

EFFECTO DEL ESTRÉS OSMÓTICO SOBRE LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS Y EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.) Y AMARANTO (*Amaranthus hypochondriacus* L.)

EFFECT OF OSMOTIC STRESS ON SEED GERMINATION AND SEEDLING GROWTH OF WHEAT (*Triticum aestivum* L.) AND AMARANTH (*Amaranthus hypochondriacus* L.)

Juan Legaria Solano¹, Georgina Ponce Romero² y Abel Muñoz Orozco³

RESUMEN

Se evaluó el efecto de diferentes potenciales osmóticos (Ψ s): 0, -0.05, -0.1, -0.2, -0.4, -0.8 y -1.6 Megapascals (MPa) sobre la absorción de agua, la germinación y el crecimiento de semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.). Se analizó también la síntesis y degradación (disminución o desaparición) de proteínas bajo estrés osmótico. Las semillas de trigo y amaranto crecidas a Ψ s de 0 MPa absorben 94-95 % de su peso como agua a las 72 h de tratamiento, mientras que a un Ψ s de -1.6 MPa, el peso se incrementó únicamente 30 % y 20 % para el trigo y el amaranto, respectivamente. Independientemente del Ψ s aplicado, más del 50 % de la absorción de agua ocurre entre las 0 y 24 h en las semillas de trigo y entre las 0 y 12 h para las semillas de amaranto evaluadas en un período de 72 h. La sensibilidad de ambas especies al Ψ s ejercido por el NaCl es diferente, ya que un Ψ s de -0.8 MPa inhibe la germinación de semillas de trigo, pero el impacto sobre el crecimiento de la plántula es de diferente magnitud. Por otro lado, las semillas de amaranto germinan aún a Ψ s de -1.6 MPa, aunque no hay desarrollo posterior de la plántula. En trigo, la presencia de NaCl inhibe la síntesis de la mayoría de las proteínas presentes en la semilla germinada en condiciones normales, y en amaranto un Ψ s de -1.6 MPa mimetiza el patrón proteico de la semilla seca. El NaCl evita la movilización (utilización-degradación) de las proteínas de almacenamiento en semillas de amaranto.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES

Triticum aestivum L., *Amaranthus hypochondriacus* L., potencial osmótico, síntesis y degradación de proteínas, absorción de agua.

SUMMARY

The effect of different osmotic potentials (Ψ s): 0, -0.05, -0.1, -0.2, -0.4, -0.8 and -1.6 MPa on water absorption, seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) and amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.), was studied, and also synthesis and degradation (decrease or disappearance) of proteins under these conditions were analyzed. Wheat and amaranth seeds at 0 MPa absorb 94-95 % of their weight as water in 72 h, whereas at -1.6 MPa 30 % and 20 % of increase was observed for wheat and amaranth, respectively. Moreover, more than 50 % of water absorption occurs between 0-24 h for wheat and 0-12 h for amaranth seeds, independently of the Ψ s applied. At -0.8 MPa seeds germination was inhibited in wheat, although the effect on plant growth is not equally affected. On the other hand, amaranth seeds germinated even at -1.6 MPa, but there was not further seedling growth. The protein synthesis that is usually found in the germinating wheat seeds under normal conditions was inhibited by NaCl, but in amaranth an Ψ s of -1.6 MPa mimics the protein pattern proper of the dry seed. Finally, NaCl avoided mobilization (utilization-degradation) of storage proteins in amaranth seeds.

- 1 Universidad Autónoma Chapingo. Depto. de Fitotecnia. Km. 38.5 Carret. México-Texcoco. C.P. 56230 Chapingo, Edo. de México. Tel. y Fax: 01(595) 2-1500 y 2-1642.
- 2 Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biotecnología. Av. Universidad 2001, Chamilpa. C.P. 62210 Cuernavaca, Mor. Tel. y Fax: 01(73)29-1658 Y 17-2388.
- 3 Colegio de Postgraduados. IREGEP. Km. 36.5 Carret. México-Texcoco. C.P. 56230 Montecillo, Estado de México. Tel. y Fax: 01(595) 2-0200 y 2-0262

Fecha de recepción: 11 de Octubre de 1999.

Fecha de aprobación: 2 de Mayo del 2000.

ADDITIONAL INDEX WORDS

Triticum aestivum L., *Amaranthus hypochondriacus* L., osmotic potential, protein synthesis and degradation, water absorption

INTRODUCCIÓN

Durante la evolución, los seres vivos han estado sujetos a la presión de selección debida a un ambiente cambiante. El estrés osmótico ya sea como producto de la escasez de agua, de la salinidad de los suelos o de bajas temperaturas representa uno de los estreses más severos, limitante del crecimiento y productividad de las plantas (Boyer, 1982; Ashraf, 1994). Las plantas y otros organismos han desarrollado diversas estrategias adaptativas para contrarrestar los efectos del estrés osmótico.

La formación de una semilla y su germinación constituyen fenómenos adaptativos únicos en el ciclo de vida de las plantas superiores. Involucran el desarrollo del embrión y median varios procesos fisiológicos para asegurar la supervivencia de la planta en la próxima generación. Durante la formación de la semilla se acumulan las sustancias de reserva (proteínas, carbohidratos y lípidos), aunado a un incremento en los niveles de ácido abscísico (ABA) durante la embriogénesis intermedia y la pérdida del contenido de agua durante la embriogénesis tardía. Una vez formada, en la gran mayoría de las especies, la semilla pasa a un estado de desecación y posteriormente de latencia hasta el momento de la germinación.

La germinación consiste en la reanudación de la actividad metabólica y el crecimiento activo de los tejidos del embrión, lo que resulta en la ruptura de la cubierta de la semilla y la emergencia de una plántula. En orden secuencial, la germinación involucra la rehidratación, la utilización de las reservas y la formación de las estructuras de síntesis que permitirán a la plántula asumir un modo autótrofo de existencia (Murphy y Thompson, 1988; Kermode, 1990; King, 1991). En términos bioquímicos la germinación es el resultado de procesos catabólicos y anabólicos contrastantes. Los primeros ocurren en los órganos de almacenamiento (endospermo en plantas monocotiledóneas y cotiledones en dicotiledóneas) y consisten en la

degradación y movilización de las macromoléculas de reserva. Los segundos se efectúan en los ejes embrionarios e incluyen la síntesis de macromoléculas, componentes estructurales como membranas y paredes celulares, para generar nuevas células y tejidos durante el crecimiento (Dure, 1975; Kermode, 1990).

La exposición de las semillas a concentraciones altas de cloruro de sodio (NaCl) u otros agentes osmóticos puede bloquear su habilidad germinativa al inducir cambios en actividades metabólicas asociadas a diferentes fases del proceso de germinación (Bewley y Black, 1994; Bewley, 1997; Garcíarrubio *et al.*, 1997).

Se han realizado algunos intentos para estudiar la regulación de la síntesis de proteínas en semillas bajo estrés osmótico o tras la estimulación con ABA. En ejes embrionarios de chícharo mantenidos en polietilenglicol (PEG), la tasa de síntesis de proteínas decae para después incrementarse al imbibirlos en agua (Dell'Aquila y Bewley, 1989). En presencia de este mismo agente osmótico, no se sintetizan las llamadas "proteínas específicas del crecimiento". En otros estudios, Dell'Aquila y Spada (1992) indican que el PEG puede reducir la toma de agua y la síntesis de proteínas en semillas de trigo, lo que sugiere que el estrés osmótico puede afectar procesos bioquímicos involucrados en la emergencia de la radícula.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto que tiene el potencial osmótico ejercido por el NaCl sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.), haciendo énfasis en el posible control que ejerce sobre la síntesis y degradación de las proteínas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó de septiembre de 1998 a julio de 1999. Los experimentos se realizaron

dos veces, incluyendo dos repeticiones cada uno.

Material vegetal. Se utilizaron semillas de trigo de la Colección 1748 (Legaria y Muñoz, 1992) y semillas de amaranto cv. Azteca.

Reactivos. Blanqueador Cloralex (comercial), papel Whatman 3MM (Whatman), cloruro de sodio, acetato de sodio, metanol, ácido acético (J.T.Baker), Tris (Hidroximetil) aminometano, sal disódica de lauril sulfato (SDS), glicerol, β -mercaptoetanol, azul de bromofenol, acrilamida, bis-acrilamida, glicina (Sigma) y azul de Coomassie (ICN).

Condiciones de crecimiento. Las semillas se desinfectaron con blanqueador Cloralex a 10 % (v/v) durante 5 minutos y se enjuagaron durante 10 minutos con agua destilada antes de ponerlas a germinar en cajas de Petri sobre papel Whatman 3MM humedecido con agua o soluciones de NaCl para proporcionar potenciales osmóticos (Ψ_s) de 0 (control), -0.05, -0.1, -0.2, -0.4, -0.8 y -1.6 MPa, a temperatura ambiente, durante un período de 0 a 8 días según el diseño del experimento. El Ψ_s del agua destilada fue considerado igual a cero MPa. Los potenciales osmóticos de las soluciones se calcularon utilizando la ecuación de J.H. Vant'Hoff:

$$\text{Potencial osmótico } (\Psi_s) = -CiRT$$

Donde:

C, concentración de la solución expresada en molalidad (moles de soluto por kg de solvente).

i, constante de ionización del soluto y otras variaciones respecto a la ley de las soluciones ideales (para el NaCl= 1.8).

R, constante de los gases (0.00831 kg x MPa /mol x °K).

T, temperatura absoluta (°K) (Salisbury and Ross, 1992).

Evaluación de la germinación. Las muestras fueron de 25 semillas. Las semillas con la radícula emergida se consideraron como germinadas. Las mismas muestras se contaron a diferentes tiempos después de someterlas a condiciones de humedad, como se indica en cada experimento.

Tasa de crecimiento. Después de 3 y 7 días de la imbibición se midió la longitud de los ejes radicular y foliar en milímetros (mm).

Evaluación de la tasa de absorción de agua. Diez semillas de trigo y 0.1 g de semillas de amaranto se imbibieron en soluciones salinas como se indicó anteriormente. Después de 0, 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas, se determinó la cantidad de agua (en gramos) absorbida. Al término de cada intervalo de tiempo las semillas se sacaron de las soluciones, se secaron con papel filtro y se pesaron. La cantidad de agua absorbida se obtuvo por diferencia de peso y se refirió como cambio en porcentaje del peso seco inicial de las semillas.

Extracción de proteínas. Para todos los tratamientos se realizó la extracción de proteínas totales. Las proteínas de trigo fueron extraídas utilizando un amortiguador de acetato de sodio 0.1 M y las proteínas de amaranto con una solución amortiguadora compuesta por: Tris 0.75 M, pH6.8; SDS a 10 % (p/v), glicerol a 10 % (v/v), β -mercaptoetanol a 5 % (v/v) y azul de bromofenol a 1 % (p/v). La semilla o la plántula en su caso se maceró en frío a 4 °C en un tubo eppendorf. La concentración de las proteínas de trigo se cuantificó por el método de Bradford (1976).

Electroforesis unidimensional. La electroforesis se realizó en geles planos (10 x 8 cm y 0.75 mm de espesor) de SDS-poliacrilamida 10 % (p/v), preparados de acuerdo al método descrito por Laemmli (1970). En general se aplica-

ron 20 μ g de proteína por carril en proporción 1:1 con colorante de carga (Tris 1.5 M pH 6.8, SDS 20 % (p/v), β -mercaptoetanol 10 % (v/v), azul de bromofenol 2 % (p/v) y glicerol 20 % (v/v)). La electroforesis se realizó en una cámara marca Hoefer utilizando como buffer de corrida: Tris base 0.025 M, glicina 0.192 M y SDS 0.1 % (p/v) y se corrió a 100 V durante 3 horas a temperatura ambiente. Terminada la electroforesis el gel se tiñó durante una hora en solución de azul de Coomassie 0.1 % (p/v), metanol 50 % (v/v) y ácido acético 10 % (v/v); el fondo del gel se destiñó con metanol 30 % (v/v) y ácido acético 10 % (v/v).

RESULTADOS

Evaluación de la germinación. En trigo, la aplicación de un Ψ_s de -0.8 y -1.6 MPa bloquea la germinación de las semillas evaluadas a los 3 días, mientras que con Ψ_s entre -0.4 y -0.1 MPa la disminución es de aproximadamente 50 % con respecto al control (0 MPa). A los 7 días más de 50 % de las semillas germinan bajo potenciales osmóticos de -0.2 y -0.1 MPa, y solamente 25 % a -0.8 y -0.4 MPa. El potencial osmótico de -0.05 MPa no altera el proceso de la germinación (Figura 1).

En amaranto, ninguno de los potenciales osmóticos utilizados bloquea la germinación de las semillas; sin embargo, el leve estrés ejercido por un Ψ_s de -0.05 MPa provoca la disminución de 50 y 70 % en la germinación, evaluada a los 3 y 7 días, respectivamente (Figura 1).

La inhibición de la germinación de las semillas de trigo y amaranto es dependiente del potencial osmótico ejercido por el NaCl.

Tasa de crecimiento. En la Figura 2 se muestra el impacto de los diferentes potenciales osmóticos sobre el crecimiento de la parte aérea y la raíz de plántulas de trigo y amaranto. En el trigo hay crecimiento de la parte aérea aún a potenciales osmóticos de -0.4 MPa, mientras

que en amaranto no se observa crecimiento a -0.1 MPa. En contraste, el amaranto presenta crecimiento de la raíz a -1.6 MPa, potencial osmótico que en trigo bloquea el crecimiento de la raíz.

Evaluación de la tasa de absorción de agua.

Un Ψ_s de -1.6 MPa reduce la toma de agua en aproximadamente dos tercios (30 % de incremento en peso), luego de 72 h de tratamiento, en relación a la cantidad de agua que absorben las semillas de trigo imbibidas a un Ψ_s de 0 MPa (94 % de incremento en peso). La mayor cantidad de agua (más de 50 % del agua total absorbida por las semillas de trigo a través de 72 h) se tomó entre las 0 y las 24 horas, para luego reducirse la tasa de absorción de agua en función del Ψ_s impuesto por el NaCl (Figura 3).

En todos los Ψ_s utilizados se observa un incremento paulatino de la cantidad de agua absorbida por las semillas; sin embargo, a Ψ_s más negativos que -0.1 MPa se manifiesta una fuerte reducción en la tasa de absorción de agua, cuyo menor valor se alcanza bajo un Ψ_s de -1.6 MPa. Este mismo Ψ_s bloquea completamente la germinación de las semillas de trigo, así como el crecimiento de las estructuras del eje embrionario, aún a 7 días después de la imbibición, lo que coincide con la tasa mínima de absorción de agua (Figura 3).

En las semillas de amaranto, la máxima tasa de absorción de agua ocurre entre las 0 y las 12 horas con cualquiera de los Ψ_s utilizados; a 0 MPa las semillas muestran una etapa entre las 12 horas (50 % de incremento en peso) y las 48 horas (60 % de incremento en peso) donde la absorción de agua es mínima (10 %). Más tarde, entre las 48 y 60 horas (93 % de incremento en peso) estas semillas muestran un aumento de 30 % en la toma de agua. El patrón de absorción de agua de las semillas control (0 MPa) hasta las 48 horas, se observa también en las semillas bajo estrés salino; sin embargo, el má-

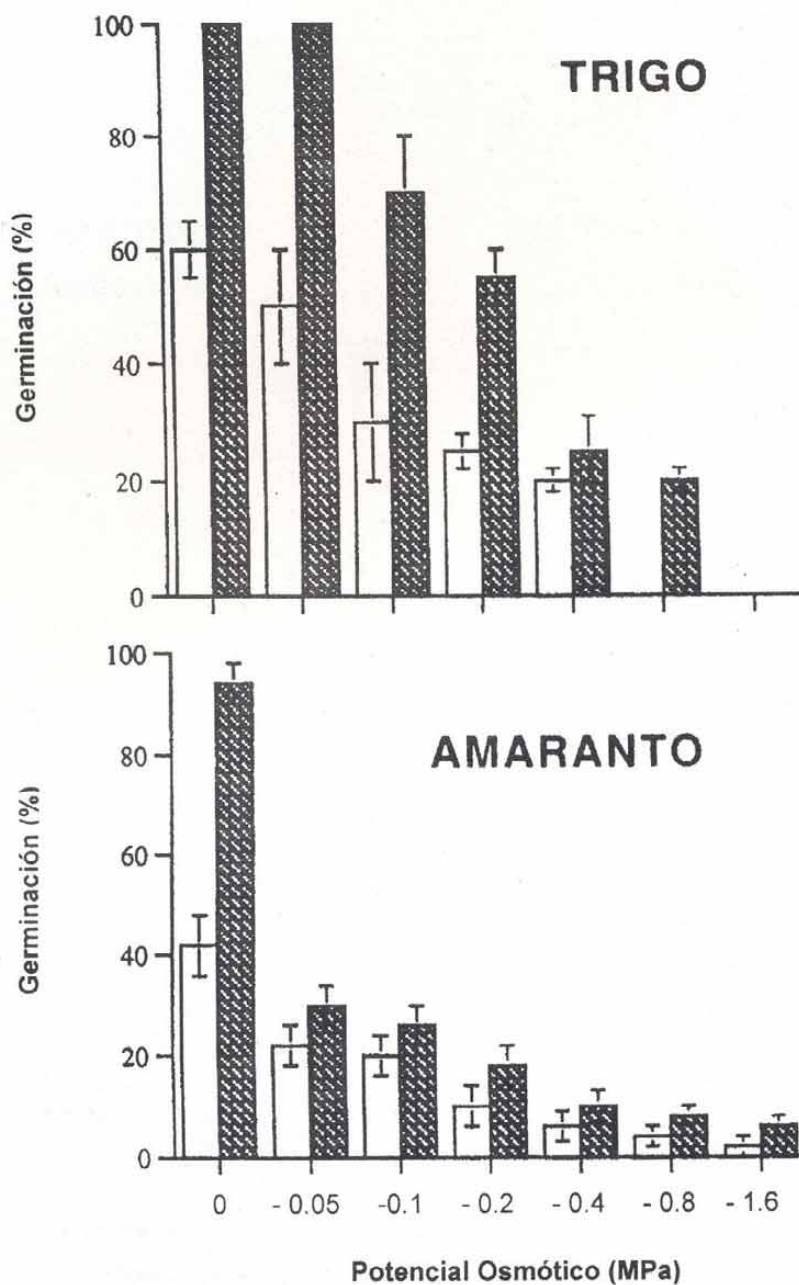


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de trigo y de semillas de amaranto bajo diferentes potenciales osmóticos, evaluados a 3 días (barras blancas) y 7 días (barras negras) después de someterlas a condiciones de humedad.

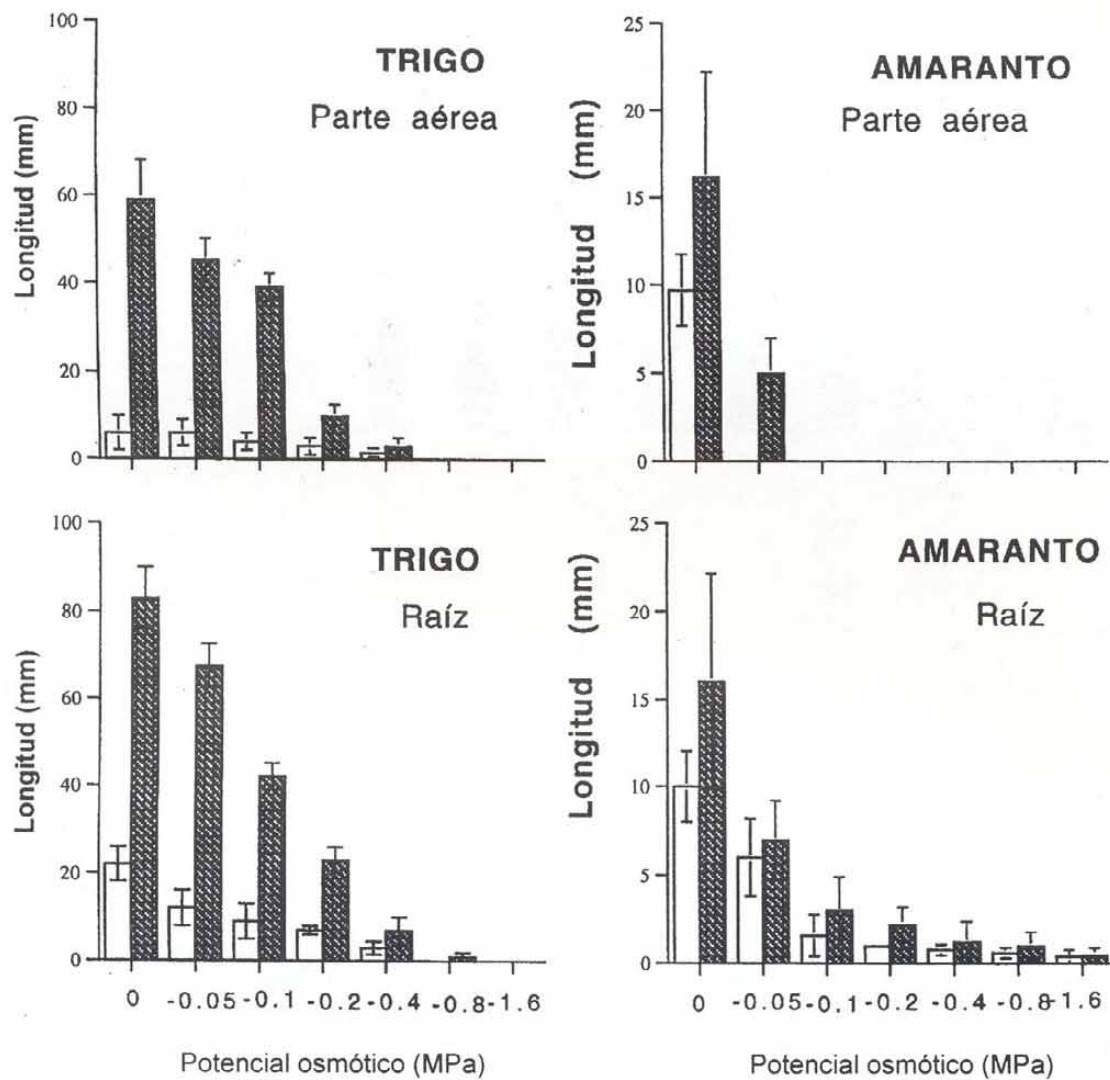


Figura 2. Efecto del potencial osmótico sobre el crecimiento de la parte aérea y de la raíz de semillas de trigo y de amaranto, evaluadas a 3 días (barras blancas) y a 7 días (barras negras) después de someterlas a condiciones de humedad.

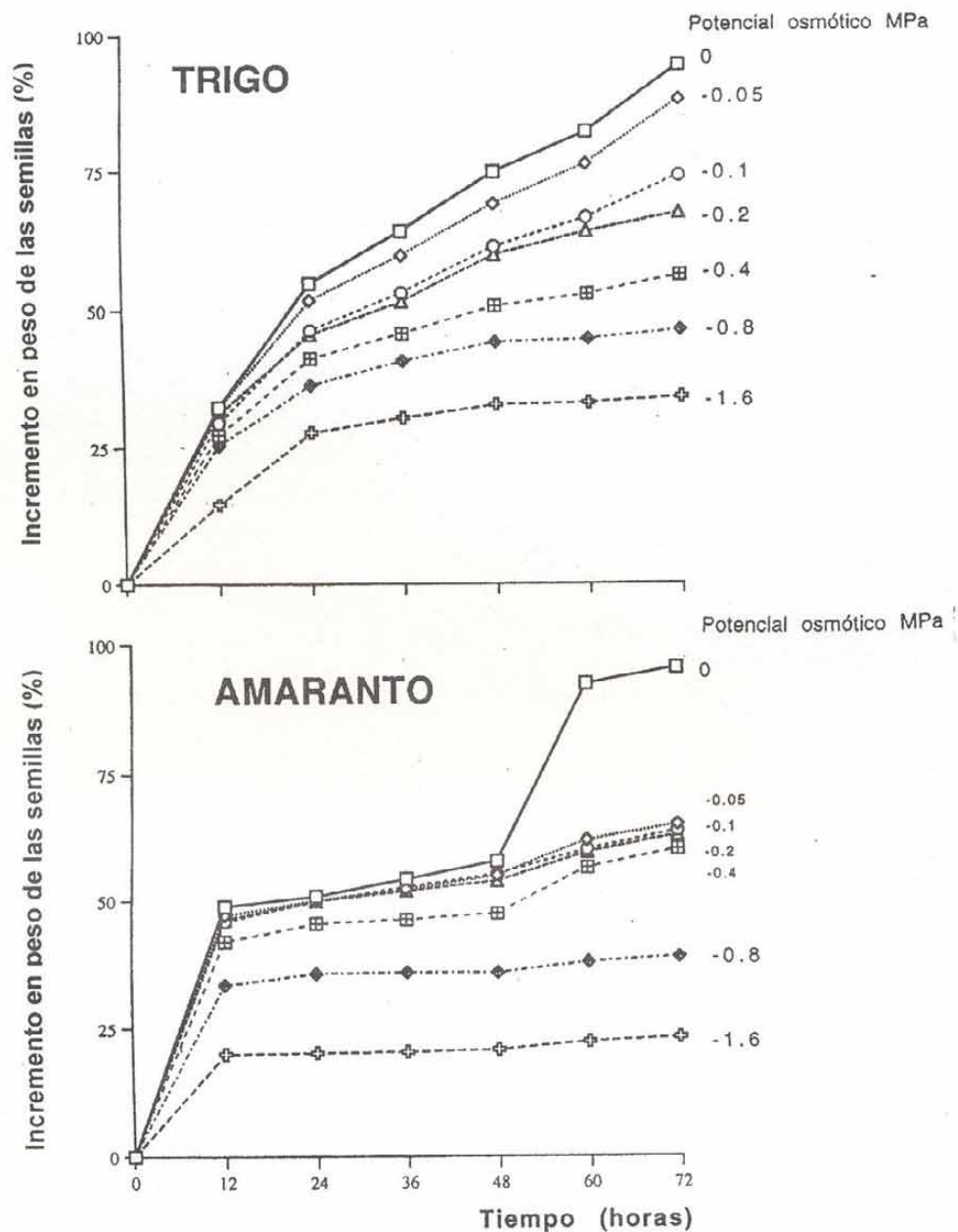


Figura 3. Cinética de toma de agua de semillas de trigo y de semillas de amaranto sometidas a diferentes potenciales osmóticos. Se expresa el porcentaje de incremento en peso con respecto al de la semilla seca antes de la imbibición.

ximo de agua absorbido bajo un leve estrés osmótico de -0.05 MPa alcanza 70 % de incremento en peso comparado con 93 % de las semillas control, mientras que el fuerte estrés salino ejercido por -1.6 MPa provoca un máximo de absorción de agua de solamente 23 % (Figura 3).

Tanto en el trigo como en el amaranto los bajos potenciales osmóticos (-0.8 y -1.6 MPa) inhiben fuertemente la toma de agua, aunque la cinética de ésta es diferente en las 2 especies; por ejemplo, potenciales osmóticos de -0.05 , -0.1 , -0.2 y -0.4 MPa reducen en grado similar la toma de agua por las semillas de amaranto, mientras que en trigo la reducción en la toma de agua guarda una proporción directa con los decrementos en el potencial osmótico (Figura 3).

Análisis del perfil electroforético de proteínas. A un Ψ_s de -1.6 MPa el perfil de proteínas de las semillas de trigo difiere poco del de una semilla seca (Figura 4A) excepto por la acumulación de una proteína de aproximadamente 66 kDa cuya expresión se induce por un Ψ_s de -0.8 MPa; esta proteína, presente en cantidades pequeñas en la semilla seca, responde a un decremento en el Ψ_s y no se encuentra en semillas germinadas a 0 MPa (Figura 4A). A medida que disminuye el Ψ_s , se observa un decremento en la síntesis y la acumulación de las proteínas, de tal manera que a un Ψ_s de 0 MPa se presenta un patrón de proteínas bastante complejo (Figuras 4A y 4B). Al analizar las semillas germinadas a un Ψ_s de 0 MPa durante 1 a 7 días, fue posible observar la acumulación de las proteínas en función del tiempo (Figura 4B), cuyo valor máximo se alcanza a los 7 días después de la siembra. Dentro de este perfil se detecta la síntesis y acumulación de proteínas presentes en la parte aérea y en la raíz y una proteína de aproximadamente 29 kDa que se induce a partir del cuarto día de la imbibición (Figuras 4B y 4C). El NaCl inhibe la síntesis de la mayoría de las proteínas propias de semillas de trigo germinadas.

En la Figura 5A se muestra que los bajos Ψ_s (-1.6 a -0.4 MPa) generados por el NaCl inhiben la utilización de las proteínas de reserva presentes en las semillas de amaranto. Estas proteínas son degradadas durante el proceso normal de la germinación a un Ψ_s de 0 MPa (Figura 5B). La utilización de las proteínas de reserva es mayor a medida que los Ψ_s son permisibles para el proceso germinativo, detectándose solo una fracción de estas proteínas en la raíz y parte aérea de plántulas de 8 días de edad crecidas a un Ψ_s de 0 MPa (Figura 5C).

DISCUSIÓN

Se investigó el efecto de los Ψ_s sobre la germinación, la tasa de crecimiento, la absorción de agua por las semillas y sobre la regulación de la síntesis de proteínas en semillas de trigo y la movilización de las proteínas en semillas de amaranto.

Los resultados sugieren que la respuesta de las semillas al estrés osmótico está relacionada con la capacidad de absorción de agua por el embrión, que presenta un requerimiento mínimo necesario para el inicio de la división y alargamiento celular y la emergencia de la radícula (Hegarty, 1987). Es posible que la cantidad de agua que logran tomar las semillas de trigo imbibidas a un Ψ_s de -1.6 MPa no logre satisfacer el requisito necesario para que se inicie el proceso de germinación. En la Figura 3 se observa que la cantidad de agua (34 %) tomada por las semillas de trigo a las 72 h de ser sometidas a un Ψ_s de -1.6 MPa corresponde apenas a la cantidad de agua absorbida por semillas incubadas durante 12 horas a 0 MPa. Al respecto, Bradford (1990) indica que la fase estacionaria de la toma de agua por el embrión es de fundamental importancia, ya que la germinación en un sentido fisiológico se completa cuando inicia el crecimiento del embrión y la radícula emerge. En las semillas de trigo y amaranto la duración de la fase estacionaria de la toma de agua puede prolongarse por las condiciones del es-

trés hídrico (Dell'Aquila y Spada, 1992). Por otro lado, Schoper y Plachy (1985) indican que la germinación de embriones aislados se suprime frecuentemente al sembrarlos en un medio de cultivo de bajo potencial osmótico o con altas concentraciones de la hormona vegetal ABA. Durante la inhibición de la germinación precoz, tanto el estrés osmótico como el ABA pueden actuar evitando la toma de agua; el estrés osmótico al reducir el gradiente de potencial hídrico y el ABA al evitar el relajamiento de la pared celular por algún mecanismo desconocido.

Conforme avanzan la imbibición, toma de agua y germinación, son necesarios cambios en la expresión de genes que codifican proteínas esenciales para estos procesos y para la iniciación de las siguientes fases de crecimiento de la plántula. Los presentes resultados muestran que el estrés salino altera las vías bioquímicas normales de una semilla en proceso de germinación, expresadas como cambios en los patrones de proteínas. Esto último puede ser el resultado del efecto combinado del estrés osmótico y la toxicidad iónica del NaCl.

En las semillas de trigo sometidas a estrés salino, el bloqueo de la germinación parece estar asociado a una reducción en la toma de agua y la inhibición de la síntesis de nuevos polipéptidos, posiblemente involucrados en actividades metabólicas del proceso de germinación, así como aquellos que pueden requerirse para el crecimiento post-germinativo; por ejemplo, los involucrados en procesos fotosintéticos como la subunidad pequeña de la ribulosa-bifosfato-carboxilasa-oxigenasa (Quatrano *et al.*, 1983; Medford y Sussex, 1989).

La presencia de algunas proteínas inducidas por estrés salino en embriones de cebada ha sido reportada por Ramagopal (1990); estas proteínas desaparecen al removerse el estrés y su función es desconocida. En semillas de trigo sometidas al estrés salino se observó la inducción de una proteína de 66 kDa. Posiblemente

su acumulación sea sólo una respuesta al estrés impuesto por los bajos potenciales osmóticos (desorden metabólico) o una respuesta adaptativa.

Los resultados obtenidos con las semillas de amaranto muestran que el NaCl evita la movilización de las proteínas de reserva. Estas constituyen los sustratos para el acelerado metabolismo que se inicia con la germinación y son fuente de nitrógeno para el crecimiento de la plántula. Es posible que las semillas imbibidas a bajos potenciales osmóticos sean deficientes en la energía disponible así como en los bloques de construcción necesarios para los procesos anabólicos de la germinación. Este efecto de inhibir la degradación o la utilización de las proteínas más abundantes de la semilla podría ser similar al que ejercen concentraciones altas de ABA en las semillas de *Arabidopsis thaliana* (Garcíarrubio *et al.*, 1997). El NaCl podría actuar indirectamente mediante inducción de un incremento en los niveles de ABA de las semillas, el que a su vez restringiría la disponibilidad de la energía y de los nutrientes necesarios para que ocurra el proceso germinativo. Los resultados de este trabajo sugieren que el NaCl más que regular la germinación directamente, lo hace por cambiar el metabolismo de utilización de las reservas a almacenamiento (o acumulación) de las mismas. Esta hipótesis está de acuerdo con varios efectos conocidos del ABA, incluyendo la promoción de la síntesis de las proteínas de reserva de la semilla (Finkelstein *et al.*, 1985; Quatrano, 1988; Kermodé, 1990) y la inhibición de la síntesis y actividad de la α -amilasa (Jacobsen y Chandler, 1988; Nolan y Ho, 1988; Robertson *et al.*, 1989). La regulación del almacenamiento y uso de las reservas podría ser la base de la acción del ABA en diferentes procesos, aún en algunos donde este mecanismo puede ser menos obvio, tal como las condiciones de estrés ambiental.

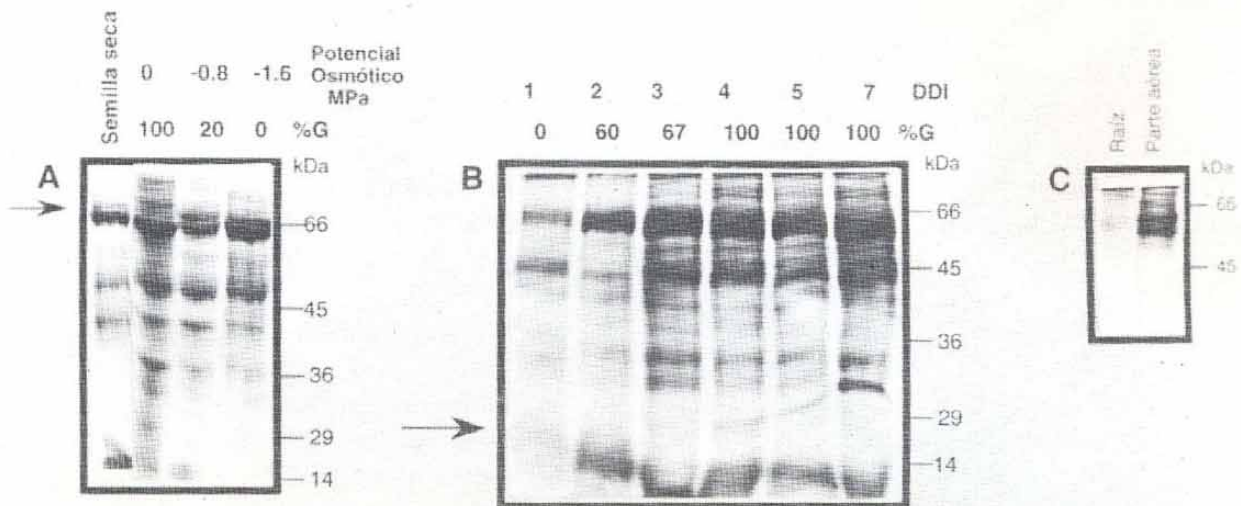


Figura 4. Electroforesis en gels de SDS-poliacrilamida de proteínas de semillas de trigo solubles en acetato de sodio 0.1 M bajo diferentes tratamientos. A. Patrón de expresión proteico de semillas incubadas a potenciales osmóticos (Ψ_s) de -1.6 , -0.8 y 0 MPa durante 7 días; la flecha indica la proteína de aproximadamente 66 kDa inducible por el estrés osmótico. B. Cinética de síntesis y acumulación de las proteínas de semillas germinadas a 0 MPa durante 1 a 7 días después de imbibidas (DDI). La flecha muestra la proteína de aproximadamente 29 kDa cuya síntesis se induce a partir del cuarto día de germinación. C. Proteínas presentes en los ejes radicular y foliar sin endospermo ni cubierta de la semilla a los 7 días DDI, germinadas a 0 MPa. En la parte superior de la figura se presenta el porcentaje de germinación correspondiente a cada tratamiento (% G) y a la derecha se indica los marcadores de peso molecular en kilodaltones (kDa).

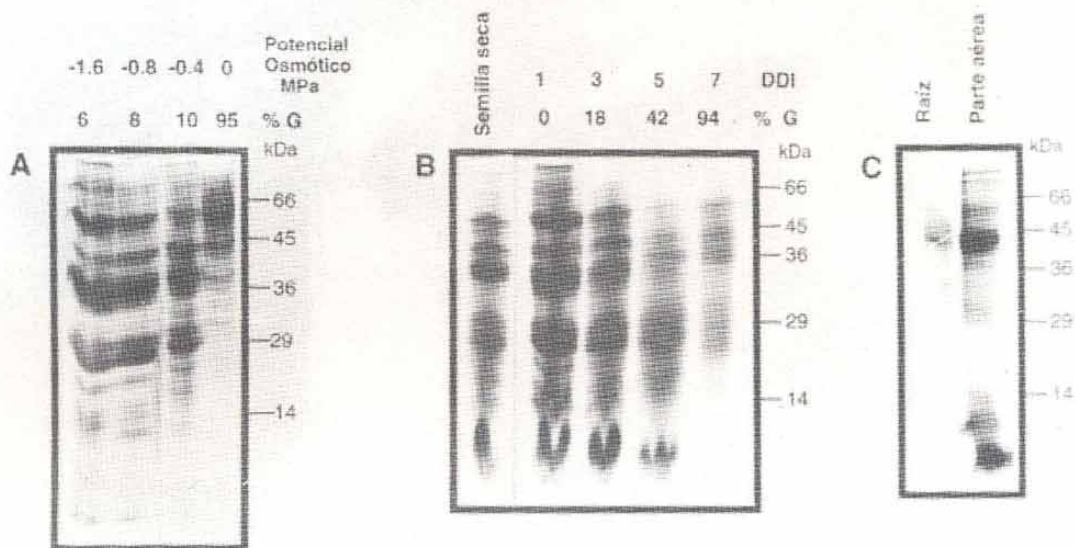


Figura 5. Electroforesis en geles de SDS-poliacrilamida de extractos de proteínas totales de semillas de amaranto sometidas a diferentes tratamientos. A. Patrón de proteínas de semillas incubadas a potenciales osmóticos (Ψ s) de -1.6, -0.8, -0.4 y 0 MPa durante 8 días. B. Cinética de degradación de las proteínas de reserva durante 1, 3, 5 y 7 días después de imbibir (DDI) a 0 MPa. C. Perfil de proteínas de la raíz y parte aérea de plántulas crecidas a 0 MPa durante 8 días. En la parte superior de la figura se presenta el porcentaje de germinación correspondiente a cada tratamiento (% G) y a la derecha se indica los marcadores de peso molecular en kilodaltones (kDa).

CONCLUSIONES

Los resultados de esta investigación sugieren que el estrés salino inhibe la germinación de las semillas de trigo a través de una reducción en la toma de agua durante la imbibición y por el bloqueo que ejerce en la síntesis de nuevos polipéptidos, posiblemente involucrados en actividades metabólicas.

El patrón de proteínas de semillas de trigo incubadas bajo un potencial osmótico de -1.6 MPa es semejante al de una semilla seca, lo que sugiere que la maquinaria sintetizadora de proteínas probablemente se esté adaptando a las condiciones alteradas de germinación bajo estrés salino.

En semillas de amaranto, el NaCl regula indirectamente la germinación al evitar la movilización de las proteínas de reserva, cambiando el metabolismo de utilización a almacenamiento o acumulación de las mismas.

BIBLIOGRAFÍA

- Ashraf, M. 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Rev. in Plant Sci.* 13:17-42.
- Bewley, J.D., and M. Black. 1994. *Physiology of Development and Germination*. 2nd Edition. Plenum Press. New York and London. pp: 1-50.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066.
- Bradford, M.M.C. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-258.
- Bradford, K.J. 1990. A water relation analysis of seed germination rates. *Plant Physiol.* 94: 840-849.
- Boyer, J.S. 1982. Plant productivity and environment. *Science* 218: 443-448.
- Dell'Aquila, A., and J.D. Bewley. 1989. Protein synthesis in the axes of polyethylene glycol-treated pea seed and during subsequent germination. *J. Exp. Bot.* 40 (218): 1001-1007.
- Dell'Aquila, A., and P. Spada. 1992. Regulation of protein synthesis in germinating wheat-embryos under polyethylene glycol and salt stress. *Seed Sci. Res.* 2: 75-80.
- Dure, L.S. 1975. Seed formation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 26: 259-278.
- Finkelstein, R.R., K.M. Tembarga., J.E. Shumway., and M.L. Crouch. 1985. Role of ABA in maturation of rapeseed embryos. *Plant Physiol.* 78: 630-636.
- Garcarrubio A., J.P. Legaria., and A. Covarrubias. 1997. Abscisic acid inhibits germination of mature *Arabidopsis* seeds by limiting the availability of energy and nutrients. *Planta* 203: 182-187.
- Hegarty, T.W. 1987. The physiology of seed hydration and dehydration and the relation between stress and the control of germination: A review. *Plant Cell Environ.* 1: 101-119.
- Jacobsen, J.V., and P.M. Chandler. 1988. Gibberellin and abscisic acid in germinating cereals. *In: Plant Hormones and their Role in Plant Growth and Development*. P.J. Davies (ed.). Kluwer Academic Publishers. Pp: 164-193.
- Kermode, A.R. 1990. Regulatory mechanisms involved in the transition from seed development to germination. *Crit. Rev. Plant Sci.* 9: 155-195.
- King, J. 1991. *The Genetic Basis of the Plant Physiological Processes*. Oxford University Press. USA. Pp: 347-393.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Legaria J., P., y A. Muñoz-Orozco. 1992. Interacción de variedades de trigo con ambientes secos de la Mixteca Alta Oaxaqueña. *Rev. Fitotec. Mex.* 15: 40-50.
- Medford, J.I., and I.M. Sussex. 1989. Regulation of chlorophyll and Rubisco levels in embryonic cotyledons of *Phaseolus vulgaris*. *Planta* 179: 309-315.
- Murphy, M.P., and F.W. Thompson. 1988. *Molecular Plant Development*. Prentice Hall. USA. pp: 1-29.

- Nolan, R.C., and T.H.D.-Ho. 1988. Hormonal regulation of alfa-amylase expression in barley aleurone layers. *Plant Physiol.* 88: 588-593.
- Quatrano, R.S., B.L. Ballo., J.D. Williamson., M.T. Hamblin., and M. Mannsfield. 1983. ABA controlled expression of embryo-specific genes during wheat grain development. *In:* R. Goldberg (ed.). *Plant Molecular Biology*. Alan R. Liss. New York. pp: 343-353.
- Quatrano, R.S. 1988. The role of hormones during seed development. *In:* P.J. Davies (ed.). *Plant Hormones and their Role in Plant Growth and Development*. Kluwer Academic Publishers. pp: 494-514.
- Ramagopal, S. 1990. Inhibition of seed germination by salt and its subsequent effect on embryonic protein synthesis in barley. *J. Plant Physiol.* 12: 621-625.
- Robertson, M., M. Walker-Simmons., D. Munro., and R.D. Hill. 1989. Induction of alfa-amylase inhibitor synthesis in barley embryos and young seedlings by abscisic acid and dehydration stress. *Plant Physiol.* 91: 415-420.
- Salisbury, B.F., and Ross, W.C. 1992. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica. México. pp: 29-69.
- Schooper, P., and C. Plachy. 1985. Control of seed germination by abscisic acid. *Plant Physiol.* 77:676-686.