

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL.  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

EFFECTO DE LA TIOUREA Y DE LA QUINETINA SOBRE LA  
GERMINACIÓN Y LA PRODUCCIÓN DE ETILENO EN SEMILLAS  
TERMOINHIBIDAS DE *CICER ARIETINUM L.*

Gallardo, M. y Sánchez-Calle, I. M.

RESUMEN

Se estudió el efecto de la tiourea y de la quinolina sobre la emergencia radicular y sobre la producción de etileno en semillas de *Cicer arietinum L.*

La tiourea (50 mM) y la quinolina (10  $\mu$ M) son capaces de contrarrestar los efectos inhibitorios de las altas temperaturas con respecto al porcentaje de germinación. Las altas temperaturas y la tiourea disminuyen la producción de etileno, mientras que la quinolina la estimula.

SUMMARY

The effect of thiourea and kinetin on radicle emergence and ethylene production in *Cicer arietinum L.* seeds has been studied.

Thiourea (50 mM) and kinetin (10  $\mu$ M) applied exogenously are able to overcome the inhibitory effects of supraoptimal temperatures in relation to the germination percentage. Both higher temperatures and thiourea decrease ethylene production, however kinetin increases it.

INTRODUCCIÓN

Las semillas germinan a una cierta temperatura óptima, por encima de la cual, la germinación puede ser retrasada o inhibida, fenómeno conocido como termoinhibición (1,6). Esta inhibición puede ser revertida por varias fitohormonas, una de las cuales, el etileno, es producido en pequeña cantidad por algunas semillas termoinhibidas (1,9).

La temperatura óptima de germinación para semillas de *Cicer arietinum* es de 25° C y temperaturas mayores a éste, retrasan la emergencia radicular y la capacidad para el intercambio de iones en el eje embrionario (8). La tiourea es capaz de contrarrestar los efectos inhibitorios provocados por las altas temperaturas, debido a que incrementa

la absorción de  $K^+$  en el eje embrionario (2). En presencia de tiourea debe haber una movilización de las reservas de  $K^+$  y otros iones, desde los cotiledones hasta el eje embrionario, lo cual da lugar a un crecimiento más rápido de este órgano (8).

Diversas sustancias con actividad citoquinínica promueven la germinación y eliminan la dormición de las semillas, siendo esta actividad, en algunas especies, un requisito para la germinación (5,4). Las citoquininas aumentan la producción de etileno, tanto endógena como inducida por auxinas, en distintos órganos vegetales de muchas especies (5,16). En semillas, la citoquininas rompen la dormición, pero su efecto sobre la producción de etileno en semillas no durmientes no ha sido suficientemente estudiado.

En este trabajo, se estudia el efecto de la tiourea y de la quinetina, sobre la germinación de semillas de garbanzo, así como sobre la producción de etileno, a la temperatura óptima y supraóptima.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas de *Cicer arietinum* cv. Castellana, suministradas comercialmente y almacenadas a 4° C hasta el momento de su utilización.

Las semillas fueron lavadas en agua estéril e incubadas en lotes de 50 a 25° C, 30° C ó 35° C durante un mínimo de 6 h y un máximo de 24 h., en bandejas de plástico que contenían 175 ml. de agua estéril o de la correspondiente solución de tiourea o quinetina.

El porcentaje de germinación se midió a todos los tiempos y temperaturas, tomando como criterio la emergencia de la radícula.

Transcurrido el tiempo de germinación deseado, se separaron manualmente los ejes embrionarios y se les midió el etileno desprendido mediante cromatografía gaseosa según el método descrito por Sánchez-Calle y Matilla (14).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La temperatura óptima de germinación para semillas de *Cicer arietinum* es de 25° C; temperaturas de 30 y 35° C inhiben la germinación (Figs. 1A, B y C), un efecto conocido como termoinhibición (1,6). De forma paralela las temperaturas supraóptimas disminuyen la producción de etileno (Figs. 2A, B y C).

Rao *et al.* (12) encontraron que las citoquininas y etileno contrarrestan la termoinhibición en semillas de lechuga, aunque de acuerdo con Abeles (1), el etileno es inefectivo o menos efectivos que las citoquininas en revertir la termoinhibición en estas semillas. En nuestros experimentos con semillas de garbanzo, sin embargo, la presencia de quinetina (10  $\mu$ M) en el medio sólo causó un pequeño incremento en el porcentaje de germinación a 25° C y 30° C y un poco mayor a 35° C (Figs. 1A, B y C). Además, hemos observado un sustancial incremento en la producción de etileno

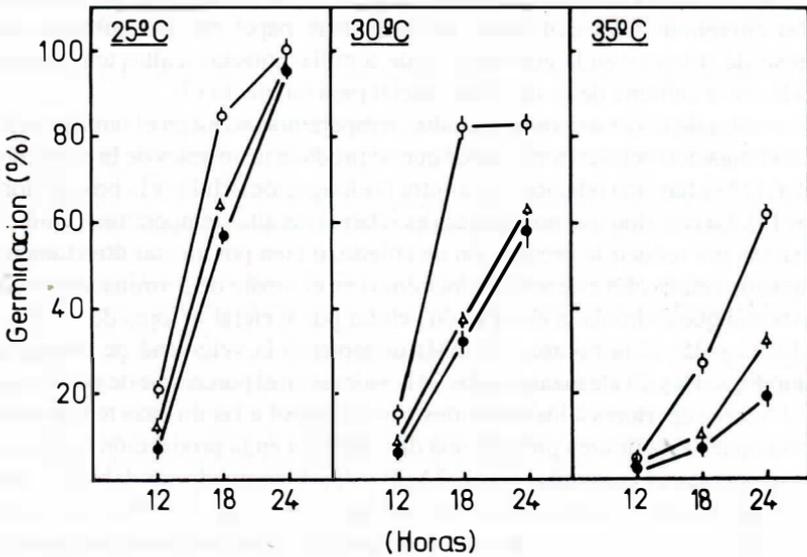


Fig. 1 Porcentaje de germinación de semillas de *Cicer arietinum* a diferentes temperaturas en agua (●-●), tiourea (50 mM) (○-○) y quineta (10 μM) (Δ-Δ). Cada punto es la media de tres repeticiones ± DE (barras verticales).

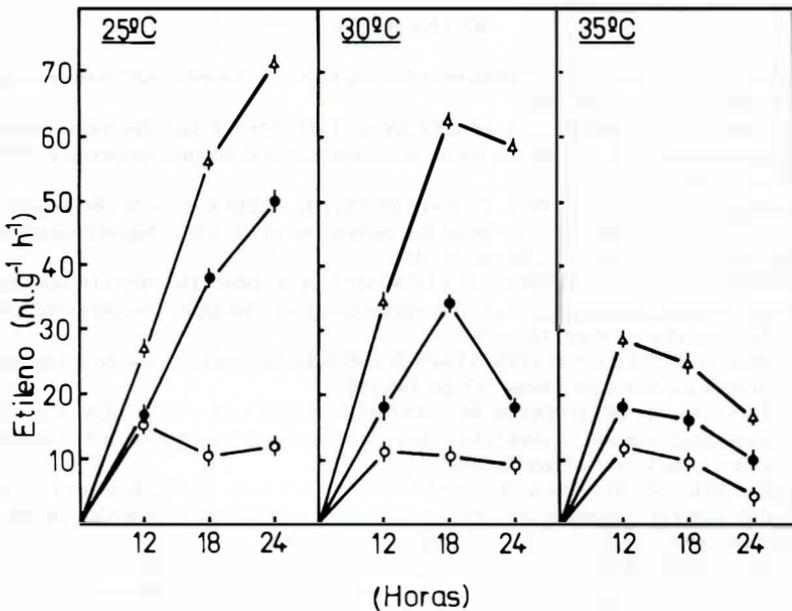


Fig. 2 Producción de etileno por ejes embrionarios de semillas de *Cicer arietinum* a diferentes temperaturas en agua (●-●), tiourea (50 mM) (○-○) y quineta (10 μM) (Δ-Δ). Cada punto es la media de tres repeticiones ± DE (barras verticales).

a las tres temperaturas probadas (Figs. 2A, B y C). De acuerdo con Khan y Prusinski (10), las citoquininas pueden jugar un importante papel en la regulación de la biosíntesis de etileno y en la germinación de semillas intactas a altas temperaturas, pudiendo ser la cubierta de la semilla esencial para tal efecto (7).

En semillas de *Cicer arietinum* las altas temperaturas reducen el tamaño celular (13). La elongación celular es una señal que se produce justo antes de la emergencia radicular, (13) y hay una relación clara entre la elongación celular y la producción de etileno (15). La cuestión que nos interesa es saber si las altas temperaturas inhiben la germinación por reducir la producción de etileno, o bien por afectar directamente a la elongación celular. En este sentido incluimos en el medio de germinación tiourea, una sustancia que estimula la elongación celular por acelerar la toma de  $K^+$  (10,8).

A 30° C y 35° C la tiourea (50 mM) incrementó la velocidad de emergencia radicular (Figs. 1B y C) alcanzando a las 24 h. valores en el porcentaje de germinación 1,4 y 3,1 veces superiores a los obtenidos por el control a las mismas temperaturas. De forma opuesta, la tiourea produjo una disminución en la producción de etileno a las tres temperaturas ensayadas (Figs. 2A, B y C). Esto puede ser debido a que la tiourea es una sustancia secuestradora de radicales libres, que son esenciales para la actividad EFE (3), por lo que en presencia de tiourea, si bien aumenta la elongación, al estar afectando negativamente la actividad EFE, la producción de etileno quedaría inhibida.

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) ABELES, F. B. (1986). Role of ethylene in *Lactuca sativa* cv. "Grand rapids" seed germination. *Plant Physiol.* 81: pp. 780-787.
- (2) ALDASORO, J. J., MATILLA, A. y NICOLÁS, G. (1981). Effect of ABA, fusicocin and thiourea on germination and  $K^+$  an glucose uptake in chickpea seeds at different temperatures. *Physiol. Plant.* 53: pp. 139-145.
- (3) APELBAUM, A., BURGOON, A. C., ANDERSON, J. D., LIEBERMAN, M., BEN-AIRE, R. y MATTOO, A. K. (1981). Polyamines inhibits biosynthesis of ethylene in higher plant tissue and fruit protoplasts. *Plant Physiol.* 68: pp. 453-456.
- (4) BIDDINGTON, N. L., THOMAS, T. H. y DEARMAN, A. S. (1980). The effect of temperature on the germination promotion activities of sytoquinin and gibberellin applied to celery seeds (*Apium graveolens*). *Physiol. Plant.* 49: pp. 68-70.
- (5) BLACK, H., BEWLEY, J. D. y FOUNTAIN, D. (1974). Lettuce seed germination and cytokinins. Their entry and formation. *Planta.* 117: pp. 145-152.
- (6) GALLARDO, M., DELGADO, M. M., SÁNCHEZ-CALLE, I. M. y MATILLA, A. J. (1991). Ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid conjugation in thermoinhibited *Cicer arietinum* L. seeds. *Plant Physiol.* 97: pp. 122-127.
- (7) GALLARDO, M., MATILLA, A. y SÁNCHEZ-CALLE, I. M. (1992). Effects of spermine, abscisic acid and temperature upon ethylene production in *Cicer arietinum* seeds. *Plant Physiol. Biochem.* 30 (1): pp. 1-9.
- (8) HERNÁNDEZ-NISTAL, J., ALDAROSO, J., RODRÍGUEZ, D., MATILLA, A. y NICOLÁS, G. (1983). Effect of thiourea on the ionic content and dark fixation of  $CO_2$  in embryonic axes of *Cicer arietinum* L. seeds. *Physiol. Plant.* 86: pp. 441-446.
- (9) KHAN, A. A. y HUANG, X. (1988). Synergistic enhancement of ethylene production and germination with kinetin and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in lettuce seeds exposed to salinity stress. *Plant Physiol.* 87: pp. 847-852.

- (10) KHAN, A. A. y PRUSINSKI, J. (1989). Kinetin enhanced 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid utilization during alleviation of high temperatures stress in lettuce seeds. *Plant Physiol.* 91: pp. 733-737.
- (11) MARRE, E. (1979). Fusicoccin: a tool in plant physiology. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 30: pp. 273-278.
- (12) RAO, V. S., SANKHLA, N. y KHAN, A. A. (1975). Additive and synergistic effects of kinetin and etrel on germination, thermodormancy and polyribosome formation in lettuce seeds. *Plant Physiol.* 56: pp. 268-266.
- (13) RODRÍGUEZ, D., MATILLA, A., ALDASORO, J., HERNÁNDEZ-NISTAL, J. y NICOLÁS, G. (1983). Germination of *Cicer arietinum* seeds and thioruea-induced phytotoxicity. *Physiol. Plant.* 57: pp. 267-272.
- (14) SÁNCHEZ-CALLE, I. M. y MATILLA, A. (1989). The alteration by abscisic acid of ethylene production in germinating *Phaseolus vulgaris* L. seeds together with the effects of kinetin and the seed coat. *Agr. Med.* 119: pp. 18-26.
- (15) SÁNCHEZ-CALLE, I. M., DELGADO, M. M., BUENO, M., DÍAZ-MIGUEL, M. y MATILLA, A. (1989). The relationships between ethylene production and cell elongation during the initial growth period of chickpea seeds *Cicer arietinum*. *Physiol. Plant.* 76: pp. 569-574.
- (16) WRIGHT, S. T. C. (1980). The effect of plant growth regulator treatments on the levels of ethylene emanating from excised turgid and wilted wheat leaves. *Planta.* 148: pp. 381-388.