

La Greca, Cecilia Laura

*Factores exógenos implicados en la terminación del estado de dormición de semillas de *Dipsacus fullonum* L.*

**Trabajo final de Ingeniería en Producción Agropecuaria
Facultad de Ciencias Agrarias**

Este documento está disponible en la Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina, repositorio institucional desarrollado por la Biblioteca Central "San Benito Abad". Su objetivo es difundir y preservar la producción intelectual de la institución.

La Biblioteca posee la autorización del autor para su divulgación en línea.

Cómo citar el documento:

La Greca, C. L. (2010). *Factores exógenos implicados en la terminación del estado de dormición de semillas de *Dipsacus fullonum* L.* [en línea]. Trabajo final, Universidad Católica Argentina, Facultad de Ciencias Agrarias, Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/factores-exogenos-estado-dormicion.pdf>

(Se recomienda indicar fecha de consulta al final de la cita. Ej: [Fecha de consulta: 19 de agosto de 2010]).

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA
ARGENTINA**

Facultad de Ciencias Agrarias

Ingeniería en Producción Agropecuaria

**Factores exógenos implicados en la terminación del estado
de dormición de semillas de *Dipsacus fullonum* L.**

**Trabajo final de graduación para optar por el título de:
Ingeniero en Producción Agropecuaria**

Autor: La Greca, Cecilia Laura

Profesor Tutor: Ing. Huarte, Roberto

Fecha: 29 de octubre de 2010

INTRODUCCIÓN

El género *Dipsacus* comprende un grupo de especies originarias de Europa y oeste de Asia. (Rector *et al.*, 2006). *Dipsacus fullonum* es una especie bianual cuyo crecimiento vegetativo se presenta en forma de roseta. Este estadio tiene una duración aproximada de un año; lapso en el cual *Dipsacus* acumula energía para su posterior desarrollo, floración y producción de semillas. (Werner, 1975). Alrededor de 1700 fue introducida en Pensylvania, Estados Unidos (Tabor, 2003). Seguramente, su introducción haya sido accidental junto con otras plantas provenientes de Europa. En ese entonces, sus cabezuelas eran cosechadas para remover las fibras de lana de la vestimenta (Ryder, 1998). Ya en el siglo pasado, su expansión fue muy rápida favorecida por la construcción del sistema interestatal de autopistas. En el presente, esta especie se encuentra en 43 de los 48 estados de Estados Unidos (Glass, 2007). Por su parte, en la Argentina su frecuencia es creciente observándola en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos, Río Negro, Salta y Santa Fe. Además, se han encontrado algunos ejemplares en Uruguay. (Flora del Cono Sur, Instituto de Botánica Darwinion – CONICET). Beaton y Dudley (2004) señalaron que es la más agresiva de las especies exóticas teniendo la capacidad de colonizar las praderas ya establecidas. Por otro lado, la falta de enemigos naturales permite su rápida proliferación llegando en situaciones, con especies vecinas menos agresivas, a excluir a toda la vegetación nativa. Es por este motivo, que la comprensión de los procesos biológicos que regulan la dinámica poblacional de este tipo de especies puede contribuir con el desarrollo de prácticas de manejo sustentables para poblaciones (Bhowmick, 1997). En efecto, una de las etapas dentro del ciclo de vida de una planta donde es posible regular su dinámica poblacional es, por ejemplo, la salida del estado de dormición y la germinación de las semillas de malezas (Scursoni *et al.*, 1999). A pesar de estar reportada como maleza y del elevado nivel de dormición que presentan sus semillas al momento de dispersarse desde la planta madre, hasta el presente no se conocen ampliamente los requerimientos que esta especie tiene para terminar el estado de dormición y promover el proceso de germinación. Dependiendo de las condiciones ambientales, entre el 30 al 80 % de las semillas pueden germinar. Estudios realizados por Werner (1975) reportan que en áreas alejadas del tránsito, las semillas no se dispersan demasiado de la planta madre. En efecto el 98 % de las semillas permanecen en un radio de los 4,5 metros de la planta madre. Por otro lado, en áreas de alto tránsito, cerca de caminos y autopistas, solamente el 3 % se dispersan dentro del radio mencionado. La dispersión de las semillas se ve además favorecida por su capacidad de flotación tanto en grandes como pequeñas corrientes de agua. Werner (1975) reportó que estas semillas pueden flotar por 22 días sin una significativa reducción en la viabilidad.

El estado de dormición es un rasgo que se observa en especial en muchas especies malezas y especies no domesticadas. Este estado se observa desde el momento de la dispersión de sus semillas y, es paulatinamente aliviado por acción de factores ambientales tales como la temperatura y/o la disponibilidad hídrica (Sánchez y Mella, 2004). El estado de dormición puede ser definido como la imposibilidad de germinar que tiene una semilla intacta y viable en condiciones adecuadas de temperatura, aireación y disponibilidad hídrica (Bewley, 1997). Fue señalado que la

dormición es un rasgo adaptativo de las poblaciones de semillas que optimiza la distribución de la germinación en el tiempo y en el espacio (Bewley y Black, 1994). Además, la dormición puede ser clasificada según el tiempo de ocurrencia. Harper (1957) clasificó a la dormición en innata, forzada e inducida. La dormición innata es la que presentan las semillas al momento de la dispersión de la planta madre. Éstas no germinarán bajo ninguna condición ambiental hasta que la dormición disminuya. La dormición forzada es la no-ocurrencia de germinación debido a que las condiciones ambientales no son favorables para la germinación. La dormición inducida es la que vuelven a presentar las semillas una vez que las mismas han perdido la dormición innata, inducida por factores ambientales. Posteriormente, Karssen (1982) clasificó a la dormición como primaria y secundaria, comparables con las propuestas por Harper, siendo la innata y la inducida, respectivamente. La semillas al momento de dispersión desde la planta madre pueden presentar dormición primaria. El nivel de dormición de las semillas después de un tiempo de permanencia en el suelo, puede disminuir y las mismas germinar, si las condiciones ambientales son favorables. Si las condiciones ambientales no son favorables, y la germinación no ocurre, las semillas entran en un estado de dormición secundaria (Bewley y Black, 1982). Las semillas que no presentan dormición al momento de la dispersión pueden entrar en dormición secundaria si la germinación no ocurre (Karssen, 1980). En general, el nivel de dormición disminuye durante la estación que precede el período en el cual las condiciones para el establecimiento de la plántula son favorables, mientras que la dormición es inducida en la estación que precede al período en el cual las condiciones para la supervivencia de la planta son adversas (Karssen, 1982). Por ejemplo, las semillas de especies cuya emergencia ocurre durante la primavera y el verano, presentan un alto nivel de dormición en otoño; durante el invierno la dormición disminuye pero aumenta nuevamente en verano. En las especies de emergencia primavera-estival, las semillas se dispersan en el otoño con un alto nivel de dormición. (Baskin y Baskin, 1985; Bouwmeester, 1990), determinándose de esta manera ciclos estacionales de dormición en las especies que los presentan. En especies de emergencia otoño-invernal la respuesta es inversa. Las semillas se dispersan al finalizar la primavera con un alto nivel de dormición. Durante el verano, las altas temperaturas causan una disminución en el nivel de dormición, mientras que por efecto de las bajas temperaturas del invierno, el nivel de dormición vuelve a aumentar (Bouwmeester y Karssen, 1993).

Dentro de la dormición primaria pueden diferenciarse dos grupos: dormición exógena (fuera del embrión) y endógena (dentro del embrión) (Hilhorst *et al*, 1997). La dormición exógena es causada por tejidos maternos y/o endosperma o perisperma; los diferentes mecanismos van a determinar que sea una dormición física (inhibición para absorber agua), mecánica (restricción mecánica a la expansión del embrión y la salida de la radícula) o química (evitar la lixiviación de los inhibidores del embrión). La dormición endógena podría estar causada por un embrión subdesarrollado (dormición morfológica); por un bloqueo metabólico (dormición fisiológica) o por una combinación de las anteriores (dormición morfofisiológica) (Hilhorst *et al*, 1997).

El estado de dormición es regulado además endógenamente. La regulación endógena está ejercida por la acción de fitohormonas como las giberelinas (GAs) y el ácido abscísico (ABA). Kucera *et al*. (2005) y Grappin *et al*. (2000) sostienen que el ABA es responsable de la imposición de la dormición durante el desarrollo y

del mantenimiento de la misma en semillas hidratadas luego de la dispersión. Sin embargo, Steinbach *et al* (1997) habían observado que el balance entre ABA y GAs durante etapas tempranas del desarrollo de las semillas era determinante de la duración de la dormición. Estos resultados permitieron demostrar que el ABA y las GAs actúan al mismo tiempo y que incluso el mantenimiento de la dormición requiere de una relación ABA/GAs alta, mientras que la terminación de la dormición requiere un incremento en la concentración de GAs y/o una pronunciada reducción del contenido de ABA. En paralelo con los cambios en la relación ABA/GAs, la salida de la dormición está acompañada por una disminución en la sensibilidad al ABA y un incremento en la sensibilidad a las GAs (Corbineau *et al.*, 2002; Ali-Rachedi *et al.*, 2004). Existen compuestos inhibidores de la biosíntesis de GAs que pueden ser clasificados según el momento dentro de la ruta de síntesis de las GAs donde ejercen su acción. Rademacher (2000) postuló cuatro grupos diferentes: los compuestos “onuium”, los compuestos con un heterociclo conteniendo N, los compuestos con acción semejante al ácido 2-oxoglutarico y las 16-17 dihidro GAs. Dentro de estos compuestos se encuentra el Trinexapac-ethyl (TE), perteneciente al tercer grupo (Rademacher, 2000). Este actúa impidiendo la hidroxilación de GA₂₀ a GA₁ mediante la inhibición competitiva sobre la enzima GA₃-oxidasa (Talón, 2000). El modo de acción de este inhibidor es a través de una inhibición competitiva reversible por el sitio activo de la enzima.

Una vez que el nivel de dormición de la población de semillas se reduce, ciertas especies todavía requieren de la exposición de las semillas a factores ambientales que actúan como terminadores de la dormición (*i.e.* luz, temperaturas alternadas) para dar paso luego al proceso de germinación (Benech Arnold *et al.*, 2000).

La luz roja termina la dormición en semillas de muchas especies (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). El sentido ecológico de este requerimiento radica en la posibilidad de detectar la profundidad de entierro de las semillas y la presencia de brechas en el canopeo (Benech-Arnold *et al.*, 2000). Este tipo de radiación es percibida por un pigmento llamado fitocromo. El fitocromo es una cromoproteína que existe en dos formas interconvertibles: Pr, con un máximo de absorción en los 660 nm (rojo), y Pfr, con un máximo de absorción en los 730 nm (rojo lejano), siendo ésta la forma que termina la dormición (Borthwick *et al.*, 1954; Taylorson y Borthwick, 1969). La terminación de la dormición, ocurre cuando la cantidad de Pfr/Ptotal establecida se encuentra por encima de un valor umbral característico de cada especie (Casal y Sánchez, 1998). La conversión entre ambas formas está regulada por la composición espectral de la luz (relación rojo/rojo lejano) que determina distintas relaciones entre las cantidades presentes de Pr y Pfr. Además, el Pfr puede también convertirse a Pr en oscuridad, en un proceso denominado reversión. Una característica importante de los espectros de absorción para ambas formas del fitocromo, es la superposición de los mismos. Esto determina que la cantidad de Pfr establecida luego de una exposición saturante de rojo alcance valores cercanos al 86% de Pfr, mientras que luego de una exposición de rojo lejano la cantidad de Pfr obtenida sea de 3%. Existen tres tipos de respuesta al fitocromo. La primera VLFR (Very Low Fluence Response) se expresa con exposiciones a muy bajos flujos de fotones que establecen porcentajes de Pfr/Ptotal entre 10^{-4} y 10^{-2} . Este tipo de respuesta no reversible, estimula la terminación de la dormición en algunas especies de malezas ante brevísimas exposiciones a la luz (Scopel *et al.*, 1991). El segundo tipo de respuestas son las LFR (Low Fluence

Response) que requieren de exposiciones a bajos flujos de fotones, que establecen porcentajes de Pfr/Ptotal entre 1 y 86 (Cone *et al*, 1985). Este modo de acción está caracterizado por presentar reversibilidad y por cumplir con la ley de reciprocidad (Neff *et al*, 2000). Un último tipo de respuestas son las HIR (High Irradiance Response). Shinomura *et al* (2000) señalaron que las HIR se manifiestan con exposiciones prolongadas a la luz con altos flujos de fotones (PFD) siendo los más efectivos aquellos con longitudes de onda de 710-720 nm o 340-500 nm. Se caracteriza por no mostrar reciprocidad (Hartmann, 1966) e inhibir la germinación (Wall y Johnson, 1983).

El control de la germinación en semillas con dormición impuesta por tegumentos (exógena) está determinado por el balance de fuerzas entre el potencial de crecimiento del embrión (EGP) y la resistencia ejercida por tejidos extraembrionarios (Leubner-Metzger, 2003). Para el caso de muchas de las especies endospermadas y que requieren de luz para terminar el estado de dormición, la resistencia ejercida por el endosperma es considerada como la barrera principal que se opone a la emergencia de la radícula (da Silva *et al*, 2007). Una vez que las semillas responsivas son expuestas a la luz, un conjunto de procesos son activados siendo posible observarlos a diferentes niveles de organización. En efecto, la promoción de la germinación mediada por las respuestas del tipo LFR (de Miguel *et al*, 2000; Carpita *et al*, 1979) como para los VLFR (Arana *et al*, 2007) obedece al incremento en el potencial de crecimiento del embrión (EGP) y a un pronunciado debilitamiento de estructuras tales como el endosperma micropilar (de Miguel y Sánchez, 1992) o la testa (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). La activación de ambos procesos obedece a un incremento en el contenido endógeno de GAs (Toyomasu *et al*, 1993) y en una mayor sensibilidad a las GAs aplicadas exógenamente (Yang *et al*, 1995 y Arana *et al*, 2006). La exposición a la luz roja determina que el Pfr, forma activa del fitocromo, mediante su red de señalización, induzca la expresión de genes que codifican para la GA 3 β -hidroxilasa enzima que permite la conversión de GAs sin actividad biológica hacia formas bioactivas (Olszewski *et al*, 2002).

Por su parte, las temperaturas alternadas terminan la dormición en numerosas especies (Probert., 1992; Bewley y Black, 1982, Probert *et al.*, 1986). Benech-Arnold *et al.*, (2000) propusieron que el sentido ecológico de este requerimiento radica en la posibilidad de detectar la profundidad de entierro de las semillas y la presencia de brechas en el canopeo. Por su parte, en ambientes acuáticos las semillas ubicadas sobre el lecho perciben una menor fluctuación térmica en la medida que la corriente de agua presente una mayor altura, no viendo satisfecho en esas circunstancias su requerimiento de alternancia de temperaturas para finalizar el estado de dormición.

En función del marco conceptual arriba descrito, el objetivo general del presente estudio es determinar los factores exógenos causantes de la ruptura de la dormición en semillas de *Dipsacus fullonum*.

Los objetivos particulares son:

- I. Determinar si el agregado de GA₃ promueve la germinación de semillas de *Dipsacus fullonum*

- II. Evaluar si la presencia de luz durante la incubación causa la ruptura de la dormición en esta especie.
- III. Determinar si las temperaturas alternadas causan la ruptura de la dormición en esta especie.
- IV. Determinar la participación de las giberelinas endógenas en tratamientos promotores de la germinación mediante la utilización de un compuesto inhibidor de su biosíntesis.
- V. Evaluar posibles interacciones entre los agentes arriba mencionados

Las hipótesis a poner a prueba son las siguientes:

- I. La adición de GAs en el medio de incubación promueve la germinación en semillas de *Dipsacus fullonum*.
- II. Las semillas de *Dipsacus fullonum* requieren de luz para terminar el estado de dormición
- III. Las semillas de *Dipsacus fullonum* requieren de la exposición a temperaturas alternadas para terminar el estado de dormición.
- IV. La luz y/o la alternancia de temperaturas terminan el estado de dormición por medio de un incremento en el contenido endógeno de GAs.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal

Las semillas de *Dipsacus fullonum* fueron recolectadas en enero del 2009, en un predio de la Estancia La Espadaña ubicada en Verónica, Partido de Punta Indio (Lat.35° 23' 16" S, Long 57° 20'13" O). Las semillas fueron separadas del resto de la inflorescencia y permanecieron hasta el comienzo de los experimentos durante 6 meses a temperatura ambiente (20°C ± 2).

Experimento I (Preliminar): Respuesta a las Giberelinas

Para conocer los requerimientos de GA₃ para permitir la germinación, se incubaron las semillas durante 20 días en soluciones de diferente concentración de GA₃ (Sigma Chemical Company, ST Louis, MO, USA). Las concentraciones de GA₃ evaluadas fueron 20, 50 y 100 µM. El pH de la solución fue corregido a 6,7. Las semillas fueron incubadas bajo un régimen de temperaturas alternadas de 20/10°C

(12 horas de termoperíodo) y un régimen de temperaturas constantes de 15°C e hidratadas con 5 ml de la solución correspondiente.

Experimento II (Preliminar): Tratamiento con Trinexapac-ethyl

Para evaluar la eficacia y la dosis de mayor óptima de este compuesto en el bloqueo de la germinación (inhibidor de la biosíntesis de GAs), se incubaron las semillas durante 20 días en soluciones de diferente concentración de Trinexapac-ethyl (TE) (Moddus® 250 EC, Syngenta Crop Protection AG, Birsfelden, Switzerland). Las concentraciones de TE evaluadas fueron 62.88, 125.61, 247.66 y 495.32 μM . El pH de la solución fue corregido a 6,7. Las semillas fueron incubadas bajo un régimen de temperaturas alternadas de 20/10°C (12 horas de termoperíodo) e hidratadas con 5 ml de la solución correspondiente.

Experimento III: Respuesta a la temperatura y a reguladores de crecimiento durante la incubación

Durante 20 días se incubaron semillas bajo un régimen de temperaturas alternadas (20/10°C) (termoperíodo de 12 h) y uno constante (15°C). Bajo cada régimen térmico de incubación, se evaluó además el efecto de los siguientes tratamientos: I) oscuridad (semillas incubadas en agua destilada), II) luz (semillas incubadas en agua destilada.), III) 50 μM GA₃ y IV) 125.6 μM de Trinexapac-ethyl. El efecto de cada tratamiento, fue evaluado en 3 repeticiones conteniendo 30 semillas cada una. Las semillas fueron colocadas sobre dos discos de papel filtro (Double Rings, Hangzhou Xinhua Paper Industry, Zhejiang, China) en cajas de Petri de 9 cm de diámetro. Cada caja fue hidratada con 5 ml de la solución correspondiente; cuando se consideró necesario se cambió el papel de filtro y se rehidrató con la misma cantidad que la inicial. Toda semilla cuya radícula excedió los 2 mm de longitud se consideró como germinada. La germinación fue observada diariamente y expresada como el porcentaje acumulado del total de semillas. Para el tratamiento I (en oscuridad), las cajas de petri fueron ubicadas dentro de 2 bolsas plásticas de color negro durante todo el periodo de incubación y solo fueron extraídas para el conteo final de germinación al finalizar el experimento.

Análisis estadístico de los datos

Los datos de germinación bajo cada condición experimental y todas las interacciones fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA). Las diferencias significativas entre tratamientos fueron detectadas utilizando el test HSD Tukey (5%).

RESULTADOS

Experimento I: Respuesta al GA₃

Bajo el régimen de temperaturas alternadas (20/10°C) se observaron diferencias en la germinación acumulada obtenida bajo las diferentes dosis de GA₃ evaluadas (P<0.05) (Figura 1). En efecto, la germinación acumulada en semillas incubadas en una concentración de 50 µM de GA₃ (94.4 %) superó a la observada en 100 µM (86.4%) y en 20 µM (46%). Por el contrario bajo ninguna de las dosis evaluadas, fue posible observar germinación en semillas incubadas en un régimen térmico constante (15°C) (Figura 1).

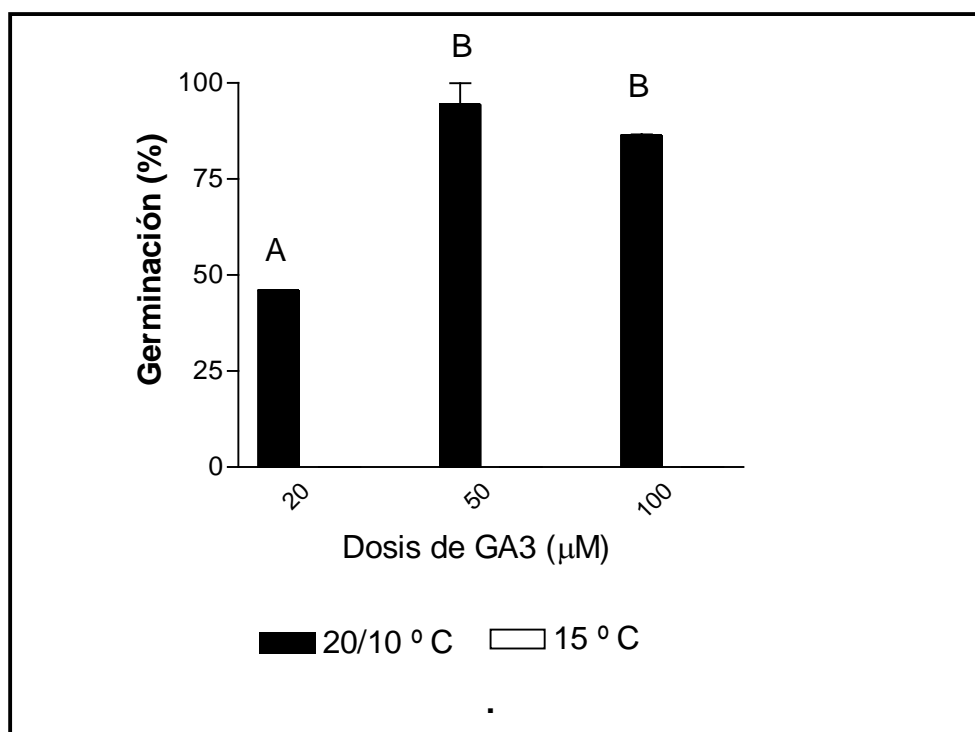


Figura 1.- Germinación total de semillas de *Dipsacus fullonum* L. incubadas bajo diferentes concentraciones de GA₃, bajo un régimen de temperaturas alternadas de 20/10°C (12 horas de termoperíodo) y de temperatura constante de 15°C.

Experimento II: Tratamiento con Trinexapac-ethyl

La eficacia del Trinexapac-ethyl (TE) en el bloqueo de la germinación estuvo asociada a la dosis empleada (Figura 2). En semillas incubadas en 125.6 µM de TE se observó un bloqueo completo de la germinación (Figura 2). Mientras que, en semillas incubadas en 62.88 y 495.32 µM se observó una germinación de 20 y 23.3%, respectivamente. En cambio semillas incubadas en 247.6 µM alcanzaron una germinación acumulada de 60%.

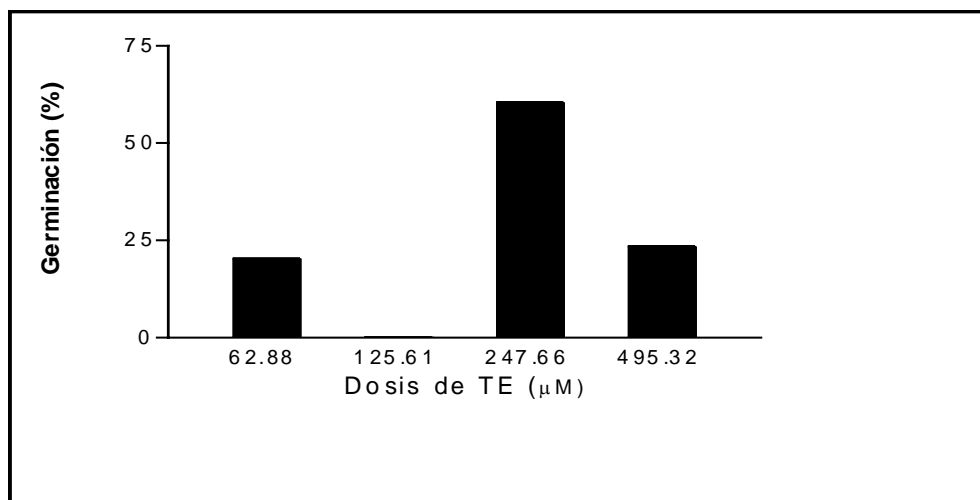


Figura 2.- Germinación total de semillas de *Dipsacus fullonum L.* incubadas bajo diferentes concentraciones de Trinexapac-ethyl (TE) bajo un régimen de temperaturas alternadas de 20/10°C (12 horas de termoperíodo)

Experimento III: Respuesta a la temperatura y a reguladores de crecimiento durante la incubación

La interacción entre los efectos principales: respuesta a la luz, las GA₃, el TE y el tratamiento térmico de incubación sobre la germinación fue significativa ($p=0.04$). La germinación acumulada en semillas incubadas en agua destilada a 20/10°C bajo un fotoperíodo de 12 h (tratamiento 1) fue de $98,66\% \pm 1.96$ (media \pm DEM). La germinación registrada en este tratamiento superó a la observada en semillas incubadas a 15°C en 50 μM de GA₃ (tratamiento 2) en presencia de luz ($58,8\% \pm 9,6$), a la observada en semillas incubadas en este mismo compuesto o en agua ambas en oscuridad bajo temperatura constante (15°C), o a las incubadas en TE en todas las condiciones experimentales ($P<0.05$) (Figura 2). Bajo estas dos últimas condiciones no hubo semillas germinadas (Figura 2). Por su parte la germinación bajo los tratamientos: en oscuridad a 20/10°C en H₂O ($79,66\% \pm 17.9$) o 50 μM de GA₃ ($94.33\% \pm 9.64$), luz a 15°C en H₂O ($91.0\% \pm 10.17$) o a 20/10°C en 50 μM de GA₃ ($67.66\% \pm 30.2$) no se diferenciaron de los tratamientos 1 y 2 (Figura 2).

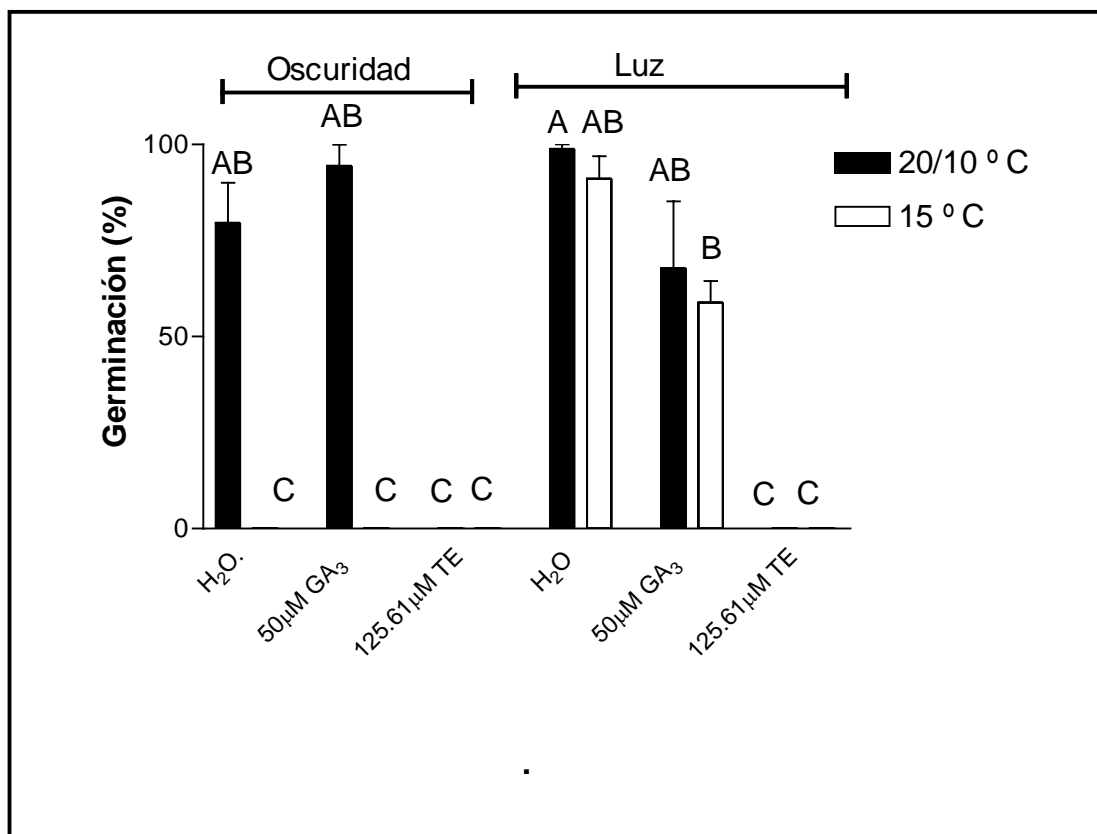


Figura 3.- Germinación total de semillas de *Dipsacus fullonum* L. incubadas en diferentes soluciones y bajo un régimen de temperaturas alternadas de 20/10°C (12 horas de termoperíodo) y de temperatura constante de 15°C.

DISCUSIÓN

Las temperaturas alternadas y la luz terminan la dormición en semillas de numerosas especies (Probert *et al*, 1986; Probert, 1992) incluidas las de *D. fullonum*. Los valores de germinación en semillas fueron incubadas a 20/10°C bajo un fotoperíodo de 12 hrs fueron cercanos al 100% (Figura 3). El resultado obtenido por Werner (1975) fue 99.7% ± 0.6 (media ± DEM). Bajo nuestras condiciones, las semillas comenzaron a germinar luego de 9 días de incubación. Este tiempo difiere del informado por Werner (1975). En este estudio, las semillas comenzaron a germinar luego de 4 días de incubación. Una posible causa que permita explicar esta respuesta es la diferente temperatura de incubación entre ambos experimentos. En efecto, Werner (1975) empleó un régimen térmico de 20/30°C. Este régimen podría resultar más eficaz en acelerar el tiempo a germinación. Futuros ensayos con nuestra población donde se comparan ambos regímenes de alternancia podrían echar luz sobre esta cuestión. Otra causa posible que explique las diferencias entre

ambos ensayos son los diferentes niveles de dormición entre ambas poblaciones de semillas. En general, el nivel de dormición de cada población resulta de la interacción entre el genotipo en cuestión y la acción de los factores ambientales que actúan durante la formación y maduración de las semillas sobre la planta madre. Otra diferencia fue el diferente tiempo de postmadurado que acumularon las semillas en cada experimento. Las semillas utilizadas por Werner (1975) fueron evaluadas luego de un mes desde la recolección. En cambio, en nuestro ensayo las semillas utilizadas tenían 6 meses de posmadurado fueron recolectadas en enero del 2009 y, permanecieron hasta el comienzo de los experimentos durante 6 meses a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C} \pm 2$). Werner (1975) señaló que semillas de 2 años de edad (desde su recolección) germinaron a los 7 días y, semillas de 5 años, comenzaron a germinar a los 13 días de incubación. Asimismo, en semillas almacenadas en un lugar seco por más de 6 años, la viabilidad decrece 14%, aunque una vez que son puestas en condiciones de humedad, las semillas viejas pueden germinar, pero les puede llevar más tiempo hacerlo.

Las temperaturas alternadas en presencia de luz permitieron terminar la dormición en esta especie. Huarte y Benech-Arnold (2010) propusieron que el rol estimulante de las temperaturas alternadas está vinculado con un incremento en la biosíntesis de GAs y una drástica reducción en la sensibilidad al ABA. Hasta el presente no se conocían cuales serían los procesos fisiológicos que sustentan la respuesta a esta variable en *Dipsacus*. No obstante, el bloqueo sobre la germinación observado en semillas incubadas en TE permite suponer el rol de las GAs en la respuesta a las temperaturas alternadas.

En este ensayo, se observó el efecto de la luz como terminador de la dormición (Figura 3). En efecto en semillas incubadas tanto a regímenes térmicos constantes o alternados se registraron elevados porcentajes de germinación (Figura 3). El requerimiento de la luz como factor terminador de la dormición está ampliamente distribuido entre numerosas familias de especies vegetales. El rol fisiológico de este factor es el incremento en el potencial de crecimiento del embrión (EGP) y a un pronunciado debilitamiento de estructuras tales como el endosperma micropilar (de Miguel y Sánchez, 1992) o la testa (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). La activación de ambos procesos obedece a un incremento en el contenido endógeno de GAs (Toyomasu *et al*, 1993) y en una mayor sensibilidad a las GAs aplicadas exógenamente (Yang *et al*, 1995 y Arana *et al*, 2006). De nuevo, la eficacia del TE en bloquear la germinación en semillas incubadas a la luz sostiene la participación de las GAs en este proceso.

En los ensayos aquí expuestos, fue evaluado al TE como un inhibidor de la germinación. Este compuesto impide la hidroxilación de GA_{20} a GA_1 mediante una inhibición competitiva sobre la enzima GA_3 beta-oxidasa. Este compuesto con acción fisiológica semejante al Prohexadione, inhibe especialmente los pasos posteriores al GA_{12} -aldehído (Medjdoub *et al*, 2003). Sin embargo, no fue posible hallar en la literatura artículos donde se usara al TE en estudios sobre dormición y germinación de semillas. Este hecho aporta seguramente una novedad en los estudios de biología de Semillas.

La exposición a temperaturas alternadas y a la luz es un estímulo necesario para terminar con el estado de dormición de *Dipsacus fullonum* L. Fue propuesto que el rol estimulante de las temperaturas alternadas y la luz está vinculado con un incremento en la biosíntesis de GAs y una reducción en la sensibilidad al ABA. La

adición de GA₃ para promover la germinación sólo ha sido efectiva cuando las semillas fueron incubadas bajo el régimen de temperaturas alternadas y con luz. Por el contrario, cuando las semillas fueron incubadas bajo el régimen de temperatura constante no hubo ningún tipo de respuesta a la GA₃. Tampoco hubo respuesta cuando las semillas fueron incubadas a temperatura constante, en oscuridad y con agua destilada como solución de incubación. Evidentemente, el nivel de dormición de las semillas utilizadas debe ser importante, puesto que a temperatura constante a 20 días de incubación no germinó ninguna semilla. Es decir, que requiere de dos o más factores promotores de la germinación para ponerle fin a la dormición.

BIBLIOGRAFÍA

Ali-Rachedi S, Bouinot D, Wagner MH, Bonnet M, Sotta B, Grappin P. y Jullien M.(2004) Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Island ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 219, 479-488.

Arana, M.V., de Miguel, L.C. y Sánchez, R.A. (2006) A phytochrome-dependent embryonic factor modulates gibberellins responses in the embryo and micropylar endosperm of *Datura ferox* seeds. *Planta* 223, 847-857.

Arana, M.V., Burgin, M.J., de Miguel, L.C. y Sánchez, R.A. (2007) The very-low-fluence and high-irradiance responses of the phytochromes have antagonistic effects on germination, mannan-degrading activities, and *DfGA3ox* transcript levels in *Datura ferox* seeds. *Journal of Experimental Botany* Vol 58 No 14, 3997-4004.

Baskin, J.M. y Baskin, C.C. (1985) The annual dormancy cycle in buried weed seeds: A continuum. *BioScience* 35, 492-498.

Beaton, L.L. y Dudley, S.A. (2004) Tolerance to Salinity and Manganese in Three Common Roadside Species. *International Journal of Plant Sciences* 165, 37-51.

Benech-Arnold, R.L., Sánchez, R.A., Forcella, F., Kruk, B.C. y Ghersa, C.M. (2000) Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* 67, 105-122.

Bewley, J.D. y Black, M.(1982) *The Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination*. Vol 2. Springer-Verlag, New York.

Bewley, J.D. (1997) Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9, 1055-1066

Bewley, J.D. y Black, M. (1994) Cellular events during germination and seedling growth, pags. 175–235 *en* Bewley, J.D. y Black, M. (Eds) *Seeds: Physiology of Development and Germination*. New York, Plenum Press

Bhowmick, P.C. (1997) Weed Biology. Importance to weed management. *Weed Science*, 45, 349-356.

Borthwick, H. A., Hendricks, S.B., Toole, E.H. y Toole, V.K. (1954) Action of light on lettuce seed germination. *The Botanical Gazette* 115, 205-225.

Bouwmeester H.J. (1990) The effect of environmental conditions on the seasonal dormancy pattern and germination of weed seeds. The Netherlands: Wageningen Agricultural University. PhD thesis.

Bouwmeester, H.J. y Karssen, C.M. (1993) Annual changes in dormancy and germination in seeds of *Sisymbrium officinale* (L.) Scop. *New Phytologist* 124, 179-191.

Casal, J.J. y Sánchez, R.A. (1998) Phytochromes and seed germination. *Seed Science Research* 8, 317-329.

Carpita, N., Ross, C. y Nabors, M. (1979) The influence of plant growth regulators on the growth of embryonic axes of red and far-red treated lettuce seeds. *Planta* 145, 511-516.

Cone, J.W., Jaspers, P.A.P.M. y Hendrick, R.E. (1985) Biphasic fluence-response curves for light-induced germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Cell and Environment* 8, 605-612.

Corbineau, F., Bianco, J., Garello, G. y Côme, D. (2002) Breakeage of *Pseudotsuga menziessi* seed dormancy by cold treatment as related to changes in seed ABA sensitivity and ABA levels. *Physiologia Plantarum* 114, 313-318.

da Silva, E.E.A., de Melo, D.L.B., Davide, A.C., de Bode, N., Abreu, G.B., Faria, J.M.R. y Hilhorst, H.W.M (2007) Germination ecophysiology of *Annona crassiflora* seeds. *Annals of botany* 99, 823-830.

de Miguel, L.C., Burgin, M.j., Casal, J.J. y Sánchez, R.A. (2000) Antagonistic action of low-fluence and high-irradiance modes of response of phytochrome on

germination and β -mannanase activity in *Datura ferox* seeds. Journal of Experimental Botany Vol 51 No 347, 1127-1133.

de Miguel, L.C y Sánchez, R.A. (1992) Phytochrome-induced germination, endosperm softening and embryo growth in *Datura ferox* seeds: Sensitivity to low water potential and time to escape to FR reversal. Journal of Experimental Botany 43, 969-974.

Finch-Savage, W.E. y Leubner-Metzger, G. (2006) Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist 171, 501-523.

Flora del Cono Sur, Instituto de Botánica Darwinion – CONICET
<http://www2.darwin.edu.ar/Herbario/Bases/ResultadosCtaIris.asp>. Mayo,2010

Glass, W. (2007) Vegetation management guideline, Vol 1, Revista 24, Illinois Nature Preserves Commission

Grappin, P., Bouinot, D., Sotta, B., Miginiac, E. y Jullien, M. (2000). Control of seed dormancy in *Nicotiana glauca* post imbibition abscisic acid synthesis imposes dormancy maintenance. Planta 210, 2749-285.

Harper, J.L. (1957) The ecological significance of dormancy and its importance in seed control. Int. Congr. Pl. Phot. 4, 415-428.

Hartmann, K.M. (1966) A general hypothesis to interpret 'high energy phenomena' of photomorphogenesis on the basis of phytochrome. Photochemistry. Photobiology 5, 349-366.

Hilhorst, H.W.M.; Bentsink, L. and Koornneef, M. (1997) Dormancy and germination. pp. 271-294 in Basra, A.S. (Eds). Handbook of seed science and technology.

Huarte, H.R. and Benech-Arnold, R.L. (2010) Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in *Cynara Cardunculus* (L.). Seed Science Research 20, 39-45.

Karssen C.M. (1980/81) Patterns of change in dormancy during burial of seeds in soil. *Israel Journal of Botany* 29, 65–73.

Karssen, C.M. (1982) Seasonal patterns of dormancy in weed seeds, pags 243-270 *en* Khan, A.A. (Ed) *The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination*. Amsterdam, Elsevier Biomedical Press.

Kucera, B., Cohn, M.A. y Leubner-Metzger, G. (2005) Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* 15, 281-307.

Leubner-Metzger, G. (2003) Hormonal and molecular events during seed dormancy release and germination. pp 101-112 in Nicolas G, Bradford KJ, Come D, Pritchard H (Eds.) *The Biology of Seeds: Recent Research Advances*, Wallingford, CABI Publishing.

Medjdoub, R.; Mata, M.P.; Val Falcón, J.; Blanco Braña; A. (2003) Efectos del prohexadione-Ca sobre el crecimiento vegetativo del manzano: longitud de brotes y área foliar. X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas. Pontevedra, SECH. *Actas de horticultura* 39, 305-307.

Neff, M.M., Fankhauser, C. y Chory, J. (2000) Light: an indicator of time and place. *Genes & Development* 14, 257-271.

Olszewski, N., Tai-ping, S. y Gubler, F. (2002) Gibberellin signaling: Biosynthesis, catabolism, and response pathways. *The plant Cell Supplement* (1), 61-80.

Probert, R.J., Smith, R. D. y Birch, P. (1986) Germination responses to light and alternating temperatures in European populations of *Dactylis glomerata* V. The principal components of alternating temperatures requirements. *New Phytologist* 102, 133-142.

Probert, R.J. (1992) The role of temperature in germination ecophysiology, pag. 285-325 *en* Fenner, M (Ed) *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities*. Wallingford, CAB International.

Rademacher, W. (2000). Growth retardants: Effects on Gibberellin Biosynthesis and Other Metabolic Pathways. *Plant Physiol.* 51, 501-531.

Rector, B. G., Harizanova, V., Sforza, R., Widmer, T., and R. N.

Wiedenmann (2006). Prospects for biological control of teasels, *Dipsacus spp.*, a new target in the United States. *Biol. Control* 36, 1–14.

Ryder, M.L. (1998) Raising teasels to raise cloth *Textiles magazine*- The textile institute

Sánchez, R.A. and Mella, R.A. (2004) The exit from dormancy and the induction of germination. Physiological and molecular aspects. pp. 221-235 in **Benech-Arnold, R.L.; Sánchez, R.A.** (Eds). *Handbook of seed physiology applications to agriculture*. New York, Haworth Press.

Scopel, A.L., Ballaré, C.L. y Sánchez, R.A. (1991) Induction of extreme light sensitivity in buried weed seeds and its role in the perception of soil cultivations. *Plant, Cell and Environment* 14, 501-508.

Scursoni, J., Benech Arnold, R.L., and Hirchoren, H. (1999) Demography of wild oat in barley crops: effect of crop, sowing rate, and herbicide treatment. *Agron. J.* 91: 478-485.

Shinomura, T., Uchida, K., y Furuya, M. (2000) Elementary processes of photoperception by phytochrome A for high-irradiance response of hypocotyl elongation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, Vol. 122, 147–156.

Steinbach, H.S., Benech-Arnold, R.L. y Sánchez, R.A. (1997) Hormonal regulation of dormancy in developing Sorghum seeds. *Plant Physiology* 113, 149-154.

Tabor R. (2003) Pilgrims taking herbs to America. The Herb Society. <http://dspace.dial.pipex.com/herbsociety/articles.htm>>

Taylorson, R. B. y Borthwick, H. A. (1969) Light Filtration by Foliar Canopies: Significance for Light-Controlled Weed Seed Germination, Weed Science Society of America.

Talón, M. (2000). Giberelinas. En Azcón-Bieto, J. M y Talón, M. (Eds) Capítulo 20. Fundamentos de fisiología vegetal. Pp. 325-341, Ed. Interamericana McGraw Hill. Ed. U. de Barcelona.

Toyomasu, T., Tsuji, H., Yamane, H., Nakayama, M., Yamaguchi, I., Murofushi, N., Takahashi, N. y Inoue, Y. (1993) Light effects on endogenous levels of gibberellins in photoblastic lettuce Seeds. *Journal of Plant Growth Regulation* 12, 85-90.

Wall, J.K. y Johnson, C.B. (1983) An analysis of phytochrome action in the “high irradiance response”. *Planta* 159, 387-397

Werner, P.A. (1975a) The biology of canadian weeds. *Canadian Journal of Plant Science*, Vol.55 (July 1975). p.783-794. Serie : Canadian journal of plant science.

Werner, P.A. (1975b) Predictions of fate from rosette size in teasel (*Dipsacus fullonum* L.) *Oecologia* (Berlín) 20: 197-201

Werner, P.A. (1975c) The effects of plant litter on germination in Teasel, *Dipsacus sylvestris* Huds. *American Midland Naturalist* 94, 470-476

Yang, Y.Y., Nagatami, A., Zhao, Y.J., Kang, B.J., Kendrick, R. y Kamiya, Y. (1995) Effects of gibberellins on seed germination of phytochrome-deficient mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology* 36 (7), 1205-1211.