

GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE FRIJOLILLO *Rhynchosia minima* (L.) DC CON DIFERENTES POTENCIALES OSMÓTICOS

Germination and Growth of Frijolillo *Rhynchosia minima* (L.) DC with Different Osmotic Potentials

A. Madueño-Molina¹, J. D. García-Paredes^{1†}, J. Martínez-Hernández² y C. Rubio-Torres¹

RESUMEN

La deficiencia de agua o estrés hídrico es un factor que limita la germinación y el crecimiento de las plantas. Algunas especies, como el frijolillo [*Rhynchosia minima* (L.) DC], demuestran cierta tolerancia a condiciones limitativas de humedad en el suelo. Hay interés por esta especie silvestre, en particular por su potencial como planta forrajera para amortiguar la escasez de alimento de los rumiantes durante el período seco del año. El objetivo del trabajo fue evaluar la influencia de diferentes potenciales osmóticos sobre la germinación de semilla y sobre el crecimiento de plántulas de tres poblaciones de frijolillo. El trabajo se desarrolló en condiciones de laboratorio. Se utilizó semilla de frijolillo colectada en tres localidades de la Llanura Costera de Nayarit. Se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial A x B; el factor A fueron las colectas y el factor B nueve soluciones osmóticas de manitol. La unidad experimental se formó con 100 semillas colocadas en una caja "Petri", misma que se depositó en una cámara de germinación a 25 °C. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de germinación, longitud de raíz y longitud de vástago. Las colectas de Villa Juárez y El Limón mostraron tener capacidad para germinar en condiciones de bajo potencial osmótico con más de 50% de semillas germinadas, aunque, en general, esta condición afectó la velocidad de germinación. Por otra parte, esto mismo disminuyó el crecimiento de vástago y la raíz. El porcentaje de germinación de semillas de frijolillo y el desarrollo de plántulas, con bajos potenciales osmóticos, podría indicar que esta especie tiene tolerancia a la sequía en las primeras etapas de su crecimiento.

¹ Centro Multidisciplinario de Investigación Científica, Universidad Autónoma de Nayarit. Apdo. Postal 243, 63190 Tepic, Nayarit, México.

[†] Autor responsable (juandieg@nayar.uan.mx)

² Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. 56230 Montecillo, estado de México.

Recibido: febrero de 2004. Aceptado: noviembre de 2005.

Publicado en Terra *Latinoamericana* 24: 187-192.

Palabras clave: sequía, manitol, germinación de semilla.

SUMMARY

Water stress affects both germination and development of plants. Some species, such as 'frijolillo' [*Rhynchosia minima* (L.) DC], show some tolerance to drought conditions. This wild legume is of particular interest because its potential as a forage plant that reduces the shortage of food for ruminants during the dry season. The objective of this work was to evaluate the effect of different osmotic potentials on seed germination and seedling growth of three populations of 'frijolillo'. The experiment was conducted in laboratory. Seeds of 'frijolillo' were collected in three locations from the coastal plain of Nayarit. A completely randomized design was used, with a factorial arrangement where factor A was represented by the collections and factor B by nine osmotic mannitol solutions. The experimental unit consisted of one Petri dish containing 100 seeds of 'frijolillo'. The Petri dishes were deposited in a germination chamber at 25 °C. The variables evaluated were percentage of germination, root length and stem length. Fifty percent of the seeds collected in Villa Juarez and El Limón were germinated under low osmotic potential. However, the conditions of low osmotic potential affected the time of germination. In general, low osmotic potentials decreased stem and root length. The percentage of germination and growth of 'frijolillo', under low osmotic potentials, might indicate that this species has characteristics that favor drought resistance at least during the first growth stages.

Index words: drought, mannitol, seed germination.

INTRODUCCIÓN

Entre las variables ambientales que afectan el crecimiento y el desarrollo de las plantas, la deficiencia de agua o tensión hídrica es una de las más importantes, ya que en alguna parte de su ciclo están expuestas a

la desecación, debido, entre otras causas, a: cantidad inadecuada de humedad en el suelo por períodos cortos o largos, escasa o errática precipitación, retraso en el inicio de la precipitación, lluvias muy tempranas con períodos cortos, temperaturas altas del suelo y aire, o bien, a que la tasa de transpiración sea mayor que la tasa de absorción del agua (Kuruvadi y Cortinas, 1987).

Quizenberry (1987) definió a la sequía como cualquier periodo durante el cual las deficiencias de agua del suelo afectan la germinación, el crecimiento y el desarrollo de las plantas. Estas deficiencias pueden ser consecuencia de un suministro escaso de humedad o de una demanda elevada de la misma. Blum (1979) señaló que existe una estrecha asociación entre la fase de sequía y un mecanismo dado de resistencia, siempre y cuando la prueba de respuesta a la sequía esté relacionada en realidad a un evento de escasez de humedad; por ejemplo, la emergencia de la semilla en una solución de manitol puede revelar tolerancia al estrés osmótico en semillas y plántulas, sin embargo, una correlación con el rendimiento podría ser una coincidencia, a menos que se coloque éste como un factor en las pruebas realizadas en plantas adultas.

Las características que contribuyen a la adaptación de las especies vegetales a regiones con deficiencias de humedad deben estudiarse en tres niveles: semilla, plántula y planta adulta. A nivel de semilla, una de las mejores pruebas para identificar variedades tolerantes a sequía es determinar el porcentaje de germinación a diferentes potenciales osmóticos con manitol, ya que esta sustancia química, al igual que otras, como sacarosa y polietilén-glicol, han mostrado simular satisfactoriamente un efecto de sequía durante la germinación y emergencia de la semilla (Wiggins y Gardner, 1959; Jackson, 1962; Parmar y Moore, 1968; Espinoza y Kuruvadi, 1985). También se ha demostrado que existe una correlación alta y positiva entre la tasa de germinación en soluciones osmóticas y la tasa de emergencia en el campo, indicando que estas pruebas tienen valor predictivo (Kuruvadi, 1988). Al respecto, de acuerdo con Blum (1979), existe una estrecha asociación entre la fase de sequía y un mecanismo dado de resistencia a sequía, puesto que una prueba de respuesta a sequía estuvo relacionada en realidad a un evento de sequía. Por ejemplo, la emergencia de la semilla en una solución de manitol puede revelar tolerancia al estrés osmótico en semillas y plántulas; aún así una correlación con el rendimiento podría ser una coincidencia, a menos que se coloque éste como factor en ensayos de rendimiento.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la influencia de diferentes potenciales osmóticos sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de tres poblaciones de frijolillo. Esta especie tiene interés particular por su potencial uso como planta forrajera para satisfacer la escasez de alimento de los rumiantes durante el período más seco del año, que inicia en el mes de noviembre y termina con las lluvias en el mes de julio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este experimento se desarrolló en condiciones de laboratorio. Se evaluó la respuesta a la germinación y sobrevivencia de frijolillo [*Rhynchosia minima* (L) DC] colectado en la zona de Villa Juárez (CVJ), Pimientillo (CPIM) y El Limón (CEL), localizadas en la llanura costera de Nayarit. La semilla de frijolillo se escarificó, durante 30 minutos, en ácido sulfúrico concentrado. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial A x B, donde el factor A fueron las tres colectas y el factor B nueve soluciones osmóticas de manitol. La unidad experimental se formó por una caja Petri la cual contenía 100 semillas.

Las concentraciones de manitol evaluadas fueron: 0, 15.94, 31.88, 47.82, 63.76, 79.20, 95.64, 111.58, y 127.52 g L⁻¹. Estas corresponden a potenciales hídricos en el suelo desde saturación hasta el punto de marchitez permanente. Las equivalencias correspondientes en potencial osmótico del manitol son: 0.00, -0.125, -0.431, -0.646, -0.862, -1.077, -1.293, -1.508, y -1.724 MPa, y se estimaron de acuerdo con su peso molecular mediante la relación:

Solución 1.0 M de manitol = -2.463 MPa.

En cajas Petri se colocaron hojas de papel filtro saturadas con las soluciones osmóticas antes descritas y el control se preparó con agua corriente. Sobre el papel saturado, se depositaron 100 semillas de frijolillo previamente escarificadas, se cubrieron con la tapa transparente y se colocaron en una cámara de germinación a 25 °C. Se consideró como semilla germinada cuando la raíz medía 2 mm aproximadamente. Las variables evaluadas fueron, el porcentaje de germinación, la longitud de raíz y la longitud del vástago. El porcentaje de germinación se obtuvo cuantificando las semillas germinadas respecto al total, durante siete días. La longitud de raíz y la longitud de vástago fueron

el promedio alcanzado a los siete días desde el inicio de la germinación.

A las variables evaluadas se les realizó un análisis de varianza y una comparación de medias con la prueba de Tukey, 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.01$) entre colectas (A), potenciales osmóticos (B) y la interacción (A x B), para el porcentaje de germinación, la longitud de raíz y la longitud de vástago. Lo anterior significa que en el análisis de los resultados se deben considerar cada uno de estos factores.

Con respecto a colectas, se observa, en el Cuadro 1, que CVJ fue estadísticamente superior, seguida por CEL y CPIM con promedios de 80.61, 68.97 y 55.83% de germinación, respectivamente. Por otra parte, la longitud de raíz fue similar en CVJ y CEL, pero superior a la de CPIM. Finalmente, la longitud de vástago fue diferente en cada colecta en el orden $CVJ > CEL > CPIM$, con 22.39, 20.67 y 16.94 mm, respectivamente.

Con relación al potencial osmótico, se observa que, a partir de -1.293 MPa, la germinación promedio de las tres colectas disminuyó en más de 50% (Cuadro 1).

El análisis del comportamiento individual de la germinación, de cada una de las colectas en el gradiente osmótico, permite observar que CVJ fue estadísticamente superior a las otras, logrando una germinación de 29.00% en el nivel de -1.724 MPa, mientras que CEL y CPIM tan sólo alcanzaron 8.75% y 0.0%, respectivamente (Cuadro 2). Es notorio que, en CVJ, el porcentaje de germinación fue similar hasta el

Cuadro 1. Comparación de medias para la germinación, la longitud de raíz y vástago en tres colectas de frijolillo con un gradiente de potencial osmótico con manitol.

Factor	Germinación	Longitud de raíz	Longitud de vástago
	%	mm	mm
Colectas [†] :			
CVJ	80.611 a [§]	22.556 a	22.389 a
CEL	68.972 b	22.417 a	20.667 b
CPIM	55.833 c	17.806 b	16.944 c
Potencial osmótico en MPa [†] :			
0	99.083 a	48.250 a	42.000 a
-0.215	99.333 a	46.167 a	34.833 b
-0.431	94.750 b	35.917 b	29.167 c
-0.646	91.917 b	25.333 c	22.667 d
-0.862	86.000 c	15.083 d	16.167 e
-1.077	62.917 d	8.250 e	12.750 f
-1.293	44.833 e	4.838 f	9.500 g
-1.508	24.833 f	3.167 fg	7.000 h
-1.724	12.583 g	1.333 g	5.917 h

[†] n = 36; [†] n = 12. [§] Medias con letras iguales en columnas son iguales entre sí (Tukey, 5%).

nivel de -0.646 MPa, en contraste con las otras dos colectas que disminuyeron en forma significativa esta variable a partir del nivel de -0.431 MPa. El resultado de la CVJ es similar a lo reportado por Promila y Kumer (2000), quienes señalaron que aun con 180 mM de NaCl no hubo reducción en germinación y emergencia de semillas de frijol mungo (*Vigna radiata*). Wang y Shannon (1999) encontraron similar tasa de emergencia en semilla de soya (variedad Manokin) cuando la conductividad eléctrica del extracto de suelo (CEe) fue menor que 3 dS m^{-1} . Sin embargo, la emergencia

Cuadro 2. Efecto del potencial osmótico (PO) sobre la germinación y el crecimiento de raíz y vástago en tres colectas de frijolillo [Villa Juárez (CVJ), El Limón (CEL) y Pimientillo (CPIM)].

PO	CVJ	CEL	CPIM	CVJ	CEL	CPIM	CVJ	CEL	CPIM
MPa	% de germinación			longitud de raíz (mm)			longitud de vástago (mm)		
0	99.25 a [†]	99.25 a	98.75 a	48.75 a	50.50 a	50.50 a	41.75 a	41.75 a	42.5 a
-0.215	99.50 a	99.50 a	99.00 a	46.75 a	47.75 a	44.00 a	34.25 b	37.25 b	33.00 b
-0.431	99.00 a	92.50 b	93.00 b	39.25 b	38.25 b	30.25 b	30.50 c	31.75 c	25.25 c
-0.646	99.25 a	93.50 b	83.00 c	26.75 c	31.25 c	18.00 c	25.50 d	22.75 d	19.75 d
-0.862	91.50 b	88.25 b	78.25 c	16.75 d	16.00 d	12.50 d	19.75 e	15.00 e	13.75 e
-1.077	80.50 c	69.75 c	38.50 d	11.25 e	8.00 e	5.50 e	15.25 f	12.50 e	10.50 f
-1.293	74.50 c	49.25 d	10.75 e	7.00 f	5.25 ef	2.25 ef	13.75 fg	9.25 f	5.50 g
-1.508	53.00 d	20.25 e	1.25 f	4.50 fg	2.75 f	2.25 ef	11.00 gh	7.75 f	2.25 h
-1.724	29.00 e	8.75 f	0.00 f	2.00 g	2.00 f	0.00 f	9.75 h	8.00 f	0.00 h

[†] Medias con letras iguales en columnas son iguales entre sí (Tukey, 5%).

disminuyó significativamente con valores de CEC de 11 dS m^{-1} . Los resultados del presente estudio concuerdan con lo encontrado por investigadores que trabajaron con diversos cultivos como Hurd (1974), quien estudió el porcentaje de germinación de semilla de trigo en diferentes potenciales osmóticos, encontró que algunas variedades germinaron desde 3 hasta 49% en soluciones de manitol de -20 atmósferas (-2.027 MPa); Dowling (1996), quien evaluó tres niveles de potencial osmótico sobre la emergencia de canola, encontró valores de emergencia de 90% para el potencial osmótico de 0 MPa, mientras que con el nivel de -1.2 MPa no hubo emergencia de canola; Espinoza y Kuruvadi (1985), quienes evaluaron el porcentaje de germinación en pasto gigante en potenciales osmóticos de 0, -3, -6, -9, -12 y -15 atmósferas (0, -0.304, -0.608, -0.912, -1.216 y -1.520 MPa) y éste varió de 1.4 (Zacatecas 7) a 17.7% (Chihuahua 30) en 15 atmósferas.

El efecto del potencial osmótico sobre la longitud de raíz, en cada una de las colectas, fue similar en los dos primeros niveles evaluados (0 y -0.215 MPa). Sin embargo, a partir del nivel de -0.431 MPa existen diferencias significativas para cada uno de los niveles probados. A partir de un potencial osmótico de -1.077 MPa se inhibe fuertemente la elongación de la raíz. Estos resultados concuerdan con lo señalado por Cachorro *et al.* (1993) quienes encontraron que tanto el tallo de plántulas, como las raíces de frijol común disminuyeron significativamente su crecimiento después de 13 días bajo tratamiento salino con cloruro de sodio. Similares resultados reportaron Preciado-Rangel *et al.* (2003), quienes obtuvieron un menor crecimiento de la raíz de plántulas de melón y una disminución en la absorción de agua y nutrientes. El comportamiento individual de cada una de las tres colectas en el gradiente del potencial osmótico permite observar que CVJ y CEL produjeron raíces de tamaño similar en todo el gradiente evaluado, mientras que CPIM resultó más afectada por el menor potencial osmótico.

La respuesta de la longitud de vástago fue similar en CVJ y CEL, con una disminución gradual de crecimiento, hasta el nivel de -0.862 MPa (Cuadro 2). A partir de este potencial osmótico, el crecimiento disminuyó en más de 50% en estas dos colectas. El comportamiento de la CPIM fue diferente, ya que, a partir de una presión de -0.646 MPa, el crecimiento se redujo a una tasa mayor que 50%, mientras que con el nivel de -1.724 no hubo crecimiento. Estos resultados concuerdan con lo señalado por Schildwacht (1989)

quien encontró que una baja presión osmótica induce un estrés hídrico en las plántulas, el cual resulta en inhibición del crecimiento. Lo anterior es consecuencia de un ajuste osmótico de la planta para mantener un gradiente favorable para la absorción de agua y nutrientes, mecanismo que ocasiona una disminución en el crecimiento. Boutraa y Sanders (2001) evaluaron dos variedades de frijol común, en condiciones de estrés de agua, y encontraron una disminución en el número de hojas y nudos del tallo principal, así como en el número de ramas principales y la altura del tallo.

En este mismo contexto, en la Figura 1, se analiza el comportamiento de la germinación de acuerdo con la ecuación de Maas y Hoffman (1977):

$$Y = 100 - p(\text{PO}_e - \text{PO}_i),$$

donde: Y = rendimiento relativo, pero en este estudio representa las semillas germinadas; P = pendiente; porcentaje de reducción de respuesta por unidad de disminución de presión osmótica; PO_e = potencial osmótico esperado; PO_i = potencial osmótico hasta el cual se espera se mantenga la máxima respuesta.

Así, el mínimo potencial osmótico en el que las colectas manifestaron una germinación de 100% fue de -0.3375 MPa para CPIM, -0.4235 MPa para CEL y -0.7324 MPa para CVJ, mientras que el potencial osmótico para el que se espera la germinación de cada una de las colectas sea igual a cero fue de -1.6167, -1.9961 y -2.3156 MPa, respectivamente. Se observó que la tolerancia de la colecta CVJ fue superior, seguida por CEL, y que la tolerancia de CPIM fue siempre menor.

Por su parte, el comportamiento individual de cada una de las tres colectas en el gradiente osmótico permitió observar que, a partir de -0.646 MPa, CVJ produjo las plántulas de mayor tamaño, seguida por CEL, mientras que CPIM resultó más afectada a medida que disminuyó el potencial osmótico (Figura 2).

En general, a medida que disminuyó el potencial, decayó la respuesta para esta variable, con una tendencia de tipo cuadrático. Es notable que la elongación de la raíz fue más afectada que la del vástago a partir de -0.862 MPa.

En lo que respecta al daño causado por los bajos potenciales osmóticos en las plántulas, se observó que los meristemas del vástago y de la raíz se tornaron de color café a partir de -1.293 MPa y no se recuperaron después de extraerlas del medio osmótico y trasladarlas a otro medio normal. En forma general, los altos

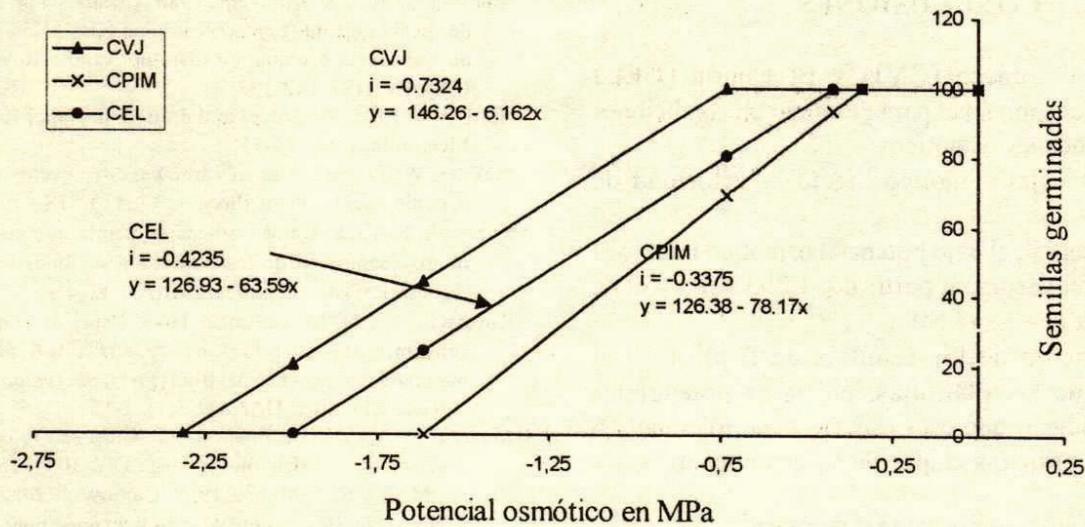


Figura 1. Germinación de semillas de frijolillo en un gradiente osmótico de acuerdo con la ecuación de Maas y Hoffman (1977).

porcentajes de germinación manifestados por la semilla de frijolillo, así como el excelente comportamiento de sus plántulas a bajos potenciales osmóticos, indican que en las poblaciones nativas de esta especie, que se desarrollan en la Llanura Costera de Nayarit, existe tolerancia a sequía en las primeras etapas de su desarrollo. Esto concuerda con Kuruvadi (1988), quien señaló que en regiones con escasez de humedad deben utilizarse variedades con alto porcentaje de germinación en bajos potenciales osmóticos para garantizar

el establecimiento de una mejor población en el campo, ya que esto indica resistencia a sequía. Este autor señaló que las características que contribuyen a una mejor adaptación a la sequía deben estudiarse en tres niveles: nivel de semilla, plántula y planta adulta. Agregó, que en nivel de semilla, una de las mejores pruebas para identificar variedades resistentes a sequía es determinar el porcentaje de germinación a diferentes potenciales osmóticos con manitol.

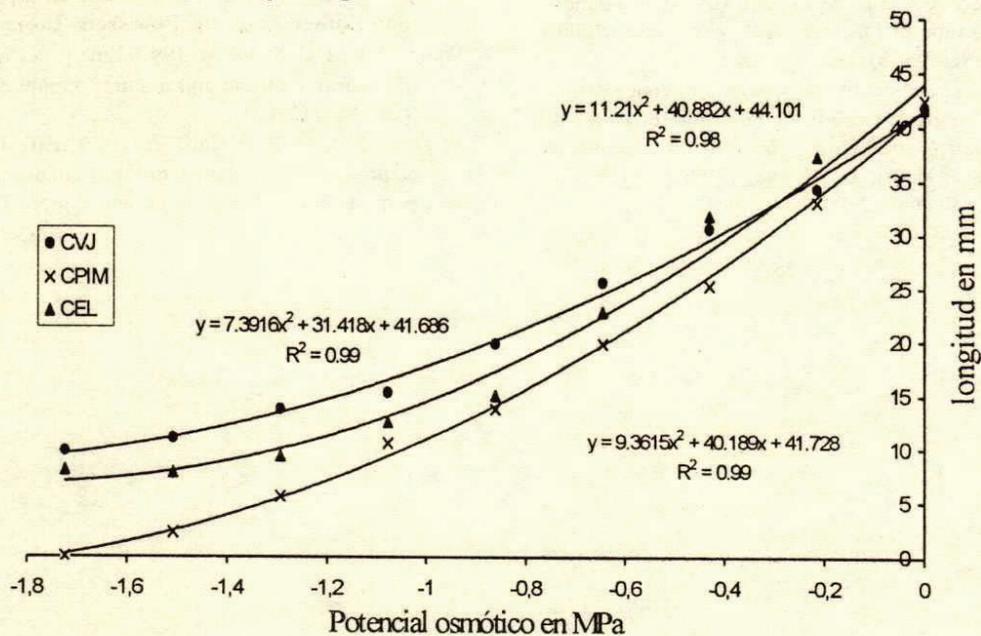


Figura 2. Efecto del potencial osmótico sobre la elongación del vástago de plántulas de frijolillo.

CONCLUSIONES

- Las colectas Juárez (CVJ) y El Limón (CEL) mostraron tener capacidad para germinar en condiciones de bajos potenciales osmóticos.
- El bajo potencial osmótico afectó la velocidad de germinación.
- En forma general, el bajo potencial osmótico inhibió el crecimiento del vástago a partir de -1.293 MPa y el de la raíz a partir de -0.862 MPa.
- La germinación de las semillas de frijolillo y el crecimiento de las plántulas, en bajos potenciales osmóticos, indican que esta especie tiene tolerancia a sequía en las primeras etapas de su crecimiento.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo mediante la beca otorgada (Registro No. 55116) y el financiamiento del proyecto CONACYT 0707-B.

LITERATURA CITADA

- Blum, A. 1979. Genetic improvement of drought resistance in crop plants: a case for sorghum. pp. 429-445. In: Mussel, H. (ed.). Stress physiology in crop plants. John Wiley. New York, NY, USA.
- Boutraa, T. y F. E. Sanders. 2001. Influence of water stress on grain yield and vegetative growth of two cultivars of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) J. Agron. Crop Sci. 187: 251-257.
- Cachorro, P., A. Ortiz y A. Cerda. 1993. Growth, water relations and solute composition of *Phaseolus vulgaris* L. under saline conditions. Plant Sci. 95: 23-29.
- Dowling, C. W. 1996. The effect of soil ammonium concentration and osmotic pressure on seedling emergence. Proc. 8th Australian Agronomy Conference. Toowoomba. Queensland. <http://www.regional.org.au/au/asa/1996/contributed/219dowling.htm> (30 enero 2004).
- Espinoza, Z. R. y S. Kuruvadi. 1985. Clasificación de colecciones de zacate gigante (*Leptochloa dubia* HBK, Ness) por su grado de resistencia a sequía en manitol. Agraria Revista Científica UAAAN 1(2): 142-152.
- Hurd, E. A. 1974. Phenotype and drought tolerance in wheat. Agric. Meteorology 14: 34-55.
- Jackson, W. T. 1962. Use of carbowaxes (polyethylene glycol) as osmotic agents. Plant Physiol. 37: 513-518.
- Kuruvadi, S. 1988. Características de planta que contribuyen a la mejor adaptación de los cultivos a regiones semidesérticas. Agraria Revista Científica UAAAN 11-4.
- Kuruvadi, S. y H. M. Cortinas. 1987. Papel de componentes del rendimiento, correlaciones y sus implicaciones en el mejoramiento genético del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Agraria Revista Científica UAAAN 3(1): 1-15.
- Maas, E. V. y G. J. Hoffman. 1977. Crop salt tolerance: current assessment. J. Irrigation Drainage Div. 103: 115-134.
- Parmar, M. T. y R. P. Moore. 1968. Carbowax 6000, mannitol and sodium chloride for simulating drought conditions in germination studies of corn (*Zea mays* L.) of strong and weak vigor. Agron. J. 60: 192-195.
- Preciado-Rangel, P., G. A. Baca-Castillo, J. L. Tirado-Torres, J. Kohashi-Shibata, L. Tijerina-Chávez y A. Martínez-Garza. 2003. Presión osmótica de la solución nutritiva y la producción de plántulas de melón. Terra 21: 461-470.
- Promila, K. y S. Kumar. 2000. Vigna radiata seed germination under salinity. Biologia Plantarum 43: 423-426.
- Quizenberry, J. E. 1987. Mejoramiento de la planta para la resistencia a la sequía y el aprovechamiento del agua. pp. 233-256. In: Christiansen, M. N y C. F. Lewis (eds.). Mejoramiento de plantas en ambientes poco favorables. Limusa. México, D.F.
- Schildwacht, P. M. 1989. Changes in the osmotic potential of the root as a factor in the decrease in the root-shoot ratio of *Zea mays* plants under water stress. pp. 235-239. In: Loughman, B. C. (ed.). Structural and functional aspects of transport in root. Kluwer Academic Publishers. Boston, MA, USA.
- Wang, D. y M. C. Shannon. 1999. Emergence and seedling growth of soybean cultivars and maturity groups under salinity. Plant Soil 214: 117-124.
- Wiggins, S. C. y F. P. Gardner. 1959. Effectiveness of various solutions for simulating drought conditions as measured by germination and seedling growth. Agron. J. 51: 315-318.