

## Artículo científico

## Efecto del estrés hídrico en la germinación de semillas de *Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. UDG-110

### Effect of hydric stress on the germination of seeds from *Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. UDG-110

Yunel Pérez-Hernández<sup>1</sup>, Marlen Navarro-Boulandier<sup>2</sup>, Leannys Rojas-Sánchez<sup>1</sup>, Leticia Fuentes-Alfonso<sup>1</sup> y Maryla Sosa-del Castillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Estudios Biotecnológicos, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas, Cuba

<sup>2</sup> Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey, Universidad de Matanzas, Ministerio de Educación Superior Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba

Correo electrónico: yunelph@gmail.com

#### Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar indicadores morfológicos y bioquímicos en *Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. UDG-110 durante el proceso de germinación en condiciones de estrés hídrico inducido por polietilenglicol-6000. Las semillas se sembraron en placas Petri con diferentes concentraciones de polietilenglicol-6000 (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 %) y se colocaron en un cuarto de crecimiento durante ocho días. Se evaluaron los indicadores siguientes: porcentaje de germinación, valor de germinación, longitud de la raíz y de la parte aérea, actividad  $\alpha$ -amilasa y los contenidos de proteínas, azúcares reductores y fenoles solubles. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cuatro réplicas por tratamiento. El polietilenglicol-6000 afectó el porcentaje de germinación y los caracteres morfo-fisiológicos, como la longitud de las raíces y las partes aéreas. La actividad  $\alpha$ -amilasa aumentó en las variantes con presencia del agente osmótico, con valores superiores al 9 %. En las concentraciones bajas e intermedias de polietilenglicol-6000 se observaron los mayores contenidos de azúcares reductores y proteínas solubles totales en la raíz y la parte aérea, respectivamente. La concentración de fenoles solubles en la parte aérea alcanzó valores elevados entre el 15 y el 18 %, lo que puede estar relacionado con un mecanismo de defensa antioxidante para enfrentar las consecuencias del estrés oxidativo que se genera en diversas condiciones de estreses abióticos. El polietilenglicol-6000 afectó el proceso de germinación de *S. bicolor* cv. UDG-110, aunque hubo germinación con el 21 %, lo que evidenció la presencia de mecanismos de tolerancia a la sequía, como la producción de compuestos osmóticamente activos y la síntesis de sustancias antioxidantes.

Palabras clave: sorgo, azúcares reductores, compuestos fenólicos, sequía

#### Abstract

The objective of this work was to evaluate morphological and biochemical indicators in *Sorghum bicolor* (L.) Moench cv. UDG-110, during the germination process under conditions of hydric stress induced by polyethylene glycol-6000. The seeds were sown on Petri dishes with different concentrations of polyethylene glycol-6000 (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21 %) and were placed in a growth chamber during eight days. The following indicators were evaluated: germination percentage, germination value, length of the root and the aerial part,  $\alpha$ -amylase activity and contents of proteins, reducing sugars and soluble phenols. A completely randomized design was used with four replicas per treatment. The polyethylene glycol-6000 affected the germination percentage and the morphophysiological traits, such as length of the roots and aerial parts. The  $\alpha$ -amylase activity increased in the variants with presence of the osmotic agent, with values higher than 9 %. In the low and intermediate concentrations of polyethylene glycol-6000 the highest contents of reducing sugars and soluble proteins in the root and the aerial part were observed, respectively. The concentration of soluble phenols in the aerial part reached high values between 15 and 18 %, which can be related with an antioxidant defense mechanism to face the consequences of the oxidative stress generated under diverse conditions of abiotic stresses. The polyethylene glycol-6000 affected the germination process of *S. bicolor* cv. UDG-110, although there was germination with 21 %, showing the presence of drought tolerance mechanisms, such as the production of osmotically active compounds and the synthesis of antioxidant substances.

Keywords: sorghum, reducing sugars, phenolic compounds, drought

#### Introducción

La sequía es uno de los estreses ambientales más importantes que afecta el crecimiento, el

desarrollo y la productividad de los cultivos. La comprensión de los mecanismos de tolerancia de

las plantas a este estrés, constituye uno de los retos más importantes para los investigadores de la rama agrícola y para la mejora de las plantas (Mujtaba *et al.*, 2016). Esta situación se agrava si se consideran las consecuencias del cambio climático, el cual exacerba los estreses abióticos a escala global al aumentar la irregularidad de los eventos meteorológicos (Jain y Saxena, 2016). Por estas razones, es necesario el desarrollo de estrategias que permitan la adaptación de los cultivos a ambientes específicos o identificar en edades tempranas aquellos que puedan mantener rendimientos altos en condiciones de déficit hídrico (Khaton *et al.*, 2016).

El sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]] es un cultivo de alta demanda a escala mundial por su uso en la alimentación humana y animal, así como por su alto potencial para la producción de energía renovable (Rezende *et al.*, 2017). Esta especie fue catalogada como medianamente tolerante a estrés hídrico y aunque la escasez de agua puede ejercer un efecto adverso sobre el proceso de germinación, numerosos cultivares de sorgo se adaptan bien a condiciones semiáridas (Achón-Forno *et al.*, 2014).

La germinación y las primeras etapas del desarrollo vegetativo constituyen los momentos más vulnerables dentro del ciclo de vida de las plantas. Una buena germinación puede contribuir notablemente con el tránsito de la planta por las diferentes etapas fenológicas (Channaoui *et al.*, 2017). En este sentido se han realizado trabajos sobre la respuesta de *S. bicolor* a estrés hídrico y salino durante el proceso germinativo, con el objetivo de comprender los mecanismos de tolerancia que tienen lugar en esta especie (Tsago *et al.*, 2013). Estos estudios son fundamentales para establecer posteriormente programas de mejoramiento genético exitosos en este cultivo (Khan *et al.*, 2015). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del estrés hídrico inducido por polietilenglicol-6000 en la germinación de semillas de *S. bicolor* cv. UDG-110.

## Materiales y Métodos

Se utilizaron semillas de sorgo cv. UDG-110 suministradas por la Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey (EEPFIH), de la provincia de Matanzas, Cuba; mientras que los estudios se realizaron en el laboratorio de Biotecnología, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas, Cuba.

Los ensayos se desarrollaron según un diseño completamente aleatorizado. En este sentido, las semillas se colocaron en placas Petri de 5 cm de

diámetro sobre papel de filtro humedecido con diferentes concentraciones de polietilenglicol-6000 (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 %), en una proporción de tres veces el peso del sustrato seco que constituyeron los tratamientos. Se colocaron 25 semillas por placa Petri y se realizaron cuatro réplicas por tratamiento (ISTA, 2010). El proceso de germinación se evaluó diariamente durante ocho días y los resultados fueron expresados en porcentaje de semillas germinadas. Para los análisis bioquímicos se tomaron cinco muestras por tratamiento, mientras que para la evaluación de los indicadores morfológicos y fisiológicos se analizaron 10 plántulas.

## Mediciones

**Valor de la germinación.** Se determinó diariamente la cantidad de semillas germinadas, no germinadas y podridas durante el experimento. Con los datos obtenidos se calculó el valor de la germinación (VG), según la fórmula de Djavanshir y Pourbe (1976).

$$VG = (\sum_{i=1}^n Ved) \left( \frac{Ef}{10N} \right)$$

Donde:

Ved: Velocidad de emergencia diaria, calculada como el porcentaje de la emergencia acumulada entre el número de días desde el inicio de la prueba.

N: Frecuencia o número de Ved que se calculó durante la prueba.

Ef: Porcentaje de la emergencia de plántulas al final de los 8 días de la prueba.

**Indicadores morfológicos.** Se determinó la longitud de la raíz y de la parte aérea de las plántulas a los ocho días de iniciado el experimento de germinación, con el uso de un papel milimetrado y los valores se expresaron en centímetro.

**Indicadores bioquímicos.** La raíz y la parte aérea de las plántulas germinadas se maceraron en frío con solución tampón de fosfato de sodio 50 mmol/L, pH 7,0 y en una proporción 1:3 (p/v). El homogeneizado se centrifugó a 12 000 rpm y se colectó el sobrenadante, el cual fue conservado a -20 °C hasta el momento de las determinaciones. Los indicadores bioquímicos se realizaron en todos los tratamientos, a excepción de en la mayor concentración de polietilenglicol-6000 (PEG-6000), donde el porcentaje de semillas germinadas fue muy bajo y la biomasa insuficiente para realizar las determinaciones.

**Actividad enzimática  $\alpha$ -amilasa.** El extracto enzimático se realizó en frío por homogeniza-

ción del material vegetal en una solución tampón de citrato de sodio pH 5,0 en una proporción 1:2 (p/v). La mezcla se centrifugó durante 10 minutos a 10 000 rpm y 4 °C. El sobrenadante se colectó para la determinación de la actividad  $\alpha$ -amilasa. Se adicionó 0,1 mL del extracto enzimático a 0,4 mL, una solución de almidón al 1 % (p/v) en tampón de fosfato de sodio 20 mmol/L, pH 6,9, y se dejó reaccionar durante 10 min a 37 °C. La reacción se detuvo con la adición de 0,5 mL de ácido 3,5-dinitrosalicílico. Posteriormente, la mezcla reaccionó a 100 °C durante 10 minutos y se le agregaron 1,2 mL de agua destilada. La absorbancia se determinó a 546 nm, y la actividad enzimática se expresó como  $\mu$ moles/min de glucosa liberados por  $\mu$ g de proteína a pH 6,9 y 37 °C.

El cálculo de la actividad enzimática (AE) se realizó mediante la fórmula siguiente:

$$AE = \frac{\mu\text{moles}}{t} * \frac{VT}{Ve} * fd$$

Donde:

t: Tiempo del ensayo

VT: Volumen total del ensayo (0,5 mL)

Ve: Volumen de la muestra (0,1 mL)

fd: Factor de dilución del extracto enzimático

Todas las mediciones espectrofotométricas descritas fueron realizadas en un espectrofotómetro UV/VIS Ultrospec 2000 (Pharmacia Biotech, Suecia).

**Contenido de azúcares reductores.** El contenido de azúcares reductores se determinó por el método del ácido dinitrosalicílico y se empleó la D-glucosa (Sigma) como azúcar patrón (Miller, 1959). Los valores de absorbancia fueron obtenidos a una longitud de onda de 456 nm y la concentración se expresó en mg/mL a partir de la curva patrón.

**Contenido de proteínas solubles totales.** El contenido proteico se determinó colorimétricamente mediante el método descrito por Lowry *et al.* (1951), con el uso de albúmina de suero bovino (BSA) como patrón. Los valores de absorbancia se obtuvieron a 750 nm y las concentraciones (mg/mL) se determinaron mediante la curva patrón.

**Contenido de fenoles solubles.** Se homogenizaron 100 mg de raíz y parte aérea en 1 mL de metanol y se centrifugaron a 12 000 rpm. El sobrenadante se colectó para la determinación colorimétrica de los compuestos fenólicos solubles (Friend, 1992). Para determinar la concentración de estos compuestos se utilizó el ácido clorogénico (0,05 mol/L) como

patrón y los valores de absorbancia se determinaron a 725 nm.

**Análisis estadístico.** Los datos se procesaron con el paquete SPSS® versión 15.0 para Windows. Se determinó el ajuste de los datos a una distribución normal mediante la prueba de bondad de ajuste Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianza mediante las pruebas de Bartlett (Sigarra, 1985). Los datos se procesaron mediante Anova de clasificación simple y se realizó la prueba de rangos múltiples de Duncan para la comparación entre medias ( $p \leq 0,05$ ).

## Resultados y Discusión

**Porcentaje de germinación.** Las concentraciones elevadas de polietilenglicol en el medio provocaron una disminución en el porcentaje de germinación de *S. bicolor* (fig. 1). Los valores más elevados en este indicador se obtuvieron con el 3 % del polímero, seguido del 9, el 6 y el 0 %. Los contenidos elevados de PEG-6000 en el medio (18 y 21 %) disminuyeron de manera notable el porcentaje de germinación. El efecto negativo del polietilenglicol sobre este indicador está relacionado con una reducción del potencial de soluto del medio y, en consecuencia, del potencial hídrico. La disminución del potencial hídrico afecta el proceso de imbibición y la disponibilidad de agua para las semillas, lo que es fundamental para la hidratación de las enzimas y los sustratos que participan en las diversas reacciones bioquímicas que, a su vez, inician el proceso de germinación (Swapna y Rajendrudu, 2015; Fathi y Tari, 2016).

La disminución en indicadores germinativos como el porcentaje de germinación por efecto del polietilenglicol, se ha informado en diferentes especies, como *S. bicolor* (Rezende *et al.*, 2017), *Triticum durum* Desf. (Khayatnezhad y Gholamin, 2011), *Pennisetum glaucum* L. (Sani y Boureima, 2014) y *Pongamia pinnata* (L.) (Swapna y Rajendrudu, 2015). En estos trabajos las respuestas de las plántulas dependieron del genotipo (variedad) en cuestión.

Los resultados también coinciden con los observados en plántulas de alfalfa (*Medicago sativa* L.) donde se evaluó la germinación, el crecimiento y su tolerancia al estrés osmótico inducido por polietilenglicol-6000 en diferentes concentraciones y en tres genotipos distintos: «Dk166», «Verdor» susceptibles a déficit hídrico y «Salina» resistente (Castroluna *et al.*, 2014). Los resultados mostraron un retraso en el proceso de germinación en todas las variedades, aunque con diferencias entre los

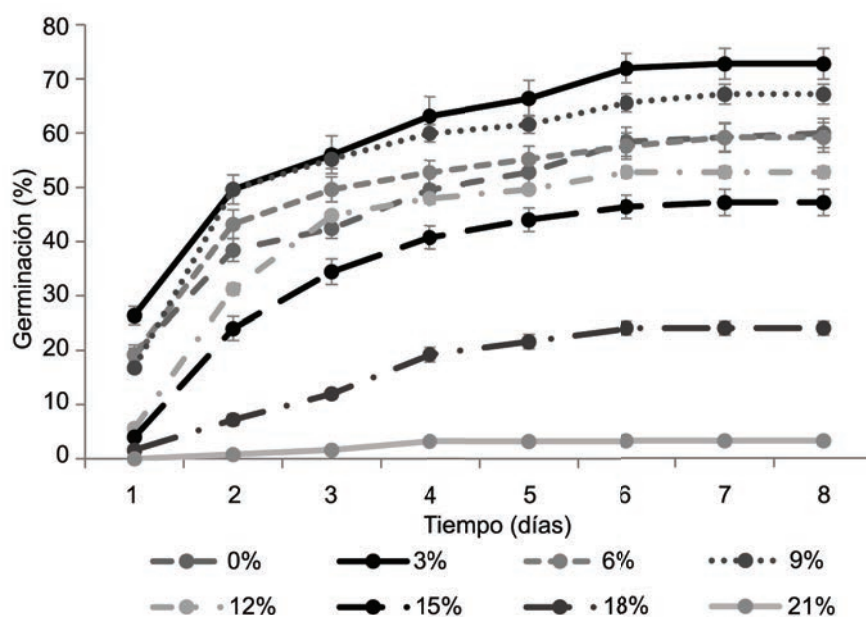


Figura 1. Efecto del polietilenglicol-6000 en la germinación de semillas de *S. bicolor* germinadas en placas Petri durante ocho días.

genotipos evaluados. En la presente investigación, el hecho de que el cultivar *S. bicolor* cv. UDG-110 germinara en una solución de PEG-6000 al 18 y al 21 %, pudiera sugerir la presencia de mecanismos de tolerancia a la sequía.

*Efecto del polietilenglicol sobre el valor de germinación de las plántulas.* El polietilenglicol también afectó el vigor de las plántulas de *S. bicolor* (fig. 2). La solución de PEG al 3 % aumentó

significativamente este indicador en relación con el control; sin embargo, los tratamientos con concentraciones elevadas de PEG afectaron significativamente el valor de germinación. El aumento de este indicador en el tratamiento al 3 % PEG puede estar relacionado con una mayor velocidad de emergencia, asociada a una mayor actividad metabólica en la raíz, que es el órgano directamente en contacto con el agente estresante. El incremento en el con-

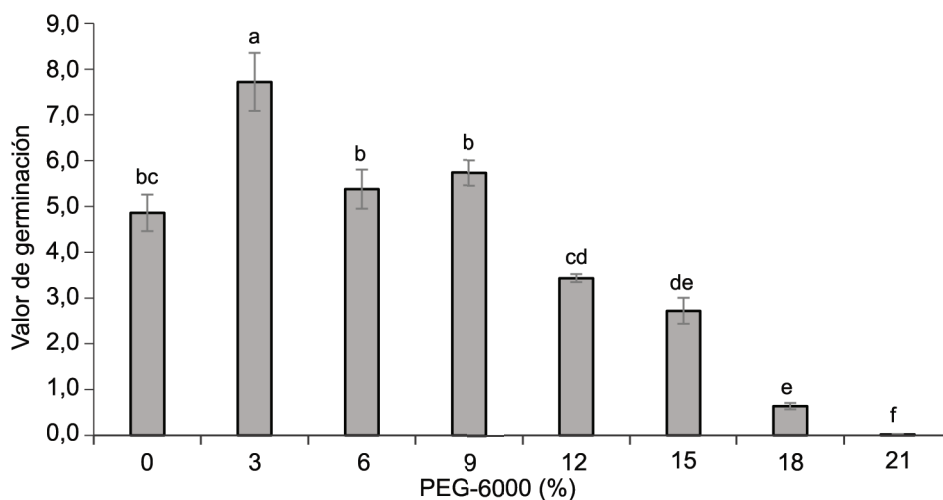


Figura 2. Efecto del polietilenglicol-6000 (PEG-6000) sobre el valor de germinación de *S. bicolor* cv. UDG-110, después de ocho días de germinación.

a, b, c, d, e: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p \leq 0,05$ .

tenido de polipéptidos u otros compuestos osmóticamente activos pueden compensar la diferencia de potencial hídrico que se genera entre el medio y la radícula. Por otra parte, bajas concentraciones de PEG-6000 pudieran inducir la expresión de genes antiestrés, así como numerosas enzimas que aceleran las reacciones metabólicas durante la etapa germinativa.

El estrés osmótico causado por polietilenglicol-4000 (-0,2 MPa) durante el proceso de germinación de *Vigna unguiculata* (L.) Walp., también disminuyó varios indicadores de germinación, como la energía de germinación, la germinación media diaria y el índice de vigor (Jain y Saxena, 2016). Kulkarni *et al.* (2014) refirieron una disminución de diferentes indicadores germinativos de *Coriandrum sativum* L. en condiciones de estrés hídrico con PEG-6000. En este trabajo el índice de vigor disminuyó progresivamente con el aumento de la concentración de polietilenglicol: control (883,04), 5 % (396,67), 10 % (92,13) y 15 % (0,00).

**Efecto del polietilenglicol sobre la longitud de las raíces y la parte aérea.** El efecto del PEG-6000 sobre el crecimiento de las plántulas de sorgo se muestra en la figura 3. Tanto las raíces como la parte aérea disminuyeron su longitud de manera significativa. En el caso de las raíces no hubo diferencias entre el control y el 3 %, pero las concentraciones superiores originaron una inhibición del crecimiento y los valores más bajos se observaron en el 18 y el 21 % de PEG-6000.

De manera similar, la longitud de la parte aérea no mostró cambios entre el control y el 3 % de

PEG-6000. Las concentraciones entre el 6 y el 15 % del agente osmótico afectaron la longitud de este órgano, mientras que porcentajes superiores provocaron una inhibición total de su crecimiento. Estos resultados evidenciaron que la parte aérea fue más sensible al estrés hídrico que las raíces en este cultivar, lo cual concuerda con lo obtenido por Gholami *et al.* (2010) en semillas de *Prunus* spp. durante el proceso de germinación con diferentes concentraciones de PEG.

Kulkarni *et al.* (2014) observaron un efecto similar del PEG-6000 (0-20 %) en la longitud de las raíces y la parte aérea de las plántulas de *Coriandrum sativum* L. Con el 15 % (-30 MPa) de polietilenglicol se detuvo completamente el crecimiento de las raíces y la parte aérea.

La inhibición del crecimiento de las plántulas está relacionada directamente con la presencia de PEG en el medio, que reduce la entrada de agua hacia los tejidos, lo cual es indispensable para desarrollar presión de turgencia y que ocurra el alargamiento celular. La inhibición de este último proceso en condiciones de estrés hídrico severo se observó en diferentes genotipos de *Oryza sativa* L. por otros autores (Pirdashti *et al.*, 2003).

Por otra parte, si se afecta el estado hídrico del embrión disminuye el metabolismo en general, debido a una reducción en la actividad de las enzimas que participan en diferentes procesos vitales, como la degradación de las reservas alimenticias y la respiración celular. Esto último es importante, ya que el crecimiento rápido durante la germinación y las

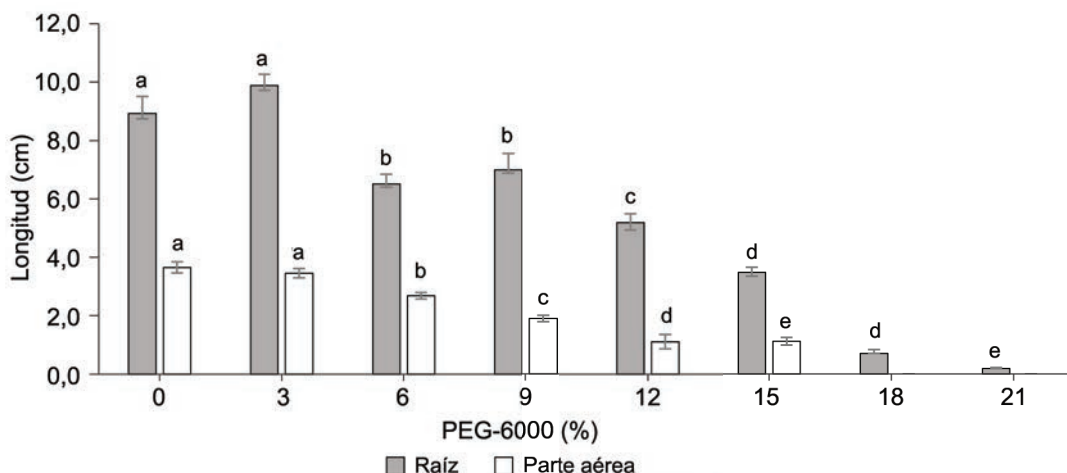


Figura 3. Efecto de diferentes concentraciones de polietilenglicol-6000 (PEG-6000) sobre el crecimiento de la raíz y de la parte aérea de plántulas de *S. bicolor* cv. UDG-110, después de ocho días de germinación. a, b, c, d, e: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano para  $p \leq 0,05$ .



etapas posteriores demanda un consumo energético elevado para realizar todos los procesos de síntesis.

**Actividad  $\alpha$ -amilasa.** El efecto de diferentes concentraciones de PEG-6000 sobre la actividad  $\alpha$ -amilasa de las plántulas de *S. bicolor* a los ocho días de germinadas, se muestra en la figura 4. Como se puede observar la actividad enzimática en los tratamientos con PEG-6000 fue superior al control. Los valores más altos se obtuvieron en el tratamiento con el 9 % del agente osmótico, seguido del medio con el 6 % de PEG-6000, el cual fue superior a las variantes del 3 y el 12 %. Los menores valores se obtuvieron en las concentraciones más elevadas de PEG-6000 (15 y 18 %). Con el 21 % de PEG-6000 no se refirieron resultados, debido al bajo porcentaje de germinación y crecimiento de las plántulas, que redujo notablemente la cantidad de material biológico para realizar las determinaciones bioquímicas.

Resultados similares observaron Li *et al.* (2017) en *Zea mays* L. cv. Zhengtian 68, quienes determinaron una mayor actividad  $\alpha$ -amilasa en semillas germinadas en presencia de PEG-6000 en comparación con el control. Por el contrario, en trabajos realizados por Muscolo *et al.* (2014) con variedades de *Lens culinaris* L., se evidenció una disminución en la actividad  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, las cuales participan directamente en el proceso de germinación. La inhibición de estas actividades

enzimáticas fue más notable en los genotipos sensibles Ustica y Pantelleria. La disminución en la actividad enzimática en presencia de altas concentraciones de PEG-6000 puede estar relacionada con el efecto negativo del polímero en la conformación de las enzimas, ya que el polietilenglicol es un compuesto altamente hidrofílico que afecta la concha de hidratación de las proteínas y se forman precipitados proteicos (Sim *et al.*, 2012).

El aumento de la actividad amilolítica en presencia de polietilenglicol puede estar relacionado con mecanismos de tolerancia a estrés hídrico. El incremento en la actividad  $\alpha$ -amilasa fue utilizada como un criterio para caracterizar la respuesta de los genotipos a estreses ambientales (Jamil *et al.*, 2006; Othman *et al.*, 2006).

**Azúcares reductores y proteínas solubles totales.** El contenido de azúcares reductores mostró variaciones en los tratamientos con diferentes niveles de polietilenglicol (fig. 5). En las raíces de las plántulas tratadas con el 3 y el 6 % de PEG-6000 se observó una mayor concentración en comparación con el control. En los tratamientos con el 9, el 12 y el 15 % no se observaron diferencias con respecto al control, mientras que los menores valores se obtuvieron con el 18 % del producto.

La concentración de azúcares reductores en la parte aérea mostró valores superiores en los trata-

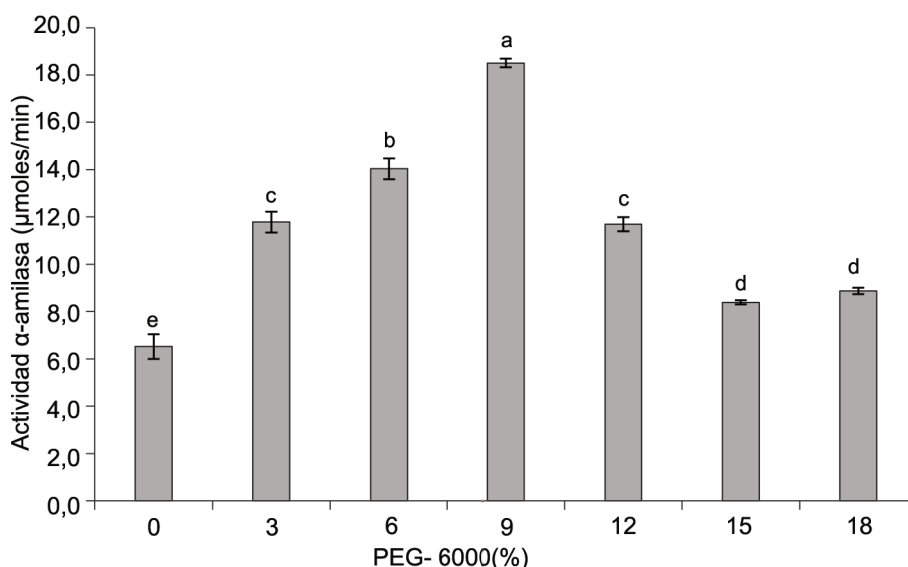


Figura 4. Actividad  $\alpha$ -amilasa en plántulas de *S. bicolor* cv. UDG-110 germinadas en condiciones de estrés hídrico.

a, b, c, d, e: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para  $p \leq 0,05$

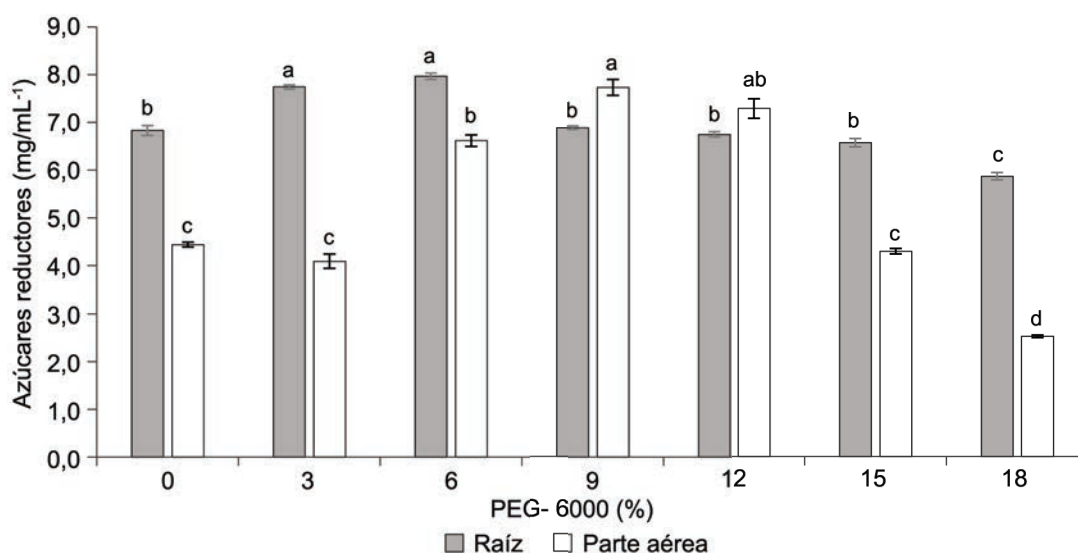


Figura 5. Azúcares reductores en la raíz y la parte aérea de las plántulas de *S. bicolor* cv. UDG-110 en condiciones de estrés hídrico.

a, b, c, d: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo órgano para  $p \leq 0,05$

mientos con el 6, el 9 y el 12 % de PEG-6000, y el tratamiento con el 9 % fue significativamente mayor que el 6 % del agente osmótico. Los valores en estas variantes fueron superiores a los observados en los tratamientos con el 3 y el 15 %, y el control (sin diferencias entre estos), mientras que los valores más bajos se obtuvieron con el 18 % de PEG-6000.

Estos resultados pueden estar relacionados con el aumento de la actividad  $\alpha$ -amilasa en presencia de PEG-6000, como se observó en algunos tratamientos como en el 3 y el 6 % (parte aérea), y el 6, el 9 y el 12 % en las raíces. Por otra parte, el incremento en los niveles de azúcares reductores también puede estar asociado con el aumento en la expresión de otras enzimas hidrolíticas en condiciones de estrés osmótico (Thalmann y Santelia, 2017). Los azúcares liberados por la acción catalítica de estas enzimas, pueden constituir un mecanismo osmoprotector para elevar la presión osmótica en los tejidos vegetales y evitar la pérdida de agua, como consecuencia de la disminución del potencial hídrico en el medio impuesto por el polietilenglicol. La disminución en los contenidos de azúcares reductores en la parte aérea, en el tratamiento con el 18 % de PEG-6000, puede estar relacionado con un aumento de la respiración de mantenimiento en estas plántulas; es decir, con el objetivo de mantener un nivel de actividad metabólica, aumenta el consumo de azúcares para la obtención de energía utilizada en el recambio celular y la síntesis de pro-

teínas, enzimas y otros compuestos que participan en la respuesta antiestrés.

Los resultados de la presente investigación están en correspondencia con lo planteado por Neto *et al.* (2009). Estos autores hallaron una acumulación de carbohidratos solubles, sacarosa, glucosa y fructosa en los tejidos de las hojas de *Sorghum* sp. durante el desarrollo vegetativo. Ello sugiere que las plantas son capaces de adaptarse a los cambios osmóticos, debido a una degradación rápida del almidón y la formación de azúcares solubles durante el estadio vegetativo.

En la figura 6 se muestra el contenido de proteínas solubles totales en las plántulas germinadas en condiciones de estrés hídrico. En las raíces los valores más altos se observaron con el 3 y el 6 % de PEG-6000, sin diferencias entre ambos; sin embargo, el tratamiento con el 3 % fue superior al control y a las variantes con el 9, el 12 y el 15 % (sin diferencias entre estas). El contenido más bajo se obtuvo con el 18 % de polietilenglicol en el medio. En relación con la parte aérea, los mayores contenidos se obtuvieron con la variante del 6 % de PEG-6000, seguido del 9 y el 12 %, entre las cuales no hubo diferencias. El resto de los tratamientos mostraron contenidos de proteína soluble inferiores y similares entre sí.

El aumento en el contenido de proteínas solubles en la parte aérea en presencia del 6, el 9 y el 12 % de PEG-6000, puede estar asociado con un incremento en la síntesis de proteínas específicas que

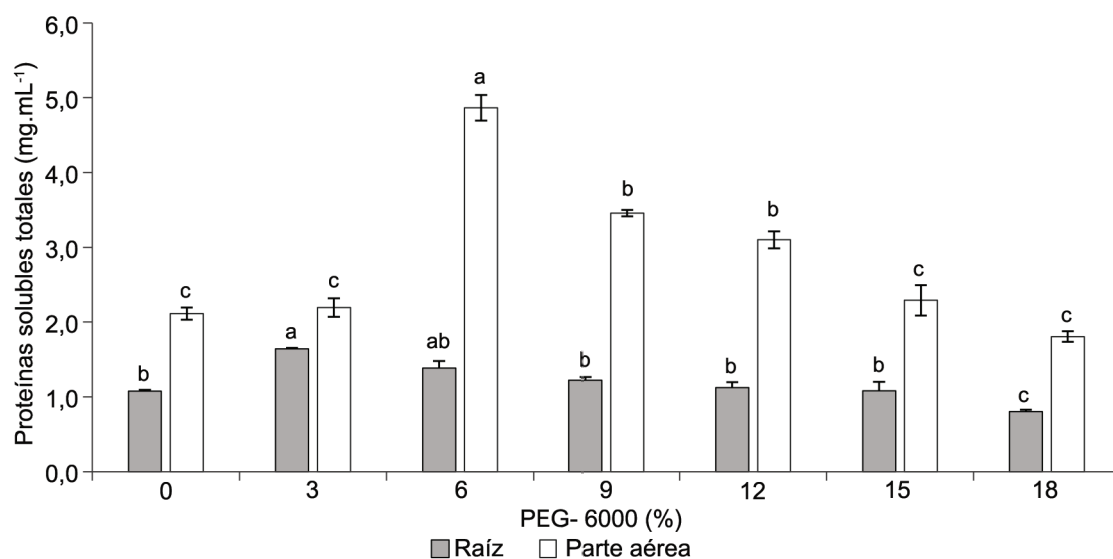


Figura 6. Contenido de proteínas solubles totales en la raíz y la parte aérea de las plántulas de *S. bicolor* cv. UDG-110 en condiciones de estrés hídrico.

a, b, c: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo órgano para  $p \leq 0,05$ .

participan en la respuesta antiestrés (Lum *et al.*, 2014; Shayanfar *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2018), lo que puede indicar mecanismos de tolerancia a estrés hídrico, ya que la plántula es capaz de incrementar el metabolismo proteico en función de varias posibles funciones como el recambio y el crecimiento celular. Sin embargo, en experimentos similares con semillas de *P. pinnata* sometidas a estrés hídrico con PEG-6000, se observó una disminución del contenido de proteínas solubles totales en relación con el control; aunque las concentraciones de azúcares y prolina libre aumentaron significativamente. Este último resultado se asoció a mecanismos de defensa de las plántulas para contrarrestar el efecto del choque osmótico que ejerce el medio sobre el material vegetal (Swapna y Rajendrudu, 2015).

**Fenoles solubles.** La concentración de fenoles solubles en la parte aérea de las plántulas mostró los mayores valores en el tratamiento con el 18 % de PEG, seguido del 15 %, el cual fue superior al 12 %. Entre esta última variante y las concentraciones del 9, el 6 y el 3 % no hubo diferencias; sin embargo, el contenido de polifenoles fue mayor en el 12 % en relación con el control (fig. 7). En relación a la raíz, los valores más altos se obtuvieron en el 3, el 6, el 9 y el 12 % de polietilenglicol, entre los cuales no hubo diferencias. Los contenidos de polifenoles en los tratamientos del 6 y el 9 % fueron a su vez superiores a los observados en las variantes del 15 % y el control (sin diferencias), mientras que los valores más bajos se obtuvieron con el 18 % del polímero.

El incremento en los polifenoles en las plantas en presencia de estreses abióticos, como el hídrico y el salino, fue referido como un mecanismo de defensa antioxidante (Apel y Hirt, 2004). Esto puede estar relacionado con la sobreexpresión de factores de transcripción, que inducen la síntesis de enzimas que participan en la producción de los compuestos fenólicos. Entre estas se encuentra la fenilalanina amonio liasa, la cual constituye la enzima principal en la ruta metabólica de los compuestos polifenólicos (Baâtour *et al.*, 2013).

Estas sustancias tienen la capacidad de eliminar las especies reactivas del oxígeno (ERO), que afectan drásticamente el metabolismo celular y protegen las membranas biológicas del daño oxidativo ocasionado por estos radicales (Chernane *et al.*, 2015). Por otra parte, los compuestos fenólicos pueden formar complejos con los metales que catalizan reacciones de oxigenación e inhibir la actividad de enzimas oxidantes. Además, la eficiencia antioxidante es mucho más alta que la de los compuestos  $\alpha$ -tocoferol y el ascorbato, reconocidos también por sus propiedades antioxidantes (Blokhina *et al.*, 2003).

## Conclusiones

El polietilenglicol-6000 afectó el proceso de germinación de *S. bicolor* cv. UDG-110, aunque las semillas germinaron en concentraciones altas (21 %), lo que evidencia la presencia de mecanismos de tolerancia a la sequía.



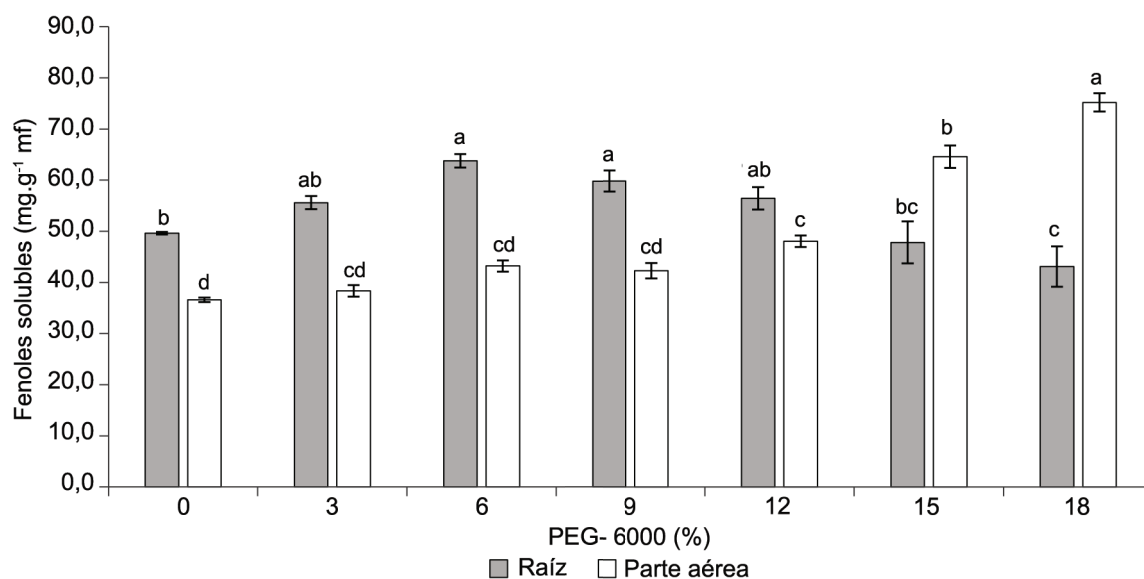


Figura 7. Contenido de fenoles solubles en la raíz y la parte aérea de plántulas de *S. bicolor* cv. UDG-110 en condiciones de estrés hídrico.

a, b, c, d: Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en un mismo órgano para  $p \leq 0,05$

La presencia de PEG-6000 en el medio aumentó los niveles de azúcares reductores en las plántulas, debido probablemente al incremento de la actividad  $\alpha$ -amilasa en los tejidos y otras enzimas relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos.

El aumento en el contenido de proteínas solubles totales en las partes aéreas de las plántulas germinadas en concentraciones intermedias de PEG-6000, y el incremento en la concentración de compuestos polifenólicos en los tratamientos con estrés hídrico severo, sugieren la presencia de mecanismos bioquímicos de respuestas antiestrés para atenuar los daños por estrés osmótico y oxidativo, respectivamente.

### Agradecimientos

La elaboración y ejecución de este trabajo se realizó con el financiamiento del proyecto Ciencias Básicas de la Universidad de Matanzas.

### Referencias bibliográficas

- Achón-Forno, I.; Paniagua-Alcaraz, P. L.; Villalba-Romero, Nancy & Romero-Gavilán, M. Efectos de la aplicación de bioestimulantes sobre la tolerancia del *Sorghum bicolor* (L.) Moench al estrés salino. *Investigación Agraria*. 16 (1):11-20, 2014.
- Apel, K. & Hirt, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55:373-399, 2004.
- Baâtour, O.; Mahmoudi, H.; Tarchoun, I.; Nasri, N.; Trabelsi, N.; Kaddour, R. et al. Salt effect on phe-

nolics and antioxidant activities of Tunisian and Canadian sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) shoots. *J. Sci. Food Agric.* 93 (1):134-141, 2013. DOI: <http://doi.org/10.1002/jsfa.5740>.

- Blokhina, O.; Virolainen, E. & Fagerstedt, K. V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.* 91 (2):179-194, 2003.
- Castroluna, A.; Ruiz, O. M.; Quiroga, A. M. & Pedranzani, H. E. Efectos de la salinidad y sequía sobre la germinación, biomasa y crecimiento en tres variedades de *Medicago sativa* L. *AIA*. 18 (1):39-50, 2014.
- Channaoui, S.; El Kahkahi, R.; Charafi, J.; Mazouz, H.; El Fechtali, M. & Nabloussi, A. Germination and seedling growth of a set of rapeseed (*Brassica napus*) varieties under drought stress conditions. *IJEAB*. 2 (1):487-494, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.22161/ijeab/2.1.61>.
- Chen, Z.; Zhu, D.; Wu, J.; Cheng, Z.; Yan, X.; Deng, X. et al. Identification of differentially accumulated proteins involved in regulating independent and combined osmosis and cadmium stress response in *Brachypodium* seedling roots. *Scientific Reports*. 8 (1):77-90, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25959-8>.
- Chernane, Halima; Latique, Salma; Monsori, M. & El Kaoua, M. Salt stress tolerance and antioxidative mechanisms in wheat plant (*Triticum durum* L.) by seaweed extracts application. *IOSR-JAVS*. 8 (1):36-44, 2015. DOI: <http://doi.org/10.9790/2380-08313644>.

- Djavanshir, K. & Pourbe, H. Germination value-a new formula. *Silvae Genet.* 25 (2):79-83, 1976.
- Fathi, A. & Tari, D. B. Effect of drought stress and its mechanism in plants. *Int. J. Life Sci (Kathmandu)*. 10 (1):1-6, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3126/ijls.v10i1.14509>.
- Friend, J. Lignin and associated phenolic acids in cell walls. In: S. I. Gurr, M. I. McPherson and D. J. Bowles, eds. *Molecular plant pathology and practical approach*. London: IRC Press at Oxford University Press. p. 51-59, 1992.
- Gholami, M.; Rahemi, M. & Kholdebarin, B. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol on seed germination of four wild almond species. *AJBAS*. 4 (5):785-791, 2010.
- ISTA. *International rules for seed testing, seed vigor testing*. Cap. 15. Switzerland: International Seed Testing Association, 2010.
- Jain, C. & Saxena, R. Varietal differences against PEG induced drought stress in cowpea. *Oct. Jour. Env. Res.* 41 (1):058-062, 2016.
- Jamil, M.; Lee, D. B.; Jung, K. Y.; Ashraf, M.; Lee, S. C. & Rha, E. S. Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species. *JCEA*. 7 (2):273-282, 2006.
- Khan, A. H. R.; Uddin, M. J. & Bayazid, K. N. Polyethylene glycol (PEG)-Treated hydroponic culture reduce length and diameter of root hairs of wheat varieties. *Agronomy*. 5 (3):506-518, 2015. DOI: <http://doi.org/10.3390/agronomy5040506>.
- Khaton, M. A.; Sagar, A.; Tajkia, J. E.; Islam, M. S.; Mahmud, M. S. & Hossain, A. K. M. Z. Effect of moisture stress on morphological and yield attributes of four sorghum varieties. *Progressive Agriculture*. 27 (3):265-271, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.3329/pa.v27i3.30806>.
- Khayatnezhad, M. & Gholamin, R. Effects of water and salt stresses on germination and seedling growth in two durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes. *Sci. Res. Essays*. 6 (21):4597-4603, 2011. DOI: <http://doi.org/10.5897/SRE11.913>.
- Kulkarni, S.; Hongal, S. & Shoba, N. Standardization of optimal concentration of PEG 6000 for induction of drought and screening of coriander (*Coriandrum sativum* L.) genotypes. *TAJH*. 9 (1):100-105, 2014.
- Li, W.; Zhang, X.; Ashraf, U.; Mo, Z.; Suo, H. & Li, G. Dynamics of seed germination, seedling growth and physiological responses of sweet corn under PEG-induced water stress. *Pak. J. Bot.* 49 (2):639-646, 2017.
- Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L. & Randall, R. J. Protein measurement the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 (1):265-275, 1951.
- Lum, M. S.; Hanafi, M. M.; Rafii, Y. M. & Akmar, S. N. Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice. *J. Anim. Plant Sci.* 24 (5):1487-1493, 2014.
- Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31 (3):426-428, 1959. DOI: <http://doi.org/10.1021/ac60147a030>.
- Mujtaba, S. M.; Summiya, F.; Khan, M. A.; Mumtaz, S. & Khanzada, B. Physiological studies on six wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for drought stress tolerance at seedling stage. *Agri. Res. Tech.* 1 (2):1-6, 2016.
- Muscolo, Adele; Sidari, Maria; Anastasi, U.; Santonoceto, C. & Maggio, A. Effect of PEG-induced drought stress on seed germination of four lentil genotypes. *J. Plant Interact.* 9 (1):354-363, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1080/17429145.2013.835880>.
- Neto, C. F. O.; Lobato, A. K. S.; Vidigal, Maria C. G.; Costa, R. C. L. da; Santos-Filho, B. G.; Alves, G. A. R. et al. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *J. Food Agric. Environ.* 7 (3-4):588-593, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1234/4.2009.2676>.
- Othman, Y.; Al-Karaki, G.; Al-Tawaha, A. R. & Al-Horani, A. Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. *World J. Agric. Sci.* 2 (1):11-15, 2006.
- Pirdashti, H.; Sarvestani, Z. T.; Nematzedah, G. H. & Ismail, A. Effect of water stress on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *J. Agron.* 2 (4):217-222, 2003. DOI: <http://doi.org/10.3923/ja.2003.217.222>.
- Rezende, R. K. S.; Masetto, Tathiana E.; Oba, G. C. & Jesus, M. V. Germination of sweet Sorghum seeds in different water potentials. *AJPB*. 8 (12):3062-3072, 2017.
- Sani, D. O. & Boureima, M. M. Effect of polyethylene glycol (PEG) 6000 on germination and seedling growth of pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. and LD50 for *in vitro* screening for drought tolerance. *Afr. J. Biotechnol.* 13 (37):3742-3747, 2014. DOI: <http://doi.org/10.5897/AJB2013.13514>.
- Shayanfar, A.; Afshari, R. T. & Alizadeh, H. Proteome analysis of wheat embryo (*Triticum aestivum*) *Sensu stricto* germination under osmotic stress. *Plant Omics*. 8 (5):372-380, 2015.
- Sigarroa, A. *Biometría y diseño experimental*. La Habana: Editorial Pueblo y Educación, 1985.
- Sim, S. L.; He, T.; Tscheliessnig, A.; Mueller, M.; Tan, R. B. & Jungbauer, A. Protein precipitation by polyethylene glycol: a generalized model based on hydrodynamic radius. *J. Biotechnol.* 157 (2):315-319, 2012.
- Swapna, B. & Rajendrudu, G. Seed germination of *Pongamia pinnata* (L.) Pierre under water stress. *Res. J. Recent Sci.* 4 (6):62-66, 2015.
- Thalmann, M. & Santelia, Diana. Starch as a determinant of plant fitness under abiotic stress. *New Phytol.* 214 (3):943-951, 2017. doi: <http://doi.org/10.1111/nph.14491>.
- Tsago, Y.; Andargie, M. & Takele, A. *In vitro* screening for drought tolerance in different Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) varieties. *J. Stress Physiol. Biochem.* 9 (3):72-83, 2013.