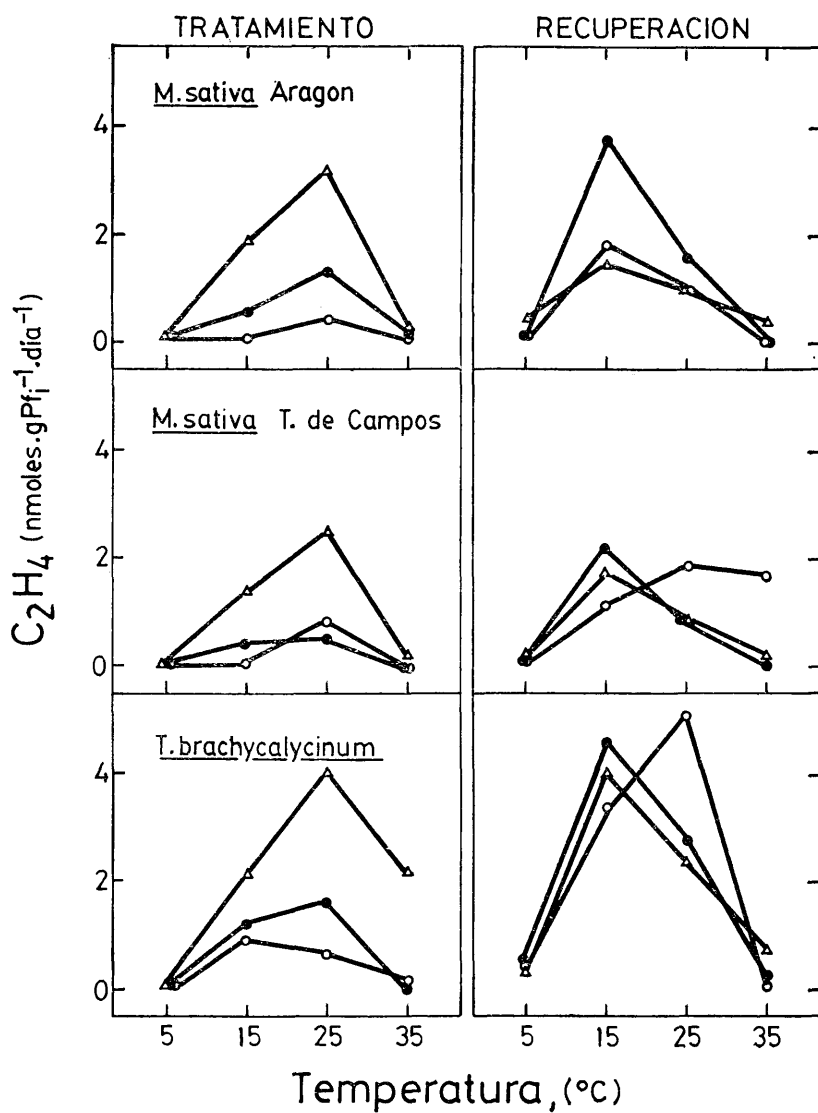


Fig. 3.—Desprendimiento de etileno bajo condiciones control (Δ — Δ), NaCl, 0.5 MPa ($\bullet$ — $\bullet$) y PEG-6000 0.5 MPa ($\circ$ — $\circ$), durante el tratamiento y la recuperación.

mientos no mostraron valores significativos de producción de etileno (Fig. 3).

DISCUSIÓN

Las semillas son capaces de desarrollar potenciales hídricos inferiores a -100 MPa y, excepto en el caso con cubiertas impermeables, se embeben rápidamente cuando son colocadas en contacto con agua. Según BLACKLOW (1973) la tasa de imbibición consta de dos componentes, uno relacionado con la permeabilidad de la semilla y otro proporcional al potencial osmótico del medio. En las figuras 1 y 2 podemos observar cómo, con independencia de la temperatura, tanto el porcentaje de germinación como la tasa de absorción de agua disminuyen con los tratamientos de $-0,5$ MPa de NaCl y PEG. Estos resultados se explican por la correlación existente entre ambos procesos (PRISCO y O'LEARY, 1970; UHVITS, 1946), ya que la absorción de agua es requisito imprescindible para la germinación (PRISCO y O'LEARY, 1970). HARPER y cols. (1966) indican que el fracaso o el retraso de las semillas vivas en la germinación, es el resultado de una hidratación insuficiente o retrasada de las mismas.

El efecto inhibitor del PEG fue mayor que el del NaCl. Como consecuencia, la entrada de NaCl producirá una disminución del potencial osmótico de las semillas; esto a su vez, contribuye a mantener un gradiente de potencial hídrico entre el medio y la semilla, incrementándose el porcentaje de germinación y la tasa de absorción de agua (PRISCO y O'LEARY, 1970).

Numerosas observaciones experimentales muestran que, durante la hidratación inicial, las semillas son especialmente sensibles a las bajas temperaturas; esta sensibilidad está determinada por el grado de humedad de la semilla. LYONS y cols. (1979), MURPHY y NOLAND (1982) y SIMON (1974) sugieren que los daños producidos por las bajas temperaturas durante esta etapa inicial de la germinación están relacionados con una alteración de las membranas, pues los fosfolípidos a bajas temperaturas son incapaces de cambiar rápidamente de configuración para recuperar las propiedades funcionales de una membrana semipermeable.

A la temperatura de 5°C , únicamente *T. brachycalycinum* mostró, en los controles, una ligera emergencia radicular (Fig. 1). Esta especie presenta, por tanto, una cierta adaptación a temperaturas relativamente bajas (MENDIZÁBAL y cols. 1973), lo que se corresponde con su origen y distribución, ya que *T. brachycalycinum*, como plan-

ta anual, germina en invierno para evitar la sequía del verano y, por tanto, debe adaptarse para resistir temperaturas bajas durante la germinación. Por otra parte, los efectos inhibitorios de las altas temperaturas son debidos a una modificación en la permeabilidad de las cubiertas al O₂, acompañada de una disminución en la solubilidad del O₂ en el medio (EVENARI y cols., 1958). Este fenómeno resulta todavía más potenciado por el PEG, ya que éste disminuye por sí mismo la solubilidad del O₂ (AGUIRREOLEA, 1985).

El efecto de las altas temperaturas (35° C) sobre el porcentaje de germinación, no fue tan acusado en las alfalfas como en *T. brachycalycinum* (Fig. 1). Este hecho ha sido atribuido por TAYLOR y ROSITER (1967) a que la germinación de *T. brachycalycinum* es baja a temperaturas superiores a su óptima (27° C), debido a la formación de un inhibidor dentro del embrión y no como causa directa de las altas temperaturas. Asimismo, debemos considerar que el rango de temperaturas a las que las semillas pueden germinar está también determinado por diferencias genéticas entre las especies: estas diferencias pueden explicar las diversas estrategias de germinación entre especies anuales y perennes. En este sentido, el comportamiento de las semillas de *Trifolium brachycalycinum* correspondería al de una especie aridopasiva, mientras que el de *Medicago sativa* sería más bien de tipo aridoactivo (FISCHER y TURNER, 1978).

La cantidad de agua absorbida por las semillas depende de los constituyentes particulares de las mismas, del tipo de semilla y de la temperatura (MAYER y POLJAKOFF-MAYBER, 1975). Las alfalfas en todos los casos presentaron una mayor absorción de agua que *T. brachycalycinum* (Fig. 2). Para GONZÁLEZ y cols. (1985) estos resultados estarían relacionados con la mayor presencia de galactomananos en el endospermo de *Medicago*, siendo estos compuestos los responsables de la imbibición durante la hidratación de las semillas. Además, los galactomananos mantienen la germinación del embrión frente a la desecación durante el período subsiguiente al estrés hídrico (REID y BEWLEY, 1979). Este hecho tendría especial relevancia en plantas desarrolladas en climas áridos, ya que la toma de agua por los galactomananos aumenta la posibilidad de embeber agua y reduce la sensibilidad de la semilla al déficit hídrico del suelo (HARPER y BENTON, 1966). «Tierra de Campos» mostró las mayores tasas de absorción para todas las temperaturas lo que pone de manifiesto una buena adaptación de este cultivar a medios con bajos potenciales osmóticos.

El bajo contenido en galactomananos de *T. brachycalycinum* indica que este tipo de compuestos, probablemente, no es importante en su germinación. No obstante, la gran cantidad de reservas alma-

cenadas por estas semillas (son de mayor tamaño que las de *Medicago*) puede contribuir a un rápido crecimiento del embrión, facilitando, por consiguiente, la emergencia radicular cuando las condiciones son favorables. Bajo condiciones de salinidad y déficit hídrico, estas reservas protegerían la semilla de la sequía y de la toxicidad de las sales, contribuyendo a la osmorregulación (estrés salino) y al ajuste osmótico (déficit hídrico).

La producción de etileno durante la germinación de la semilla fue descrita por MEHERIUK y SPENCER (1964), y depende muy directamente de factores ambientales, como la luz (KANGS y cols., 1971), temperatura (BURG y THIMAN, 1959) y potencial hídrico (GUINN, 1976).

La formación de etileno se desencadena al someter a las semillas a déficits hídricos o cualquier otro tipo de estrés durante su germinación (GOESCHL y cols., 1966). Si bien nuestros resultados están de acuerdo con esta observación, hay que señalar que el valor máximo de etileno se presenta tras la rotura de las cubiertas por la emergencia radicular (KETRING, 1977). Tanto el estrés hídrico como el estrés salino parecen bloquear la capacidad de la semilla para sintetizar etileno, particularmente a elevadas temperaturas (SCHONBECK y cols., 1980). Conviene destacar que la producción de etileno es mayor en *T. brachycalycinum* y menor en *M. sativa* «Tierra de campos». ESASHI y LEOPOLD (1969), comparando temperaturas de germinación en semillas de *T. subterraneum*, demostraron que el etileno era menos efectivo a 4° C y más a 20° C; además, encontraron un efecto inhibitorio a altas temperaturas. Finalmente, en la recuperación, los mayores valores de producción de etileno corresponden a 15° C, alcanzándose valores similares a los producidos en el período de tratamiento a 25° C. La producción de etileno a 5 y 35° C se incrementó y, en todos los casos, dicho incremento fue superior en las semillas que habían estado sometidas a estrés durante el tratamiento precedente (Fig. 3). Por tanto, las características de la producción de etileno sugieren que éste participa en fases particulares del crecimiento del hipocotilo y la radícula (GOESCHL, 1967).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Srta. M. T. Echeverría su asistencia técnica y a Dña. María Carmen Vicente y Dña. Gemma González su eficaz colaboración. Este trabajo fue financiado en parte por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, Proyecto n.º 4.410-79.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, D. O. y YANG, S. F. 1979. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76: 170-174.
- AGUIRREOLEA, J. 1985. Tesis Doctoral. Universidad de Navarra.
- APARICIO-TEJO, P. M., SÁNCHEZ-DÍAZ, M. y PEÑA, J. 1980. *Physiol. Plant.* 48: 1-4.
- BLACKLOW, W. M. 1972. *Crop Science.* 12: 643-647.
- BURG, S. P. y THIMANN, K. V. 1959. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 45: 335-339.
- ESASHI, Y. y LEOPOLD, A. C. 1969. *Plant Physiol.* 44: 1470-1472.
- EVENARI, M. 1957. *Bull. Soc. Franç. Physiol. Vég.* 3 (4), 105-124.
- EVENARI, M., NEUMANN, G. y POLJAKOFF-MAYBER, A. 1958. *Bull. Res. Council. Israel.* 6D: 108-110.
- FISHER, R. A. y TURNER, N. C. 1978. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 29: 227-317.
- GOESCHL, J. D., PAPPAPORT, L. y PRATT, H. K. 1966. *Plant Physiol.* 41: 877-884.
- GONZÁLEZ-MURÚA, C., SÁNCHEZ-DÍAZ, M., APARICIO-TEJO, P., MUÑOZ-RUEDA, A. y REID, J. S. G. 1985. *J. Plant Physiol.* 119: 317-326.
- GUINN, G. 1976. *Plant Physiol.* 57: 403-405.
- HARPER, J. L., BENTON, R. A. 1966. *Journal of Ecology.* 54: 151-166.
- KANGS, B. G., NEWCOMB, W. y BÜRG, S. P. 1971. *Plant Physiol.* 47: 504-509.
- KAUFMANN, M. R. y ECKARD, A. N. 1977. *Forest Sci.* 23: 27-33.
- KETRING, D. L. 1977. A. A. KHAN ed. *Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*, pp. 156-178. Nort Holland Publ. Co. Amsterdam.
- KOLLER, D. 1972. *Seed biology.* T. T. KOZŁOWSKI ed. vol. II, pp. 1-101. Academic Press. New York.
- LANG, A. 1985. *Encyclopedia of Plant Physiology.* (ed. Ruhland W.) vol. 15 (2). Springer Verlag, Berlin.
- LYON, J. L. y COFFELT, R. J. 1966. *Nature*, 211: 330.
- LYONS, J. M., RAISON, J. K. y STEPONKUS, P. L. 1979. J. M. LYONS, D. GRAHAM y J. K. RAISON, eds. *Low Temperature Stress in Crop Plants: The Role of the Membrane*, pp. 4-24. Academic Press, New York.
- MAYER, A. M. y POLJAKOFF-MAYBER, A. 1975. *The germination of seeds.* 2.nd ed. Pergamon Press., Oxford, New York.
- MEHERIUK, M. y SPENCER, M. 1964. *Can. J. Bot.* 42: 337-340.
- MENDIZABAL, T., PASTOR, J., MARTÍN, A. y OLIVER, S. 1973. *Pastos*, 3: 42-64.
- MURPHY, J. B. y NOLAND, T. L. 1982. *Plant Physiol.* 69: 428-431.
- NEGM, F. B. y SMITH, O. E. 1978. *Plant Physiol.* 62: 473-476.
- POPAY, A. I. y ROBERTS, E. H. 1970. *J. Ecol.* 58: 103-122.

- PRISCO, J. T. y O'LEARY, J. W. 1970. *Turrialba*, 20: 177-184.
- REID, J. S. G. y BEWLEY, J. D. 1979. *Planta*, 147: 145-150.
- SCHONBECK, M. W. y EGLEY, G. H. 1980. *Plant Physiol.* 65: 1149-1154.
- SIMON, E. W. 1974. *New Phytol.* 73: 377-420.
- SOKAL, R. R. y RHOLF, F. J. 1969. *Biometry: The principles and practice of statistics in Biological Research*. Freeman, San Francisco.
- STOKES, P. 1965. *Encyclopedia of Plant Physiology* (ed. Ruhland, W.) vol. 15 (2). Springer Verlag. Berlin.
- TAYLOR, G. B. y ROSITER, R. C. 1967. *Nature*, 216: 389-390.
- UHVITS, R. 1946. *Am. J. Bot.* 33: 278-285.

EFFECT OF TEMPERATURE, SALINITY AND WATER STRESS ON GERMINATION AND ETHYLENE EVOLUTION IN MEDICAGO SATIVA AND TRIFOLIUM BRACHYCALYCINUM

SUMMARY

The effect of temperature, NaCl (-0,5 MPa) and polyethylene glycol (PEG-6000) (-0,5 MPa) on germination, water uptake and ethylene evolution by seeds of *Medicago sativa* L. (cvs. «Aragon» and «Tierra de Campos») and *Trifolium brachycalycinum* KATZN et MORLEY has been investigated.

Irrespective of temperature, both the germination percentage and the rate of water absorption decrease with the PEG and NaCl treatments, being the effect more marked in the case of PEG *T. brachycalycinum* shows a certain adaptation to relatively low temperatures, since it is the unique species exhibiting radicle emergence at 5° C in the controls. In contrast, at high temperatures (35° C) only alfalfas presented radicle emergence. This behaviour would be linked to the aridopassive and aridoactive character, respectively, of *T. brachycalycinum* and *M. sativa*.

For all treatments, alfalfas show a greater water absorption than *T. brachycalycinum*, likely because of the higher amount of galactomannans in the endosperm of the former. The maximal ethylene production coincides with the highest percentages of radicle emergence, indicating that it is closely linked to the coat breakdown as a consequence of the radicle emergence.