

## Método para detectar tolerancia al stress en dos variedades de trigo *Triticum aestivum* L.

### Method to detect tolerance to the stress in two wheat varieties *Triticum aestivum* L.

Aliuska Estrada<sup>1</sup>, Luis Manuel González<sup>1</sup>, Leandris Argente<sup>2</sup>, Nircia Zaldivar<sup>1</sup> y Ramiro Ramírez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Agropecuarias "Jorge Dimitrov", Gaveta Postal 2140, Bayamo 85100, Granma, Cuba.

<sup>2</sup> Universidad de Granma, Carretera Bayamo-Manzanillo, km 16, Bayamo 85100, Granma

E-mail: [lmgonzalez@dimitrov.granma.inf.cu](mailto:lmgonzalez@dimitrov.granma.inf.cu)

---

**RESUMEN.** Se evaluó 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 de petri con 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 al azar y se utilizaron 100 semillas con cuatro réplicas. Se determinó el porcentaje de germinación (G) y altura de las plántulas (AP), longitud de la raíz (LR) y acumulación de biomasa fresca (MF) y seca (MS). Se estableció para cada variedad la ecuación de regresión lineal, expresado como porcentaje del control y los niveles de presión osmótica, a partir de los cuales disminuyen la germinación y el crecimiento en un 50 %. Se calculó la inhibición y se evaluó estadísticamente. Los resultados indicaron que la sequía simulada con PEG afectó la germinación y el crecimiento de las plántulas de trigo. La presión osmótica de las soluciones fue la que más influyó, siendo el porcentaje de germinación y la acumulación de masa seca, los indicadores más sensibles. Se observó en la tolerancia al estrés, que la variedad INIFAT RM-36 resultó la más tolerante (germinación y crecimiento). Se sugiere su utilización para la selección de materiales tolerantes a la sequía en las etapas tempranas de los programas de mejora genética.

Palabras clave: Crecimiento, germinación, plántulas, PEG-6000, sequía, trigo.

**ABSTRACT.** The effect of drought simulated with PEG-6000 on the germination and the growth of wheat seedlings was evaluated. Seeds of the varieties Cuba-C-204 and INIFAT RM-36 were selected, placed on Petri dishes to germinate, with filter paper and 15 mL of PEG-600 solution and osmotic pressures of 0, -0.3, -0.5, -0.75, -1.0 and -1.5 MPa. The Petri dishes were distributed at random and 100 seeds were used with four replicas. Seedling germination percentage (G) and height (AP) was determined, as well as length of the root (LR) and accumulation of fresh (MF) and dry biomass (MS). The lineal regression equation was established for each variety, expressed as percentage of the control and the levels of osmotic pressure, which diminishes the germination and growth by 50%. Inhibition was calculated and evaluated statistically. The results indicated that the drought simulated with PEG affected the germination and the growth of the wheat seedlings. The osmotic pressure of solutions was what most influenced the results, with germination percentage and the accumulation of dry mass serving as the most sensitive indicators. Of the stress tolerance observed, the variety INIFAT RM-36 was the most tolerant (germination and growth). Its use is suggested for the selection of drought tolerant materials in the early stages of plant breeding programs.

Keywords: Growth, germination, seedlings, PEG-6000, drought, wheat.

---

## INTRODUCCIÓN

En la agricultura tradicional en la región oriental de Cuba, 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, según Sotolongo (2003), las provincias orientales cuentan con un elevado índice de tierras afectadas.

Ante dicha situación, se están evaluando diferentes especies y cultivares de planta con el propósito de seleccionar las de mejor respuesta frente al estrés y establecer atributos agronómicos y fisiológicos que contribuyan a la tolerancia a la sequía en las plantas cultivadas. (Moreno *et al.*, 2001)

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 periodos 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. (Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2003)

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 rehidratación, mecanismos de reparación (membranas, proteínas y ADN), elongación celular y aparición de la radícula (Maldonado, 2002); los potenciales hídricos bastante negativos que se presentan en los suelos en periodos de sequía impiden la absorción de agua, afectando la secuencia de eventos involucrados en el proceso de germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas. (Silmara and Juliano, 2004)

Fue objetivo del 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 mejoras encaminados en esta dirección.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron semillas de las variedades de trigo Cuba-C-204 e INIFAT RM-36, las cuales se

colocaron a germinar en placas de Petri con tres capas de papel de filtro y se humedecieron con 15 mL de una solución de PEG-6000 (Polyetilen glycol, P.M. 6000) para simular el estrés hídrico, según el método de Michel y Kauffman (1973), 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 7 días se evaluó el porcentaje de germinación (G) y a los 15 días se evaluaron la altura de las plántulas (AP), la longitud de la raíz (LR) y la acumulación de biomasa fresca (MF) y seca (MS) en cinco plántulas por repetición, para un total de 25 plántulas por tratamiento.

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 a la fórmula descrita por González (1992) 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 1), lo que señala que a medida que aumenta el estrés de sequía, se afecta 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.

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 por sequía, lo que coincide con lo señalado por Nagafabadi *et al.* (2003).

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. (Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2003)

En relación con esta respuesta, Carles (2002), expone 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.

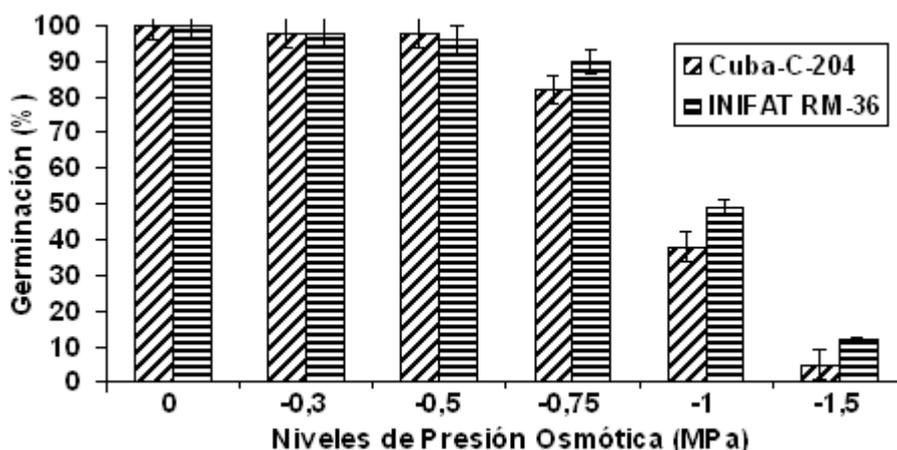
El porcentaje de germinación disminuyó con el incremento de la presión osmótica de las soluciones

de PEG-6000 en las dos variedades estudiadas, siendo estadísticamente significativos 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. (Silmará and Juliano, 2004)

Tal respuesta coincide con lo observado por Heidary and Heidary (2002); Bayuelo-Jiménez *et al.* (2003); Nagafabadi *et al.* (2003) y Morgan (2004) en trigo y por Maldonado *et al.* (2002) y Aparecida and Zambillo (2003) en otros cultivos, los cuales señalaron que los potenciales hídricos bastante negativos impiden la absorción de agua, provocando afectaciones en las secuencias de eventos involucrados en el proceso de germinación.

**Tabla 1. 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> (%)	P.O 50 % (Bars) (Mpa)
<b>Cuba-C-204</b>				
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
<b>INIFAT RM-36</b>				
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



**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, la longitud de la raíz y la 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 ob-

servado en este cultivo por Heidary and Heidary (2002) y Nagafabadi *et al.* (2003), quienes señalaron que el efecto del PEG-6000 pudiera ser explicado por el déficit hídrico que produce en los tejidos foliares en crecimiento, al disminuir la turgencia de las células y por cambios en la permeabilidad de las membranas.

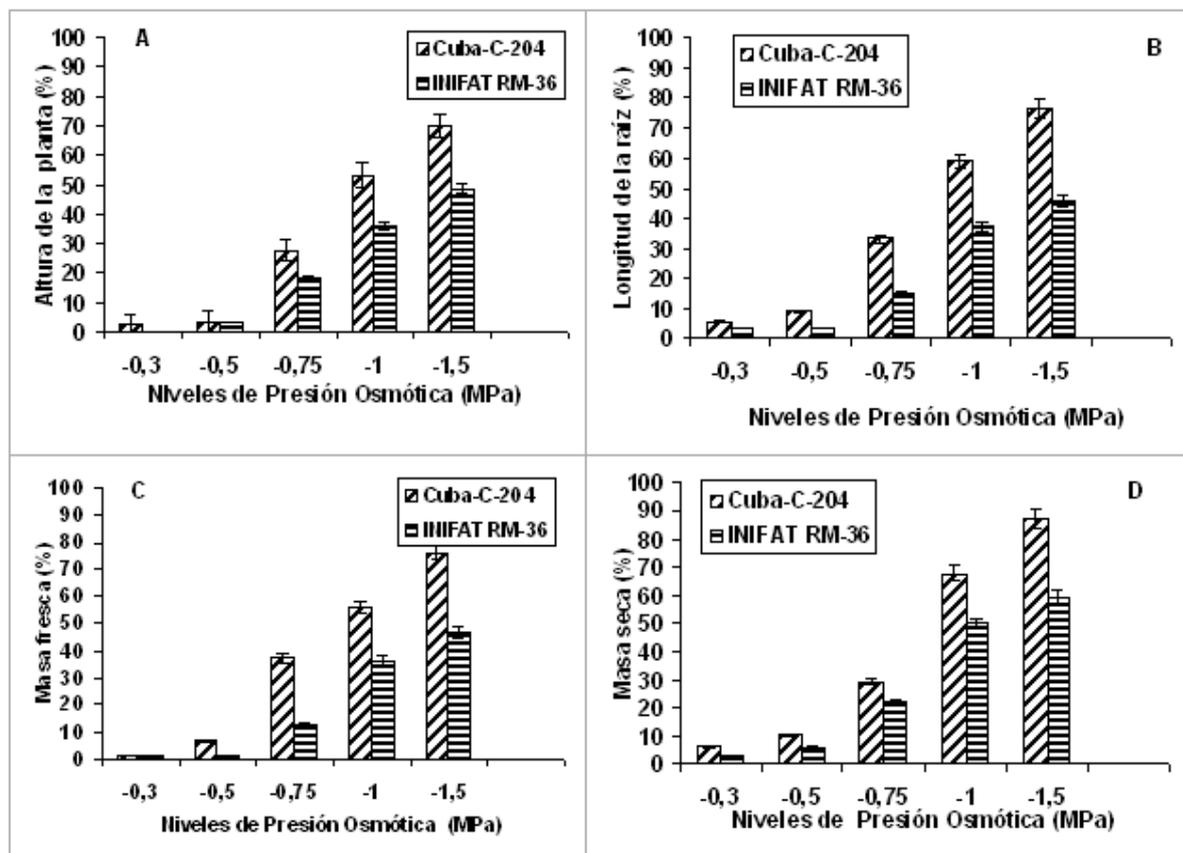


Figura 2. Inhibición del crecimiento y la acumulación de biomasa en las plántulas de dos variedades de trigo por efecto del PEG-6000

Las diferencias entre variedades observadas en a la germinación y el crecimiento de las plántulas, indican la utilidad potencial que pueden tener los mismos para la selección de materiales tolerantes a la sequía. Al respecto, Nagafabadi *et al.* (2003) han indicado que la varianza aditiva para el porcentaje de germinación, la altura y la longitud de la raíz de las plántulas cultivadas en soluciones de PEG-6000 fue mucho mayor que la varianza dominante, lo que indica la eficiencia de su uso en las generaciones segregantes. Este aspecto es de gran importancia, pues de acuerdo con Ogbonnaya *et al.* (2003), los éxitos de la evaluación de la tolerancia a la sequía en campo son bajos, laboriosos y proveen resultados muy variables; constituyendo los métodos de

laboratorio 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. (Silmará and Juliano, 2004)

Por otra parte, Heidary and Heidary (2002), Aparecida and Zambillo (2003) y Silmará y Juliano (2004), han señalado que, para simular 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.

## CONCLUSIONES

1. 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.
2. Se observó una respuesta diferenciada de las variedades frente al estrés, destacándose la variedad INIFAT RM-36, como la más tolerante en cuanto a germinación y crecimiento de las plántulas, indicando además la utilidad potencial que pueden tener los mismos para la selección de materiales tolerantes a la sequía en las etapas tempranas de los programas de mejora.

## BIBLIOGRAFÍA

- APARECIDA, M. E. AND S. ZAMBILLO DE PINHO: "Germination of *Senra occidentales* link: Seed at different osmotic potential levels", 46(2): 38-43, 2003.
- BAYUELO-JIMÉNEZ, J.; D.G. DEBOUCK AND J. PLYNCH: "Seed priming winter wheat for germination, emergence and yield", 43: 2135-2141, 2003.
- CARLES, C.; W. BIES-ETHEVE; L. ASPART; K.M. LEON-KLOOSTERZIALE ET AL.: "Regulation of *Arabidopsis thaliana* Em genes: role of AB<sub>15</sub>", 30: 373-383, 2002.
- GAO, M. AND A. M. SCHOWALTER: "Immunolocalization of LeAGP-1, a modular arabinogalactan-protein, reveals its developmentally regulated expression in tomato", 210: 865-874, 2000.
- GONZÁLEZ, L. M.: "Influencia de diferentes tipos de sales sobre el crecimiento de las plántulas de arroz durante la germinación", 25: 137-139, 1992.
- HALL, Q. M.C. CANNON: "The cell wal hydroxyproline-rich glycoprotein RSH is essential for normal embryo development in *Arabidopsis*", 14: 1161-1172, 2002.
- HEIDARY, R. AND M. HEIDARY: "Evaluation of resistance for salinity, drought, cold and pH changes in four Iranian wheat cultivars", 9(1): 32-38, 2002.
- LU, H .M. AND A. M. SCHOWALTER: "Developmental expression and perturbation of arabinogalactan-protein during seed germination and seedling growth in tomato", *Physiologia Plantarum*, 112: 442-450, 2001.
- MALDONADO, C.; E. OUJADO Y F. SQUEO: "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", 75: 651-660, 2002.
- MICHEL, B. F. Y M. R. KAUFFMAN: "The osmotic potential of polyethylene glycol-6000", *Plant Physiology* 51: 914-916, 1973.
- 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* 22(1): 27-30, 2001.
- MORGAN, J.: "Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat", 34 (6): 607-614, 2004.
- NAGAFABADI, M. F.; M. R. GHANADHA; A .A. ZALI AND B. YAZDI: Inheritance of bread wheat seed germination at drought conditions, *et al.* In <http://www.treebuotech.com/2003/noonod.se/s10-p.htm>.
- OGBONNAYA, C.I.; B. SARR; C. BROU; O. DIOUF: "Selection of Cowpea genotypes in hydroponics, pots, and field for drought tolerance", 43: 1114-1120, 2003.
- SILMARA, C. F. AND S. C. JULIANO: "Processo germinativo de sementes de Paneira sob estresses hídrico e salino", *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 39(9): 24-31, 2004.
- Sotolongo, J. A.: "Guantánamo vs. Desertification. Energía y Tu", *Revista Científico-Popular Trimestral de CUBASOL* 23: 12-14, 2003.

Recibido: 20/diciembre/2006

Aceptado: 12/febrero/2007