

## Comportamiento fisiológico de los cariopsis de trigo sometidos a pre-tratamientos con etileno.

Alejandra Carbone<sup>1</sup> y J Beltrano<sup>2</sup>

Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, CC 31, 1900 La Plata, Argentina.

Recibido: 15 de Septiembre de 1994. Aceptado: 15 de Febrero de 1995.

### RESUMEN

El etileno es una hormona que interviene en numerosos procesos, entre ellos, la germinación, maduración y senescencia de flores y frutos. Todos los órganos de las plantas liberan etileno, pero los mayores niveles se registran en flores y frutos, en la etapa de maduración y senescencia. Se determinó que cariopsis de trigo almacenados continúan liberando etileno, aun, con 14% de humedad comercial (0,08 nL ET.g<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>). Son conocidos los efectos ejercidos por el etileno sobre la expansión radial de las células de coleoptilos, lo que trae aparejado una disminución de la longitud y un aumento del diámetro del órgano. El objetivo del presente trabajo fue determinar las respuestas fisiológicas de semillas de trigo sometidas a pretratamientos con etileno. Estos aumentaron la liberación de esta hormona por las semillas, incrementando la tasa de germinación. La elongación de los coleoptilos, y el número y longitud de las raíces disminuyó, pero se incrementó significativamente el diámetro de los primeros. Se infiere que, si bien el efecto sobre las raíces fue detrimental, el menor crecimiento de los coleoptilos y su mayor grosor representan una ventaja para la emergencia de las plántulas, primordialmente en suelos compactos.

**Palabras claves:** Etileno, germinación, semillas, senescencia, trigo.

### Physiological responses of wheat grain to pre-treatments with ethylene.

#### SUMMARY

Ethylene is a plant hormone that is involved in processes, such as, germination, maturation and senescence of flowers and fruits. All the plant organs produced ethylene and the greatest levels were determined in flowers and fruits during maturation and in the senescence stages. Mature wheat grains release ethylene (0,08 nL ET.g<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) even with 14% commercial moisture. The effects of the ethylene on the radial expansion of coleoptile cell, length decreasing, and diameter increasing are well known. The aim of this work was to determine the physiological responses of wheat grain subjected to ethylene pretreatments before sowing. Treatments increased the seed ethylene emission and germination percentage. Coleoptile elongation, root number and length decreased, but the coleoptile diameter increased significantly. The effect of ethylene on the roots was detrimental, but the reduced coleoptile growth and their greater thickness represent an advantage for the seedling emergence, mainly in compact soils.

**Key words:** Ethylene, germination, seeds, senescence, wheat.

<sup>1</sup> Becaria de Perfeccionamiento de la CICBA.

<sup>2</sup> Miembro de la Carrera del Investigador Científico de la CICBA.

## INTRODUCCION

El etileno es un producto natural del metabolismo vegetal, que posee una acción fisiológica de tipo hormonal. Interviene en numerosos procesos fisiológicos, tales como germinación de semillas, epinastias, senescencia de flores, frutos y hojas (Abeles *et al* 1992). Los distintos órganos de las plantas liberan etileno a la atmósfera en concentraciones variables, pero los mayores desprendimientos se producen en flores, frutos en maduración y senescentes y en hojas adultas (Abeles *et al* 1992). Se ha determinado que esta hormona tiene un efecto autocatalítico, de manera que en su presencia se acelera dramáticamente su síntesis.

La aplicación de etileno exógeno o compuestos que liberan etileno, como el Ethephon (ácido 2-cloro etilfosfónico) rompen la dormición de semillas y promueven la germinación de numerosas especies (Corbineau *et al* 1989, Taylorson, 1979). Numerosos autores han encontrado incrementos en la producción de etileno endógeno al comienzo de la germinación; y una disminución de ésta cuando se elimina el etileno del aire que circunda a las semillas, para evitar su acumulación (Ketring y Morgan 1969, 1970, 1971, 1972, Cardoso y Felipe 1987).

El crecimiento de los coleoptilos está determinado por un balance hormonal; donde las auxinas incrementan la elongación celular y el etileno produce la expansión radial de los mismos (Sargent *et al* 1973, Osborne 1976). Ortuño *et al* (1991) y Sánchez-Bravo *et al* (1992) observaron la influencia negativa del etileno sobre el crecimiento de hipocotilos de plántulas de lupinos, cuyas semillas habían sido obtenidas de plantas tratadas con Ethephon. Paralelamente a la inhibición de la elongación celular, el Ethephon produjo la estimulación de la expansión radial de la

médula y la corteza de los hipocotilos, con el consiguiente aumento del diámetro de los mismos, aspectos que, sumados a la pérdida del gravitropismo, constituyen el fenómeno conocido como "Triple respuesta".

Por otro lado, teniendo en cuenta que los granos de trigo liberan etileno aun con 14% de humedad, (Carbone *et al* 1992) y que en ciertas condiciones de almacenamiento, como por ejemplo silos o estibas de bolsas con escasa circulación de aire, es muy probable que, si las concentraciones de esta hormona fueran altas, puedan producir otros efectos fisiológicos, por ejemplo sobre su longevidad y viabilidad. Uno de los primeros eventos que ocurren durante el envejecimiento de las semillas es el deterioro de las membranas celulares, que se manifiesta con el aumento de la salida de iones citoplasmáticos durante la imbibición (Priestley 1986, Suttle and Kende 1980).

Sobre la base de estos antecedentes, se planteó la hipótesis que un pre-tratamiento de semillas de trigo con altas concentraciones de etileno incrementaría su producción por autocatálisis y, consecuentemente, afectaría su germinación, como así también la elongación y diámetro de sus coleoptilos y el número y longitud de las raíces. Con el objeto de validar esta hipótesis se realizaron ensayos en los cuales se pre-trataron granos de trigo maduros con etileno y se midieron los parámetros antes mencionados.

## MATERIALES Y METODOS

### 1. Material Vegetal

Se emplearon semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) cv. Buck Poncho, cosechadas en 1989 y almacenadas en la oscuridad en con-



diciones de laboratorio durante 2 años. Se colocaron 4 g de semillas en frascos de vidrio de 15 mL de capacidad, que contenían una mezcla de aire sintético adicionado de etileno en concentraciones de 1500, 3000 y 4000 ppm y, como testigos, se emplearon semillas que permanecieron en aire sintético (libre de etileno). Los frascos, cerrados herméticamente con tapones de goma, se llevaron a 28°C en la oscuridad, donde permanecieron durante 21 días. Al cabo de este tiempo, las semillas fueron transferidas a cajas de Petri abiertas sometidas 72 h a una corriente de aire libre de etileno.

Transcurrido este lapso, se trasladaron a frascos de vidrio de 15 mL de capacidad, cerrados herméticamente con tapones de goma, y se incubaron 2 h en la oscuridad a 28°C. Luego se extrajeron muestras de 1 mL de la atmósfera de cada frasco y se midió la cantidad de etileno liberado por las semillas por cromatografía gaseosa. Se emplearon 15 frascos (repeticiones) por tratamiento y el experimento fue realizado en dos oportunidades.

## 2. Determinación de etileno

La determinación de etileno se efectuó mediante un cromatógrafo Konik KNK 3000 HRGC. Para ello se utilizó una columna de 1,80 m de longitud, 0,32 cm de diámetro interno llenada con alúmina F1 activada 80/100 mesh y un detector de ionización de llama KNK 019-421. Las determinaciones se realizaron a una temperatura de 120, 110 y 170°C, del inyector, columna y detector respectivamente. Se utilizó N<sub>2</sub> (N50) como gas portador, con un flujo de 35 mL.min<sup>-1</sup>, aire cromatográfico e hidrógeno, con flujos de 250 y 35 mL.min<sup>-1</sup>, respectivamente. En estas condiciones, el tiempo de retención fue de 0,89 min. La cuantificación se efectuó haciendo uso de un patrón, obtenido realizando varias diluciones

partiendo de un estándar de concentración conocida. Los resultados obtenidos se expresaron en nI ET. g (P.F)-1. h-1.

## 3. Mediciones del crecimiento

Cien semillas provenientes de cada uno de los tratamientos se colocaron en 4 cajas de Petri con papel de filtro húmedo, en una estufa a 28°C y en la oscuridad, para determinar la germinación y los siguientes parámetros de crecimiento: longitud total de los coleoptilos y raíces, y el diámetro de los coleoptilos a 5 mm de su inserción en el grano. La conductividad iónica fue determinada sumergiendo 100 cariopsis en 50 ml de agua bidestilada a 25°C y luz difusa con un conductímetro LUFTMAN, Digicond IV. Los datos fueron analizados estadísticamente por ANOVA y las diferencias se establecieron por LSD a nivel de P<0.05.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos corroboran que los cariopsis de trigo liberan etileno aun habiéndose deshidratado hasta los niveles de su madurez comercial (14%). Esta emisión continuó durante el almacenaje, ya que pequeñas cantidades de etileno se detectaron luego de 2 años de cosechados, lo que indica que el embrión mantiene activo el metabolismo biosintético de esta hormona, aun en estado de reposo y en condiciones de extrema desecación. Se desconoce hasta el presente su función en un órgano con su metabolismo restringido al mínimo. Esta reducida biosíntesis se incrementó de manera ostensible cuando los cariopsis fueron preincubados en aire que contenía etileno en concentraciones elevadas, aumento explicable por la propiedad autocatalítica de la hormona (Tabla 1). Es de interés destacar que la exposición de las semillas a estas altas concentraciones de etileno



**Tabla 1.** Producción de etileno y porcentaje de germinación en granos de trigo pre-incubados en etileno.

Ethylene production and germination percentage in wheat grain pre-treated with ethylene.

TRATAMIENTO	PRODUCCION DE ETILENO nL ET g-1(PF)h-1	GERMINACION (%)
TESTIGO	0,08 ± 0,0 a	69,34 ± 2,6 a
1500 PPM ETILENO	0,18 ± 0,0 b	80,91 ± 3,5 b
3000 PPM ETILENO	0,92 ± 0,2 c	78,62 ± 6 b
4000 PPM ETILENO	3,10 ± 0,8 d	75,22 ± 4,8 a

Dentro de cada variable, los valores seguidos por la misma letra no difieren entre sí según el Test de LSD (P<0,05).

Values followed by the same letter, within each variable, are not significantly different between them, according to LSD Test (P<0.05).

durante 21 días, no produjo ningún efecto deletéreo visible sobre el embrión. Por el contrario, la germinación, luego de la incubación, se vió estimulada (Tabla 1).

Los coleoptilos de los cariopsis incubados en atmósferas con etileno crecieron morfológicamente normales luego de sembrados, pero su velocidad de elongación se vió disminuída de manera apreciable. Contrariamente, se registró un aumento en su diámetro (Tabla 2), produciéndose una expansión radial de las células de la médula y la corteza. Paralelamente se observó que las plántulas provenientes de semillas expuestas previamente al etileno tenían menor número y longitud de raíces (Tabla 3).

Teniendo en cuenta estos resultados, el etileno durante el almacenaje podría tener efectos nocivos en las células del embrión, que se manifestarían pos-siembra con un menor crecimiento y vigor de las plántulas, si

**Tabla 2.** Longitud y diámetro de coleoptilos de granos de trigo pre-incubados en etileno.

Coleoptile length and diameter of wheat grain pre-treated with ethylene.

TRATAMIENTO	LONGITUD DE COLEOPTILOS (mm)	DIAMETRO DE COLEOPTILOS (mm)
TESTIGO	28,52 ± 2,3 a	1,00 ± 0,0 a
1500 PPM ETILENO	19,69 ± 5,8 b	1,23 ± 0,1 b
3000 PPM ETILENO	20,01 ± 3,5 b	1,36 ± 0,2 c
4000 PPM ETILENO	21,21 ± 4,5 b	1,30 ± 0,2 d

Dentro de cada variable, los valores seguidos por la misma letra no difieren entre sí según el Test de LSD (P<0,05).

Values followed by the same letter, within each variable, are not significantly different between them, according to LSD Test (P<0.05).

las concentraciones del gas fueran elevadas. Otro efecto detectado causado, por el etileno, fue la pérdida de iones que sufrieron los granos pre-tratados cuando se sumergieron en agua a 25°C y luz difusa. La conductividad fue aumentando a partir de las 2 h hasta las 12 h, mientras que los controles mostraron valores significativamente menores (Tabla 4). Este efecto de la hormona podría atribuirse a su acción sobre la permeabilidad de las membranas celulares, fenómeno que forma parte del síndrome de senescencia de los órganos vegetales.

### CONCLUSION

Los resultados confirman que la conservación de granos de trigo en una atmósfera con alto contenido de etileno incrementa, posiblemente por autocatálisis, su biosíntesis.

**Tabla 3.** Número y longitud de raíces producidos por granos de trigo pre-incubados en etileno.

Root number and length produced by wheat grain pre-treated with ethylene.

TRATAMIENTO	NUMERO DE RAICES	LONGITUD DE RAICES
TESTIGO	4,00 ± 0,1 a	28,95 ± 0,2 a
1500 PPM ETILENO	2,75 ± 0,1 b	22,13 ± 0,1 b
3000 PPM ETILENO	3,21 ± 0,1 c	23,54 ± 0,2 c
4000 PPM ETILENO	3,34 ± 0,2 c	23,42 ± 0,4 c

Dentro de cada variable, los valores seguidos por la misma letra no difieren entre sí según el Test de LSD (P<0,05).

Values followed by the same letter, within each variable, are not significantly different between them, according to LSD Test (P<0.05).

Además, se valida la hipótesis que semillas de trigo pre-tratadas con esta hormona (1500 y 3000 ppm), incrementan el porcentaje de germinación, alterándose la elongación y grosor de los coleoptilos, así como el número y longitud de las raíces de las plántulas.

Este efecto del etileno tiene valor ecológico, dado que un crecimiento en grosor mayor del coleoptilo facilita su emergencia en suelos compactos. Sin embargo, la disminución en el número y longitud de raíces podría traer desventajas para la absorción de nutrientes y soportar situaciones de estrés

## BIBLIOGRAFIA

- Abeles FB, PW Morgan and ME Saltveit Jr (1992) Ethylene in plant biology 2nd. Academic Press, San Diego, CA, pp 120-221
- Carbone AV, R Barreiro, JJ Guiamet, J Beltrano, ER Montaldi y O Ocampo (1992) Producción de

**Tabla 4.** Conductividad iónica (uS. g-1) en cariopsis de trigo pre-incubados en etileno.

Ionic conductivity in wheat grain pre-treated with ethylene.

TRATAM.	CONDUCTIVIDAD IONICA (uS.g <sup>-1</sup> )		
	2 H	6 H	12 H
TESTIGO	28 ± 3,0 a	45 ± 5,0 a	70 ± 6,0 a
1500 PPM ETILENO	40 ± 4,1 b	92 ± 7,0 b	150 ± 7,0 a
3000 PPM ETILENO	46 ± 4,0 b	105 ± 6,0 b	163 ± 7,0 b
4000 PPM ETILENO	56 ± 4,8 c	140 ± 7,0 c	195 ± 8,0 c

Dentro de cada variable, los valores seguidos por la misma letra no difieren entre sí según el Test de LSD (P<0,05).

Values followed by the same letter, within each variable, are not significantly different between them, according to LSD Test (P<0.05).

hídrico. Asimismo, se afecta la permeabilidad de sus membranas a la salida de iones lo que provoca pérdida de elementos minerales.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por CONICET, Argentina. Los autores agradecen a la Lic. Ofelia Ocampo por la asistencia técnica, al Ing. J.J. Guiamet por las sugerencias recibidas y al Ing. Edgardo Montaldi por la lectura crítica del manuscrito.

etileno por cariopsis de trigo. Su incremento por autocatálisis y consecuente efecto sobre la germinación y elongación del coleoptilo. Actas XIX Reunión Nacional de Fisiología Vegetal. Huerta Grande Córdoba 189-190

- Cardoso VJ and GM Felipe** (1987) Endogenous ethylene and the germination of *Cucumis auguria* L. seeds. *Rev Brasil Bot* 10: 29-32
- Corbineau F, RM Rudnicki and D Come** (1989) ACC conversion to ethylene by sunflower seeds in relation to maturation, germination and thermodormancy. *Plant Growth Reg* 8: 105-115
- Ketring DL and PW Morgan** (1969) Ethylene as a component of the emanations from germinating peanut seeds and its effect on dormant Virginia-type seeds. *Plant Physiol* 44: 326-330
- Ketring DL and PW Morgan** (1970) Physiology of oil seeds. I. Regulation of dormancy in Virginia-type peanut seeds. *Plant Physiol* 45: 268-273
- Ketring DL and PW Morgan** (1971) Physiology of oil seeds. II. Dormancy release in Virginia-type peanut seeds by plant growth regulators. *Plant Physiol* 47: 488-492
- Ketring DL and PW Morgan** (1972) Physiology of oil seeds. IV. Role of endogenous and inhibitory regulators during natural and induced after-ripening of dormant Virginia-type peanut seeds. *Plant Physiol* 50: 362-367
- Ortuño A, JA Del Rio, JL Casas, M Serrano, M Acosta and J Sanchez-Bravo** (1991) Influence of Acc and Etethephon on cell growth in etiolated lupin hypocotyls. Dependence on cell growth state. *Biol Plant* 33: 81-90
- Osborne DJ** (1976) Control of cell shape and cell size by the dual regulation of auxin and ethylene. In: Sunderland, N (ed.). *Perspectives in Experimental Biology* 2. Pergamon Press, Oxford 1976: 89-102
- Priestley DA** (1986) Seed Aging. Implications for Seed storage and persistence in soil. Cornell Univ. Press, Ithaca, New York
- Sánchez-Bravo J, A Ortuño, M Perez-Gilbert, M Acosta and F Sabater** (1992) Modification by ethylene of the cell growth pattern in different tissues of etiolated lupine hypocotyls. *Plant Physiol* 98: 1121-1127
- Sargent JA, AV Stack and DJ Osborne** (1973) Orientation of cell growth in the etiolated pea stem. Effect of ethylene and auxin on cell wall deposition. *Planta* 109: 185-192
- Suttle JC and H Kende** (1980) Ethylene action and loss of membrane integrity during petal senescence in *Tradescantia*. *Plant Physiol* 65: 1067-1072
- Taylorson RB** (1979) Response of weed seeds to ethylene and related hydrocarbons. *Weed Sci* 27: 7-10