

# EFECTO DE LA SEQUÍA SIMULADA CON PEG-6000 SOBRE LA GERMINACIÓN Y EL CRECIMIENTO DE LAS PLÁNTULAS DE DOS VARIEDADES DE TRIGO

L. M. González<sup>✉</sup>, L. Argentel, Nircia Zaldívar y R. Ramírez

**ABSTRACT.** The effect of simulated drought using PEG-6000 on wheat seedling germination and growth was evaluated after selecting seeds from Cuba-C-204 and INIFAT RM-36 varieties. The varieties were placed in petri dishes with three filter papers and wet with 15 mL of a PEG-6000 solution at the following osmotic pressures: 0, -0.3, -0.5, -0.75, -1.0 and -1.5 MPa. Petri dishes were randomly distributed using 100 seeds per each experimental treatment arranged in four repetitions. After seven days, germination percentage (G) was determined, whereas seedling height (AP), root length (LR) and the accumulation of fresh (MF) and dry matters (MS) were evaluated at 15 days. The linear regression equation was established for each variety among the evaluated indicators, using the control percentage and osmotic pressure levels as values that caused germination and seedling growth reduction in 50 %. From the original records, the inhibition was determined analyzing statistically the results through the single variance analysis and Duncan's test. Results showed that wheat germination and seedling growth were affected by PEG simulated drought, it increasing with the osmotic pressure of the solutions evaluated; therefore, germination percentage and dry matter accumulation were the most sensible parameters. The varieties presented a differentiated response to the stress, INIFAT RM-36 being the most tolerant variety considering germination and seedling growth as an evaluation criterion, indicating the potential use of these evaluations to select drought tolerant materials in the early stages of a genetic program with this purpose.

*Key words:* drought, simulation, germination, growth, seedlings, wheat

**RESUMEN.** Con el propósito de evaluar el efecto de la sequía simulada con PEG-6000 sobre la germinación y el crecimiento de las plántulas de trigo, se seleccionaron semillas de las variedades Cuba-C-204 e INIFAT RM-36, las cuales se colocaron a germinar en placas petri con tres capas de papel de filtro y se humedecieron con 15 mL de una solución de PEG-6000 a presiones osmóticas de 0, -0.3, -0.5, -0.75, -1.0 y -1.5 MPa. Las placas se distribuyeron en un arreglo al azar y por cada variante experimental se utilizaron 100 semillas repartidas en cuatro réplicas. A los siete días se determinó el porcentaje de germinación (G) y a los 15 días se evaluaron la altura de las plántulas (AP), longitud de la raíz (LR) y acumulación de biomasa fresca (MF) y seca (MS) de las plántulas. Se estableció para cada variedad la ecuación de regresión lineal entre los indicadores evaluados, expresados como porcentaje del control y los niveles de presión osmótica, a partir de los cuales disminuyen la germinación y el crecimiento en un 50 %. Con los datos originales obtenidos se calculó la inhibición y se evaluaron estadísticamente por análisis de varianza simple y rangos múltiples de Duncan. Los resultados indicaron que la sequía simulada con PEG afectó la germinación y el crecimiento de las plántulas de trigo y de forma más marcada con el incremento de la presión osmótica de las soluciones, siendo el porcentaje de germinación y la acumulación de masa seca los indicadores más sensibles. Se observó una respuesta diferenciada de las variedades frente al estrés, destacándose la variedad INIFAT RM-36, como la más tolerante sobre la base de la germinación y el crecimiento de las plántulas, indicando además la utilidad potencial que pueden tener ellos para la selección de materiales tolerantes a la sequía en las etapas tempranas de los programas de mejora genética dirigidos en este sentido.

*Palabras clave:* sequía, simulación, germinación, crecimiento, plántulas, trigo

## INTRODUCCIÓN

En la agricultura de temporal, el principal problema ecológico lo constituyen las variaciones en la cantidad y

distribución de las lluvias, lo que da lugar a períodos de sequía que afectan la producción de los cultivos y su sostenibilidad. En Cuba, tal situación se presenta en cerca del 76 % de las áreas de cultivo y las provincias orientales cuentan con un elevado índice de tierras afectadas (1).

Ante dicha situación, se están evaluando diferentes especies y cultivares de planta, con el propósito de seleccionar las de mejor comportamiento frente al estrés y establecer atributos agronómicos y fisiológicos que contribuyan a la tolerancia a la sequía en las plantas cultivadas (2).

Dr.C. L. M. González, Investigador Titular del Laboratorio de Técnicas Nucleares; Nircia Zaldívar, Investigador Agregado y Ms.C. R. Ramírez, Investigador Auxiliar del Centro de Investigaciones, Servicios y Tecnologías Ambientales, Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov", Gaveta Postal 2140; L. Argentel, Profesor Instructor de Matemática, Universidad de Granma, carretera Bayamo a Manzanillo, km 16, Peralejo, Bayamo 85100, Granma, Cuba.

✉ lmgonzalez@dimitrov.granma.inf.cu

La mayoría de los estudios sobre la tolerancia a la sequía en trigo se han concentrado en las fases de desarrollo tardío y en los períodos reproductivos, enfatizando las consecuencias del estrés sobre el rendimiento. Sin embargo, la tolerancia debe incluir la habilidad de las semillas de germinar en condiciones limitadas de disponibilidad de agua, dado que el establecimiento exitoso y vigoroso de las plántulas contribuye indirectamente a mantener altos rendimientos (3).

A pesar de que 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 la rehidratación, los mecanismos de reparación (membranas, proteínas y ADN), la elongación celular y aparición de la radícula (4), los potenciales hídricos bastante negativos que se presentan en los suelos en períodos de sequía impiden la absorción de agua, afectando la secuencias de eventos involucrados en el proceso de germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas (5).

Es objetivo del presente trabajo evaluar el efecto del estrés de sequía simulado en condiciones de laboratorio, sobre la germinación y el crecimiento de las plántulas en dos variedades de trigo, con el propósito de establecer posibles diferencias entre ellas y recomendar esos indicadores para la evaluación masiva de genotipos en etapas tempranas de los programas de mejora encaminados en esta dirección.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron semillas de las variedades Cuba-C-204 e INIFAT RM-36, las cuales se colocaron a germinar en placas petri con tres capas de papel de filtro y se humedecieron con 15 mL de una solución de PEG-6000 (*Polyethylen glycol*, P.M. 6000) para simular el estrés de sequía, según el método de Michel y Kauffman (6) a presiones osmóticas de -0.3, -0.5, -0.75, -1.0 y -1.5 MPa. Como control se usó agua destilada con un valor despreciable de presión osmótica. Las placas se distribuyeron en un arreglo al azar y por cada variante experimental se utilizaron 100 semillas repartidas en cinco repeticiones.

A los siete días se evaluó el porcentaje de germinación (G) y a los 15 días la altura de las plántulas (AP), longitud de la raíz (LR) y acumulación de biomasa fresca (MF) y seca (MS) en cinco plántulas por repetición.

Se estableció para cada variedad la ecuación de regresión lineal entre los indicadores evaluados, expresados como porcentaje del control y los niveles de presión osmótica, a partir de los cuales disminuyen la germinación y el crecimiento en un 50 %.

Con los datos originales obtenidos se calculó la inhibición (%), de acuerdo con la fórmula descrita por González (7) y se evaluaron estadísticamente por análisis de varianza simple y rangos múltiples de Duncan. El experimento se repitió dos veces en el tiempo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de los coeficientes de correlación entre los indicadores evaluados y los niveles de presión osmótica fueron altos, negativos y significativos (Tabla I), lo que señala que a medida que aumenta el estrés de sequía, se afectan la germinación y el crecimiento de las plántulas; nótese a partir de los coeficientes de determinación, que la variación observada en estos indicadores es explicada en más de un 86 % por efecto del estrés.

**Tabla I. Ecuación de regresión, coeficiente de correlación y determinación y niveles de polyetilen glycol que disminuyen la germinación y el crecimiento de las plántulas en un 50 %**

Indicadores	Ecuación de regresión	R	R <sup>2</sup> (%)	PO 50 % (Bars) (Mpa)
Cuba-C-204				
G	Y= 117.16-6.96 X	-0.93***	86.49	-9.64 -0.96
AP	Y= 108.75-5.19 X	-0.95***	90.25	-11.31 -1.13
LR	Y= 107.89-5.71 X	-0.96***	92.16	-10.13 -1.01
MF	Y= 109.28-5.84 X	-0.96***	92.16	-10.15 -1.01
MS	Y= 108.60-6.16 X	-0.98**	96.04	-9.51 -0.95
INIFAT RM-36				
G	Y= 116.24-6.25 X	-0.93***	86.49	-10.59 -1.05
AP	Y= 106.43-3.66 X	-0.96***	92.16	-15.41 -1.54
LR	Y= 105.59-3.44 X	-0.94***	88.36	-16.15 -1.61
MF	Y= 108.09-3.61 X	-0.93***	86.49	-16.09 -1.61
MS	Y= 106.97-4.48 X	-0.96***	92.16	-12.71 -1.27

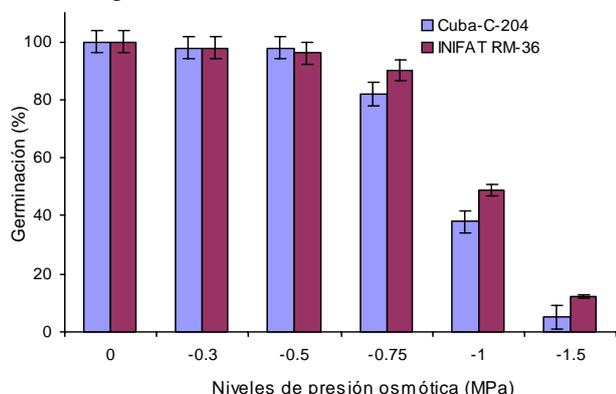
A partir de las ecuaciones de regresión se determinaron los valores de presión osmótica, que disminuyen la germinación y el crecimiento en un 50 %, destacándose una mayor sensibilidad del porcentaje de germinación y de la acumulación de materia seca en las plántulas al estrés de sequía (8).

En general, los niveles de PEG-6000 que disminuyen los indicadores al 50 % son mayores en la variedad INIFAT RM-36 que en la Cuba-C-2004, lo que indica que posee un mayor grado de tolerancia a la sequía. Por otra parte, estos niveles están en correspondencia con lo señalado para el cultivo, considerado moderadamente tolerante al estrés (3). En relación con este comportamiento, 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 hídricos (9).

Otra hipótesis más plausible es el rol que puede cumplir una familia de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (HRGP), que se depositan en la pared celular de diferentes órganos y tejidos en condiciones de estrés; estas son proteínas en las que la porción polipeptídica va unida a cadenas cortas de carbohidratos, los cuales son muy importantes para mantener la estructura lineal de las HRGP y permitir mantener unida la matriz de la pared celular. Durante la germinación de semillas en condiciones de déficit hídrico, se ha observado un aumento de la expresión de genes que codifican para la síntesis de las HRGP, las que serían reguladas en formas específicas por cada teji-

do (10, 11, 12). Estos han determinado además que las semillas que no expresan HRGP son incapaces de hidratarse adecuadamente y germinar en condiciones de sequía.

El porcentaje de germinación disminuyó con el incremento de la presión osmótica de las soluciones de PEG-6000 en las dos variedades estudiadas, siendo estadísticamente significativas a partir de los  $-0.75$  MPa (Figura 1). Esta disminución en la germinación pudiera ser atribuida a que las altas concentraciones de PEG-6000 impiden la absorción de agua por las semillas, debido al alto potencial osmótico que se crea en la solución y a que reduce la disponibilidad de oxígeno, al limitar su solubilidad y difusión, dada su alta viscosidad (5). Tal comportamiento coincide con lo observado en trigo (3, 8, 13, 14) y otros cultivos (4, 15), lo cual señala que los potenciales hídricos bastante negativos impiden la absorción de agua, provocando afectaciones en las secuencias de eventos involucrados en el proceso de germinación.

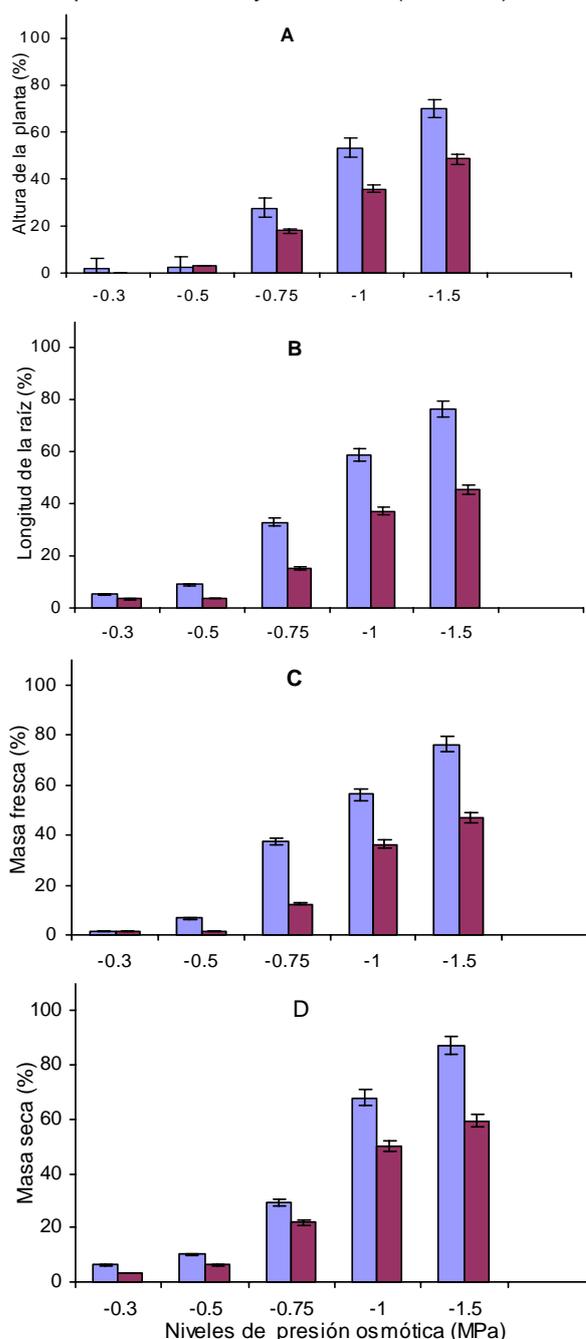


**Figura 1. Influencia de diferentes niveles de presión osmótica sobre la germinación de las semillas en dos variedades de trigo**

En relación con el crecimiento, se detectaron inhibiciones significativas en la altura, longitud de la raíz y acumulación de biomasa fresca y seca de las plántulas a partir de los  $-0.75$  MPa en ambas variedades (Figura 2), pero los daños siempre fueron inferiores en la variedad INIFAT RM-36. Tales afectaciones en el crecimiento coinciden con lo observado en este cultivo (8, 13), donde se señala que el efecto detrimental del PEG-6000 pudiera ser explicado por el déficit hídrico que produce en los tejidos foliares en crecimiento, al disminuir el turgor de las células y a cambios en la permeabilidad de las membranas.

Las diferencias entre variedades observadas en la germinación y el crecimiento de las plántulas, indican la utilidad potencial que pueden tener estos en la selección de materiales tolerantes a la sequía. Al respecto, algunos han indicado que la varianza aditiva para el porcentaje de germinación, la altura y longitud de la raíz de las plántulas cultivadas en soluciones de PEG-6000 fue mucho mayor que la varianza dominante, indicando la eficiencia de su uso en las generaciones segregantes (8). Este aspecto es de gran importancia, pues los éxitos de la evaluación de la tolerancia a la sequía en campo son bajos, laboriosos y

proveen resultados muy variables (16), por lo que los métodos de laboratorio constituyen una opción válida para discriminar genotipos en etapas tempranas de los programas de mejora. En tal sentido, se ha indicado que uno de los métodos más difundidos para determinar la tolerancia de las plantas al estrés hídrico es la observación de la capacidad germinativa de las semillas en esas condiciones (5). Por otra parte, se ha señalado que para ser simuladas las condiciones de sequía en condiciones de laboratorio y estudiar los procesos de germinación y crecimiento de las plántulas, se han usado soluciones acuosas de manitol y PEG, por ser compuestos inertes y no tóxicos (5, 13, 15).



**Figura 2. Inhibición del crecimiento y la acumulación de biomasa en las plántulas de dos variedades de trigo por efecto del PEG-6000**

## CONCLUSIONES

- \* La sequía simulada con PEG afectó la germinación y el crecimiento de las plántulas de trigo y de forma más marcada con el incremento de las concentraciones, siendo el porcentaje de germinación y la acumulación de masa seca los indicadores más sensibles.
- \* Se observó una respuesta diferenciada de las variedades frente al estrés, destacándose la variedad INIFAT RM-36 como la más tolerante en cuanto a la germinación y el crecimiento de las plántulas, indicando además la utilidad potencial que pueden tener estos para la selección de materiales tolerantes a la sequía en las etapas tempranas de los programas de mejora.

## REFERENCIAS

1. Sotolongo, J. A. Guantánamo vs Desertification. Energía y Tú. *Revista Científico-Popular Trimestral de CUBASOL*, 2003, vol. 23, p. 12-14.
2. Moreno, I. *et al.* Comportamiento de tres nuevas variedades de arroz (*Oryza sativa* L) para condiciones de secano y secano favorecido en la Isla de la Juventud. *Cultivos Tropicales*, 2001, vol. 22, no. 1, p. 27-30.
3. Bayuelo-Jiménez, J.; Debouck, D. G. y Plynch, J. Seed priming winter wheat for germination, emergence and yield. *Crop Science*, 2003, vol. 43, p. 2135-2141.
4. Maldonado, C.; Oujado, E. y Squeo, F. El efecto de la disponibilidad de agua durante el crecimiento de *Lycopersicon chilensis* sobre la capacidad de sus semillas para germinar a distintas temperaturas y concentraciones de manitol y NaCl. *Revista Chilena de Historia Natural*, 2002, vol. 75, p. 651-660.
5. Silmara, C. F. y Juliano, S. C. Processo germinativo de sementes de Paneira sob estresses hídrico e salino. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 2004, vol. 39, no. 9, p. 24-31.
6. Michel, B. F. y Kauffman, M. R. The osmotic potential of polyethylene glycol-6000. *Plant Physiology*, 1973, vol. 51, p. 914-916.
7. González, L. M. Influencia de diferentes tipos de sales sobre el crecimiento de las plántulas de arroz durante la germinación. *Ciencias biológicas*, 1992, vol. 25, p. 137-139.
8. Nagafabadi, M. F.; Ghanadha, M. R.; Zali, A. A. y Yazdi, B. Inheritance of bread wheat seed germination at drought conditions. Consultado: [10-9-2003]. Disponible en: <<http://www.treebiotech2003.noonod.se/s10-p.htm>>.
9. Carles, C.; Bies-Etheve, W.; Aspart, L.; Leon-Kloosterziale, K. M.; Koornneef, M.; Echeverría, M. y Delseny, M. Regulation of *Arabidopsis thaliana* Em genes: role of AB<sub>15</sub>. *Plant Journal*, 2002, vol. 30, p. 373-383.
10. Gao, M. y Schowalter, A. M. Immunolocalization of LeAGP-1, a modular arabinogalactan-protein, reveals its developmentally regulated expression in tomato. *Planta*, 2000, vol. 210, p. 865-874.
11. Lu, H. M. y Schowalter, A. M. Developmental expression and perturbation of arabinogalactan-protein during seed germination and seedling growth in tomato. *Physiologia Plantarum*, 2001, vol. 112, p. 442-450.
12. Hall, Q. y Cannon, M. C. The cell wall hydroxyproline-rich glycoprotein RSH is essential for normal embryo development in Arabidopsis. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, p. 1161-1172.
13. Heidary, R. y Heidary, M. Evaluation of resistance for salinity, drought, cold and pH changes in four Iranian wheat cultivars. *Journal of Agricultural Science and Natural Resources*, 2002, vol. 9, no. 1, p. 32-38.
14. Morgan, J. Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2004, vol. 34, no. 6, p. 607-614.
15. Aparecida, M. E. y Zambillo de Pinho, S. Germination of *Senra occidentales* link: Seed at different osmotic potential levels. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2003, vol. 46, no. 2, p. 38-43.
16. Ogbonnaya, C. I.; Sarr, B.; Brou, C.; Diouf, O.; Diop, N. N. y Roy-Macauley, H. Selection of cowpea genotypes in hydroponics, pots, and field for drought tolerance. *Crop Science*, 2003, vol. 43, p. 1114-1120.

Recibido: 1 de febrero de 2005

Aceptado: 5 de julio de 2005