

Remoción del estado de dormición endógena en semillas de *Lotus tenuis* (Waldst et Kit) por efecto de la tiourea

MM MUJICA* Y CP RUMI**

*Area de Genética y Mejoramiento Animal y Vegetal, **Instituto de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. CC 31, 1900 La Plata, Argentina.

RESUMEN

Este trabajo tuvo por objetivo probar el efecto de distintas concentraciones de tiourea en la remoción del estado de dormición endógena que se presenta en las semillas de *Lotus tenuis*. En una primera experiencia se ensayaron las concentraciones de: 875, 1750, 3500 y 7000 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$. En una segunda las concentraciones probadas fueron de 1000, 2000, 4000 y 5000 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$. Las semillas, escarificadas mecánicamente, fueron sembradas en cajas de petri que contenían 10 ml de las respectivas soluciones en buffer fosfato; como testigo se efectuaron siembras en buffer fosfato solamente. Las pruebas de germinación se realizaron en una estufa a $21^{\circ}\text{C} \pm 1$. En ambas experiencias se registró el número de semillas germinadas a partir de la imbibición y se evaluó la evolución de la germinación acumulativa. Los resultados indican que todas las concentraciones probadas, excepto la de 875 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$, tienen un efecto temprano y significativo ($p < 0.01$) en la remoción del estado de dormición. Las concentraciones de 4000 y 5000 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$ determinaron las respuestas más efectivas. La remoción espontánea del estado de dormición ocurrió también mientras las semillas estuvieron embebidas.

Palabras clave. Dormición endógena, germinación, *Lotus tenuis*; tiourea.

Recibido el 21 de abril de 1995. Aceptado el 7 de febrero de 1996

Removal of a endogenous dormancy state in the seeds of *Lotus tenuis* (Waldst et Kit) by effect of the thiourea

SUMMARY

The objective of this work was to prove the effect of different concentrations of thiourea in the removal of a state of endogenous dormancy that is presented in the seeds of *Lotus tenuis*. In a first experience were proven the thiourea concentrations of: 875, 1750, 3500 and 7000 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$. In a second experience the concentrations were of 1000, 2000, 4000 and 5000 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$. Seeds, scarified mechanically, were sown in petri dishes containing 10 ml of the respective thiourea solutions in buffer phosphate and the control only in buffer phosphate. The germination test were in stove at $21^{\circ}\text{C} \pm 1$. In both experiences was registered the number of seeds germinated from the time of the imbibition and was evaluated the evolution of the cumulative germination. The results indicate that all the proven concentrations, except that of 875 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$, have a significant and early effect ($p < 0.01$) in the removal of the dormancy state. The concentrations of 4000 and 5000 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$ determined the most effective response. The spontaneous removal of the dormancy also occurred while the seeds were imbibed.

Key words. Endogenous dormancy, germination, *Lotus tenuis*, thiourea.

INTRODUCCIÓN

Las semillas de *Lotus corniculatus* (Li y Hill, 1989) y de *L. tenuis* (Mujica y Rumi, 1994) presentan, además de los tegumentos impermeables, un estado de dormición endógena. Este se manifiesta antes de la impermeabilización de los tegumentos, mientras la semilla madura en la planta y desaparece completamente alrededor de los 40 días después de la cosecha. Se desconocen, en ambas especies, las causas y el mecanismo por los cuales se desarrolla este proceso. Este estado de dormición puede ser considerado un mecanismo favorable, que evita la germinación en la planta madre y que también contribuye a una administración estratégica del banco de semillas del suelo. No obstante, es una dificultad para los programas de mejoramiento genético cuando interesa lograr más de una generación por año. En diferentes especies se ha comprobado que la tiourea estimula la

germinación de semillas que presentan algún estado de dormición. Este efecto fue descubierto por Thompson y Kosar (1939), en semillas de lechuga fotosensibles. Posteriormente Poljakoff-Mayber y Mayer (1960) estudiaron la acción de este compuesto sobre la germinación y el crecimiento en el mismo material. La tiourea estimula la germinación en una amplitud de concentraciones. Hendricks y Taylorson (1975) estudiaron el efecto de varias concentraciones de tiourea (10^{-4} M, 10^{-3} M y 10^{-2} M) sobre la respuesta germinativa de semillas de lechuga, obteniendo la respuesta máxima (90% de germinación) en la mayor concentración. Burin *et al* (1987) encontraron que el mayor efecto de la tiourea en semillas en dormición de *Stylosanthes humilis* (H.B.K.) ocurrió a una concentración de 7500 $\mu\text{gr}.\text{ml}^{-1}$. El objetivo de este trabajo fue probar el efecto de distintas concentraciones de tiourea en la remoción de la dormición endógena de semillas de *L. tenuis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas cosechadas manualmente a mediados de marzo, de la población San Genaro, cultivada en Gorina, Pcia de Buenos Aires, Argentina (34° 32' y 57° 54'). Las semillas a los cinco días de cosechadas fueron escarificadas mecánicamente y se inició la primera experiencia de germinación. La tiourea se aplicó en solución, en cajas de petri, con papel de filtro. Las concentraciones fueron de: 875 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$, 1750 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$, 3500 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$ y 7000 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$; en "buffer" fosfato 0,01 M, pH 6,4. Las cajas de petri contenían 10 ml de las respectivas soluciones y el testigo sólo "buffer" fosfato (Burin *et al.*, 1987). Las pruebas de germinación fueron realizadas a 21°C \pm 1. Diariamente hasta el décimo sexto día se registró el número de semillas germinadas (aparición de la radícula, 2 mm). El diseño experimental fue el totalmente aleatorizado con 3 repeticiones de 50 semillas por caja de petri. A mediados de marzo del año siguiente se repitió la cosecha manual de semillas de la misma población y parcela. Las mismas permanecieron dos días expuestas al aire en las condiciones del laboratorio y se escarificaron para iniciar una segunda experiencia similar a la anterior. Las concentraciones de tiourea fueron las de 1000, 2000, 4000 y 5000 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$, en "buffer" fosfato 0,01 M, pH 6,4 y el testigo sólo en buffer fosfato. Se realizó en las mismas condiciones con 4 repeticiones. La evaluación se extendió por 15 días a partir de la imbibición. Para realizar el análisis de la varianza los datos fueron transformados por la función angular arco seno.

RESULTADOS

La tiourea tuvo un efecto muy positivo en la desaparición del estado de dormición de las semillas de *L. tenuis*. En la primera experiencia, a partir de las 48 h de imbibición, se

observó que las concentraciones de 1750, 3500, y 7000 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$ determinaron porcentajes de germinación acumulativa significativamente superiores al testigo (prueba dms, $p < 0,01$) (Fig. 1 a). Con 3500 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$, a partir del tercer día de imbibición, se registraron los valores más altos. La concentración de 7000 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$ presentó una respuesta máxima 2 días después de la imbibición y durante el resto de la experiencia los valores fueron inferiores a los de 3500 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$, significativos ($p < 0,05$) sólo en el décimo día. Esto indicó que concentraciones más efectivas que las empleadas podrían encontrarse entre las de 3500 y 7000 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$. El testigo en solución buffer incrementó gradualmente el porcentaje de germinación acumulativa, presentando diferencias significativas ($p < 0,01$) con respecto al valor inicial y con algunos de los sucesivos. El mismo comportamiento se observó con las concentraciones más bajas de tiourea. En la segunda experiencia las concentraciones evaluadas produjeron una respuesta significativamente superior al testigo durante los primeros 6 días (Fig. 1b). La concentración de 5000 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$ presentó la máxima respuesta, aunque las diferencias no fueron significativas con respecto a la concentración de 4000 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$. En forma similar a la primera experiencia, el testigo y las concentraciones más bajas de tiourea (1000 y 2000 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$), presentaron un aumento gradual de la germinación durante el período evaluado.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que la tiourea promueve la remoción del estado de dormición post cosecha que se presenta en las semillas de *L. tenuis*. La concentración de tiourea que mejor estimula la germinación en distintas especies es variable. En semillas de lechuga fue de 761,2 $\mu\text{gr.ml}^{-1}$, (Hendricks y Taylorson, 1975) y en *Stylosanthes humilis*, 7500

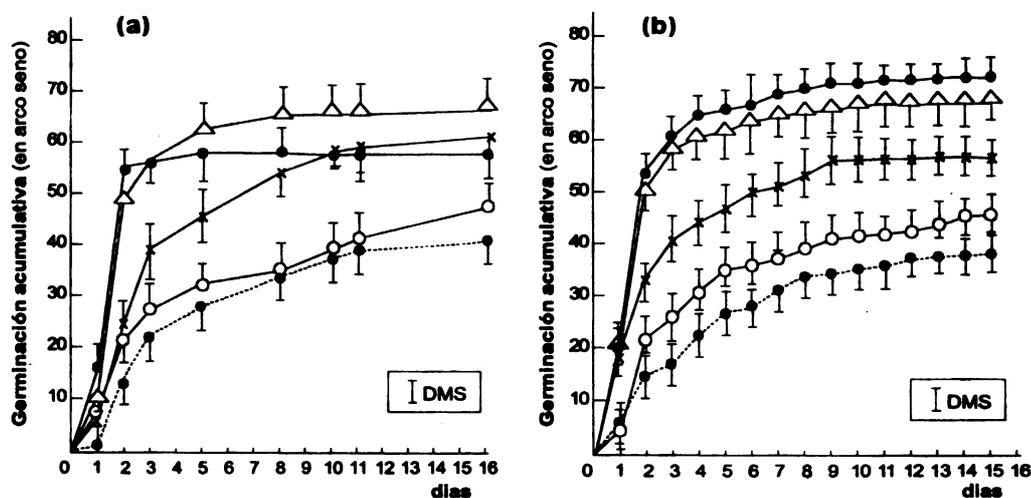


Figura 1. Efecto de la tiourea en la remoción del estado de dormición endógena de las semillas de *Lotus tenuis*. Germinación acumulativa de las semillas embebidas en distintas concentraciones de tiourea en solución de buffer fosfato. (a): (—●—●—●—) 7000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—△—△—△—) 3500 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—×—×—×—) 1750 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—○—○—○—) 875 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—●—●—●—) testigo. (b): (—●—●—●—) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—△—△—△—) 4000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—×—×—×—) 2000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—○—○—○—) 1000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—●—●—●—) testigo. Las líneas verticales representan el intervalo para las medias ($p = 0,99$) y la DMS (0,01)

Effect of the thiourea in the removal of the state of endogenous dormancy of the Lotus tenuis seeds. Cumulative germination of the seeds imbibed in different concentrations of thiourea in solution of buffer phosphate. (a): (—●—●—●—) 7000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—△—△—△—) 3500 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—×—×—×—) 1750 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—○—○—○—) 875 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—●—●—●—) control. (b): (—●—●—●—) 5000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—△—△—△—) 4000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—×—×—×—) 2000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—○—○—○—) 1000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$, (—●—●—●—) control. The vertical lines represent the interval for the average ($p = 0,99$) and the LSD (0,01).

$\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ (Burin, *et al.*, 1987). En *L. tenuis*, se determinó que la concentración de 7000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ de tiourea presentó una respuesta muy notable en el 2º día de imbibición (Fig 1a). No obstante, durante el resto de la experiencia este valor fue superado por la respuesta a la concentración de 3500 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. Este comportamiento permite suponer que la concentración mayor podría afectar a las semillas si éstas permanecen en contacto con la sustancia por más de 2 días. Thompson (1946) advierte que en *Cichorium endivia* concentraciones de 0,5 % podrían causar algún daño a los embriones, según la extensión del tratamien-

to. En la segunda experiencia, con 5000 y 4000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$ se obtuvieron los mejores resultados debido a la rápida respuesta inicial y a los valores alcanzados en la germinación acumulativa. Las diferencias entre ambas concentraciones no fueron significativas, por lo que se sugiere el uso de 4000 $\mu\text{g}.\text{ml}^{-1}$. Otros autores han informado sobre los efectos inhibitorios del crecimiento de raíces e hipocotilos por altas concentraciones de tiourea (Poljakoff-Mayber y Mayer, 1960). En esta experiencia no se observó la presencia de anomalías en la germinación con ninguna de las concentraciones, si bien no fue

evaluado el crecimiento posterior de las plántulas. Con las concentraciones menores se observó una baja respuesta inicial seguida de un aumento gradual de la germinación acumulativa que presentó un paralelismo con la evolución del testigo (Fig. 1 a y b). La respuesta inicial podría atribuirse al efecto de la tiourea, mientras que el comportamiento posterior se debería a la desaparición espontánea de la dormición, representada por la dinámica del testigo. Esta interpretación se apoya en que alrededor del 80 % de las semillas no durmientes de distintas poblaciones de *L. tenuis* germinaron con sólo 36 h de imbibición a 21 °C (Mujica y Rumi, 1993). Li y Hill (1989) y Mujica y Rumi (1994) han informado en *L. corniculatus* y *L. tenuis* respectivamente sobre la pérdida gradual de la dormición endógena alrededor de 40 días después de la cosecha, mientras las semillas permanecieron en las condiciones del laboratorio. Esto coincidiría con la última fase de deshidratación natural de las semillas después de la cosecha, pero no se ha establecido si existe una relación causal entre ambos procesos. En esta experiencia, la evolución de la germinación acumulativa de los testigos muestra que también ocurre alguna pérdida de la dormición cuando las semillas permanecen en condiciones de imbibición. Por lo tanto el nivel de humedad interna de las mismas parecería no estar involucrado como determinante de la remoción espontánea de la dormición.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CONICET el apoyo económico brindado para realizar este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Burin MR, A Santos Barros and R Braga (1987) Chemical regulation of endogenous dormancy in seeds of *Stylosanthes humilis* (HBK). Turrialba 37 N°3: 253-259.
- Hendricks SB and RB Taylorson (1975) Breaking of seed dormancy by catalase inhibitor. Proceeding Natural Academy Science USA 72: 306-309.
- LI Q and MJ Hill (1989) Seed development and dormancy characteristics in *Lotus corniculatus* (L). New Zealand Journal of Agricultural Research 32: 333-336.
- Mayer AM (1956) The action of thiourea as a germination stimulator. Journal of Experimental Botany 7: 93-96.
- Mujica MM y CP Rumi (1993) Effect of three different constant temperature treatments on germination of *Lotus tenuis* (Waldst et Kit). Lotus Newsletter 24: 35-37.
- Mujica MM y CP Rumi (1994) Presencia de dos tipos de dormición en las semillas de *Lotus tenuis* (Waldst et Kit). Revista Facultad de Agronomía, La Plata 70: 5-12.
- Poljakoff-Mayber A and AM Mayer (1960) Effect of thiourea on germination and growth. Indian Journal of Plant Physiology 3: 125-138.
- Thompson RC and WF Kosar (1939) Stimulation of germination of dormant lettuce seed by sulphur compounds. Plant Physiology 14: 567-573.
- Thompson RC (1946) Germination of endive seed (*Cichorium endivia*) at high temperature stimulated by thiourea and by water treatments. Proceeding American Hort Science 47: 323-326.