



UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA



Trabajo Final presentado para optar al Grado de Ingeniero
Agrónomo

**BRASINOESTEROIDES, ESTRIGOLACTONAS,
KARRIKINAS y ETHEPHON: SU INTERACCIÓN CON
ÁCIDO ABCSÍCICO Y GIBERELINAS EN LA
REGULACIÓN DE LA GERMINACIÓN Y DORMICIÓN
DE SEMILLAS DE GIRASOL.**



Autor: Giulitti, Maximiliano Fabián

Director: Dra. Ana Vigliocco

Co-director: Dra. Sara Basconsuelo

RÍO CUARTO - CÓRDOBA

2025

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

Título del Trabajo Final: Brasinoesteroides, Estrigolactonas, Karrikinas y Ethephon: su interacción con ácido abscísico y giberelinas en la regulación de la germinación y dormición de semillas de Girasol.

Autor: Giulitti, Maximiliano Fabián

DNI: 40.964.441

Directora: Dra. Ana Vigliocco

Codirectora: Dra. Sara Basconsuelo

Aprobado y corregido de acuerdo con las sugerencias de la comisión evaluadora:

Andres, Javier Alberto

Crenna, Ana Cecilia

Fecha de presentación: 30/05/2025

Secretario Académico

ÍNDICE

RESUMEN	1
SUMMARY	2
INTRODUCCIÓN	3
La importancia del Girasol en la República Argentina.....	3
Características de la especie.....	5
La germinación: definición y factores que la afectan.....	7
Dormición.....	8
El rol de las hormonas vegetales a nivel de semillas.....	8
Ácido Abscísico.....	9
Giberelinas.....	11
Otros reguladores del crecimiento vegetal involucrados en la dormición y germinación de semillas	13
Brasinoesteroides.....	13
Estrigolactonas.....	14
Karrikinas.....	16
Ethephon.....	17
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	19
MATERIALES Y MÉTODOS	20
RESULTADOS	23
DISCUSIÓN	46
CONCLUSIONES	50
BIBLIOGRAFÍA CITADA	51

RESUMEN

La dormición de la semilla del girasol es un carácter hereditario, pero poco deseado en cualquier sistema productivo, ya que al retrasar la germinación puede generar no uniformidad temporal en la emergencia de la plántula e incluso aumenta la probabilidad de muerte de las semillas por el ataque de patógenos. El objetivo de este trabajo fue estudiar el rol de brasinoesteroides (BRs), estrigolactonas (SLs), karrikinas (KARs) y Ethephon en la regulación de la germinación y dormición de semillas de líneas endocriadas de girasol y analizar su interacción con ácido abscísico (ABA) y giberelinas (GAs). Para ello, se determinó el poder germinativo (PG) de semillas de girasol de las líneas B91, B123 y A-3 al momento de cosecha y en semillas de las líneas B123 y A-3 luego de la aplicación de tratamientos exógenos con reguladores del crecimiento como: BL 2,5 μM , BL 0,5 μM , GR24 20 μM , GR24 5 μM , GR24 0,5 μM , GR24 0,01 μM , KAR2 100 μM , KAR2 1 μM y Ethephon 1000 μM . Los niveles hormonales de ABA y GAs (GA_1 y GA_4) se evaluaron en eje embrionario, de semillas secas (0 h) y embebidas (3, 6 y 12 h) tratadas con agua deionizada (control) o Ethephon 1000 μM . ABA y GAs se identificaron y se cuantificaron por Cromatografía Líquida-Espectrometría de Masas en Tándem (LC-ESI/MS-MS). Las líneas con dormición a cosecha (A-3 y B 123) presentaron mayores niveles endógenos de ABA en eje embrionario, mientras que en la línea B91, sin dormición, los niveles de GA_1 y GA_4 fueron superiores. La aplicación exógena de Ethephon (1000 μM) fue efectiva en la liberación de la dormición de semillas de girasol y modificó los niveles endógenos de ABA, GA_1 y GA_4 en eje embrionario. La liberación de la dormición de semillas de girasol estuvo asociada a la disminución de relación ABA/GAs en eje embrionario.

SUMMARY

Sunflower seed dormancy is a hereditary trait, but it is undesirable in the productive system, since by delaying germination, it can generate temporary non-uniformity in the emergence of the seedling and even increase the probability of seed death due to pathogen attack. The objective of this work was to study the role of brassinosteroids (BRs), strigolactones (SLs), karrikins (KARs) and Ethephon in the regulation of seed germination and dormancy of inbred sunflower lines and to analyze their interaction with abscisic acid (ABA) and gibberellins (GAs). For this purpose, the germination power (GP) of sunflower seeds of the lines B91, B123 and A-3 was determined at harvest and in B123 and A-3 seed after the application of exogenous treatments with growth regulators such as: BL 2.5 μM , BL 0.5 μM , GR24 20 μM , GR 24 5 μM , GR24 0.5 μM , GR24 0.01 μM , KAR2 100 μM , KAR2 1 μM and Ethephon 1000 μM . The levels of ABA and GAs (GA_1 and GA_4) were evaluated in the embryonic axes of dry (0 h) and imbibed seeds (3, 6 y 12 h) treated with deionized water (control) or Ethephon 1000 μM . ABA and GAs were identified and quantified by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-ESI/MS-MS). The lines with dormancy at harvest (A-3 and B-123) presented highest endogenous levels of ABA in embryonic axes, while in line B91, without dormancy, the levels of GA_1 and GA_4 were the highest. The exogenous application of Ethephon released the seed dormancy and modified the endogenous levels of ABA, GA_1 and GA_4 in the embryonic axes. The release of sunflower seed dormancy was associated with a decrease in the ABA/GAs ratio in the embryonic axes.

INTRODUCCIÓN

La importancia del girasol en la República Argentina

El girasol (*Helianthus annuus* L.) se sitúa entre los cultivos oleaginosos más importantes a nivel mundial (Adeleke y Babalola, 2020). Su principal uso es la producción de aceite comestible de alta calidad y el biodiésel, gracias al elevado contenido de aceite que presentan sus granos, que varía entre el 38% y el 50% (Salgado, 2009). Este cultivo tiene su origen en Norteamérica, aunque en la actualidad se cultiva en nuestro país desde el sudeste de la región pampeana hasta la región chaqueña (Fig. 1). Esto se debe a su notable plasticidad tanto por sus características vegetativas, como el tamaño de las hojas, como por las reproductivas, es decir, el número de inflorescencias.

Además de su uso para la extracción de aceite, el girasol tiene otros usos, como la producción de harina y pellets destinados al consumo animal. También puede consumirse directamente como "snack" o ser utilizado para confitería, especialmente aquellos genotipos que presentan semillas de mayor tamaño. La inflorescencia del girasol puede ser utilizada con fines ornamentales o como forraje (Salgado, 2009).

Según información proporcionada por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, la siembra del girasol para la campaña 2022/23 alcanzó un total de 2,2 millones de hectáreas, lo que representa un aumento del 14% o 284.000 hectáreas.

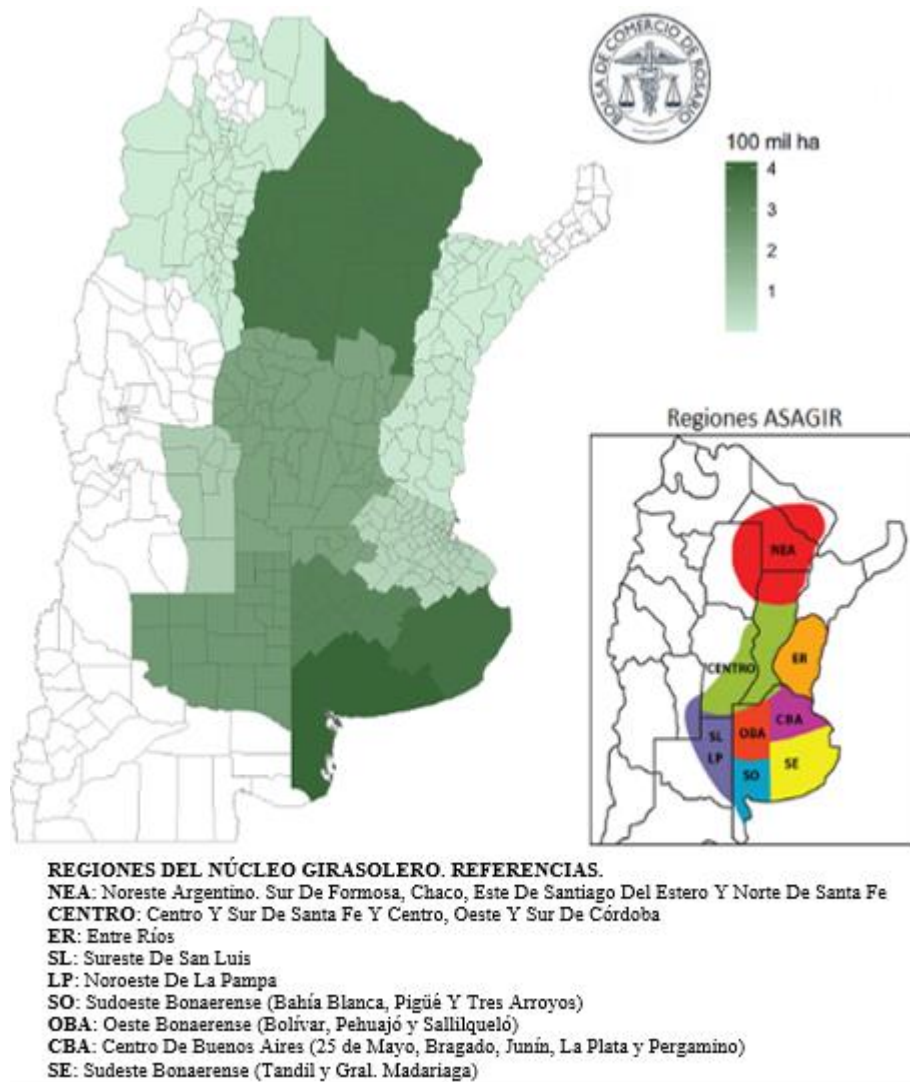


Figura 1. Área sembrada de girasol 2022/23 por regiones (Bolsa de comercio de Rosario, 2023)

La Región Sur se destaca como la principal área de producción de girasol en el país y ocupa el segundo lugar en cuanto a industrialización. Por otro lado, la Región Centro es la que cuenta con la mayor capacidad para la industrialización de oleaginosas. Es pertinente mencionar que esta región consume mucho más girasol del que produce cada año, dado que la cantidad de girasol procesada supera la producción registrada en su territorio. En contraste, la Región Norte también presenta un buen nivel de producción, y adicionalmente, suministra materia prima a diversas fábricas en la región centro, que se encargan de elaborar aceite de girasol bruto, el cual será exportado o refinado para su posterior distribución en el mercado interno (Fig. 2).

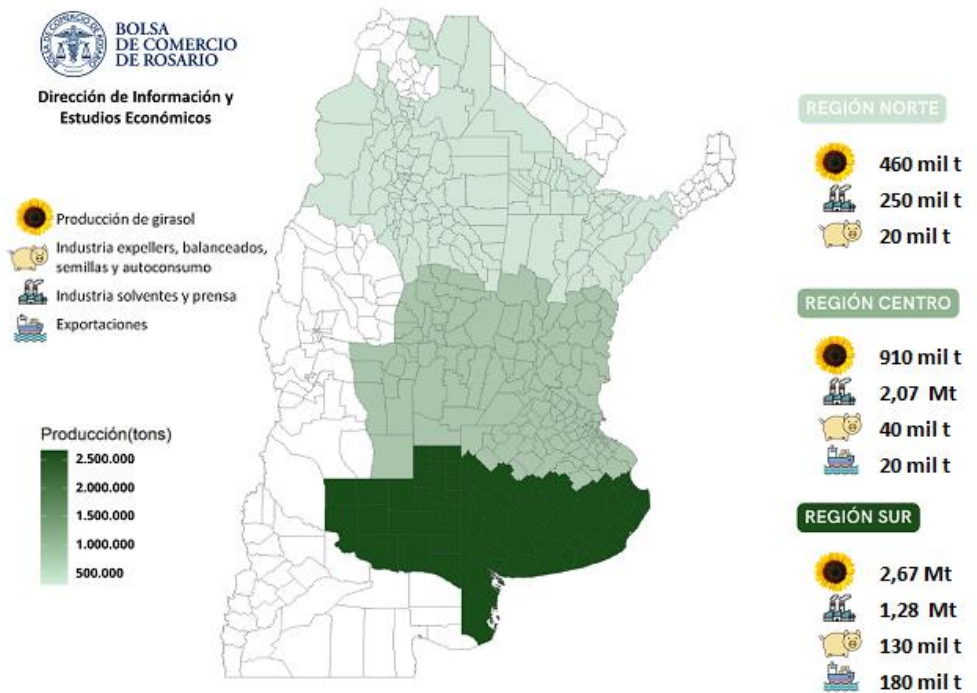


Figura 2. La producción de girasol 2022/23 en Argentina y su destino (Bolsa de comercio de Rosario, 2023).

Características de la especie

El girasol (*H. annuus*) es una planta que pertenece a la familia Asteraceae, con un ciclo de vida anual (Fig. 3). Su sistema radicular está compuesto por una raíz principal y numerosas raíces secundarias que pueden llegar a una profundidad de hasta 3 metros. Su tallo es erguido, sólido y cilíndrico, y presenta pequeños pelos o tricomas. La planta puede alcanzar una altura de entre 60 y 200 cm. Sus hojas son simples alternas, con bordes dentados. El número de hojas por planta oscila entre 12 y 40, dependiendo de las condiciones de cultivo y la variedad.



Figura 3. Planta de girasol

En el capítulo (inflorescencia), el pedúnculo es el eje que sostiene la inflorescencia. Las flores se encuentran insertadas en el receptáculo (raquis ensanchado) rodeado de brácteas protectoras que en conjunto forman el involucre (Fig. 4). Las flores del centro, denominadas tubulares o tubulosas, son hermafroditas y están dispuestas en forma de espiral. Por el contrario, a las flores externas se las denomina liguladas y son estériles. Estas últimas tienen como función atraer a polinizadores.



Figura 4. Capítulo (Inflorescencia) del girasol y sus partes.

La reproducción en el girasol es alógama, lo que significa que la polinización ocurre principalmente de manera cruzada debido a un mecanismo fisiológico de auto-incompatibilidad esporofítica. Sin embargo, gracias al mejoramiento genético, los cultivares modernos han alcanzado una mayor auto-compatibilidad. Luego de la fecundación de la flor, el ovario se convierte en fruto y el óvulo en semilla.

El fruto del girasol se conoce como cipsela o aquenio (Fig. 5), el cual se caracteriza por ser un fruto seco e indehiscente, compuesto por el pericarpio y la semilla. La semilla, a su vez, está formada por el embrión (eje embrionario y cotiledones) y la testa o cubierta seminal (Girón, 2023).

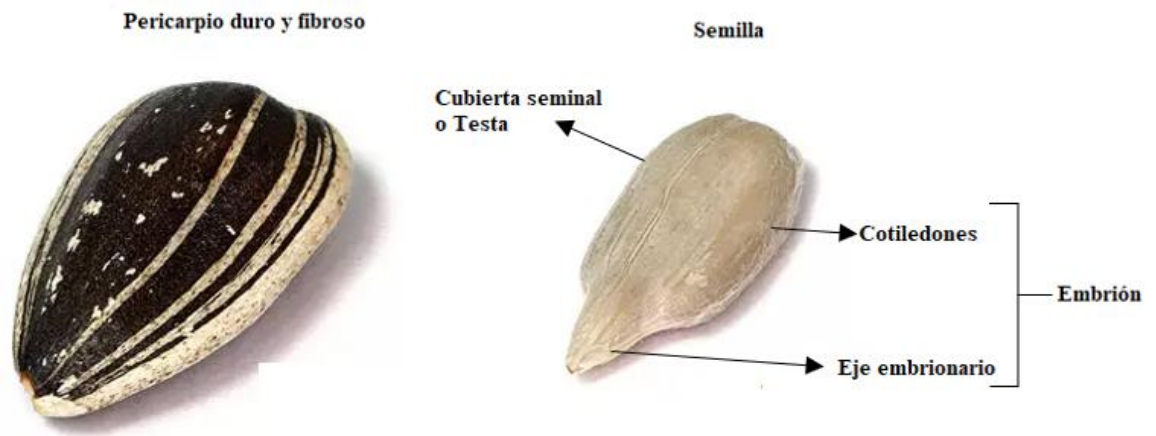


Figura 5. “Cipsela”, fruto del girasol con sus partes.

La germinación: definición y factores que la afectan

La germinación es el proceso fisiológico que se inicia con la absorción de agua por parte de las semillas (imbibición) y finaliza con la elongación del eje embrionario, lo que se visualiza cuando la radícula atraviesa la cubierta seminal. En otras palabras, la germinación es el resultado final de una serie de procesos metabólicos y morfogenéticos ordenados y secuenciados en el tiempo. Diferentes factores afectan el proceso de germinación y los mismos pueden clasificarse en: externos o extrínsecos como por ejemplo el agua, la temperatura y/o los gases (O_2) e internos o intrínsecos, los que son propios de la semilla tales como la madurez, la viabilidad y la dormición.

De los factores mencionados antes, probablemente la dormición sea el más importante, ya que es un carácter hereditario que afecta la germinación de una semilla viable en condiciones ambientales adecuadas (Arata, 2015).

Dormición

La dormición es un proceso controlado por propiedades físicas y/o fisiológicas propias de las semillas que impide la germinación de las mismas, incluso cuando se encuentran en condiciones óptimas para germinar. Existen varias causas que determinan el nivel de dormición de la semilla, entre ellas la presencia de inhibidores de la germinación, de embriones rudimentarios o fisiológicamente inmaduros, o de cubiertas seminales que pueden impedir la absorción de agua necesaria para la germinación, dificultar el intercambio gaseoso, o imponer una alta resistencia mecánica, entre otras (Lamont y Pausas, 2023).

En la práctica, en los sistemas productivos ningún productor agropecuario desea el carácter “dormición” en semillas, ya que una germinación rápida y uniforme es requerida después de la siembra (Benech-Arnold *et al.*, 2013) en vista de que se considera a la fase de establecimiento, una etapa crítica para la maximización de los rendimientos de grano (Finch-Savage y Bassel, 2016). Por lo cual se han implementado diferentes tratamientos tendientes a superar el problema de la dormición de semillas, entre ellos escarificación, almacenamiento en seco, estratificación, aplicación exógena de compuestos nitrogenados y de hormonas vegetales o fitoreguladores (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Finkelstein *et al.*, 2008; Nasreen *et al.*, 2015). Tanto la efectividad como el tiempo de aplicación de cada uno de estos tratamientos varía, pero se ha demostrado que los mismos pueden implementarse con el fin de superar el problema de dormición (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Finkelstein *et al.*, 2008; Nasreen *et al.*, 2015).

En el girasol, la dormición está regulada por diferentes factores. La dormición impuesta por el embrión es de corta duración mientras que la dormición provocada por las cubiertas seminales (testa y/o pericapo) suele persistir por más de 8 meses (Brunick, 2007). Por otro lado, la duración de la dormición en el girasol puede variar según el genotipo, y puede extenderse desde varias semanas hasta casi un año. Los híbridos suelen mostrar niveles más altos de dormición en comparación con otros genotipos cultivados (Maiti *et al.*, 2006; Benech-Arnold *et al.*, 2013), lo cual puede afectar la calidad de la semilla y, en consecuencia, su capacidad de germinación.

El rol de las hormonas vegetales en la germinación y dormición de semillas

Las hormonas vegetales son compuestos producidos endógenamente por las plantas, ejercen su función a nivel celular a muy bajas concentraciones, regulando de este modo el crecimiento de los vegetales (Alcántara Cortes *et al.*, 2019).

Diversos estudios han demostrado que la germinación y la dormición de las semillas están reguladas por la acción coordinada de múltiples fitohormonas, mediante interacciones

tanto sinérgicas como antagónicas (Shu *et al.*, 2016; Skubacz y Daszkowska-Golec, 2017). Las principales fitohormonas involucradas en la regulación de estos procesos son el ácido abscísico (ABA) y las giberelinas (GAs), las cuales interactúan de manera antagónica (Liu y Hou, 2018). ABA induce y mantiene la dormición, mientras que las GAs promueven la germinación (Vishal y Kumar, 2018). Por lo tanto, la persistencia de la dormición depende de una alta proporción de ABA respecto a GAs, mientras que la ruptura de la dormición requiere un cambio hacia una mayor biosíntesis de GAs y el catabolismo de ABA, lo que se traduce en una disminución de la relación ABA/GAs (Skubacz y Daszkowska-Golec, 2017; Liu y Hou, 2018). Asimismo, una compleja red de interacciones con otras fitohormonas tales como ácido salicílico (SA), jasmonatos (JAs), auxinas (AUX), citocininas (CIT) y etileno (ET) entre otras, desempeñan un rol fundamental en la regulación de la dormición y germinación de semillas (Longo *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2023; Sajeev *et al.*, 2024).

Recientemente, se ha descubierto que otras fitohormonas, como los brasinoesteroides (BRs) y las estrigolactonas (SLs), también desempeñan un papel en la regulación de la germinación y la dormición (Mostofa *et al.*, 2018; Kim *et al.*, 2019). Además de las fitohormonas, otros compuestos tales como las karrikinas (KARs) han mostrado la capacidad de influir en estos procesos (Chiwocha *et al.*, 2009). Sin embargo, se requieren más investigaciones para esclarecer completamente el papel de estos reguladores del crecimiento en la regulación de la germinación y la dormición.

Ácido Abscísico (ABA)

El ABA ($C_{15}H_{20}O_4$) es un sesquiterpeno apocarotenoide (Fig. 6), que se sintetiza en los cloroplastos y otros plastidios mediante la escisión oxidativa de los epoxicarotenoides neoxantina y violaxantina. Su forma natural es (+)-(S)-ABA. Su fotoisomerización produce, en una proporción de aproximadamente el 50 %, los isómeros cis y trans, este último biológicamente inactivo (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

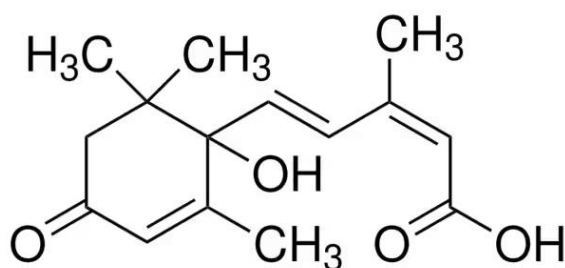


Figura 6. Estructura química del Ácido Abscísico.

La biosíntesis de ABA comienza en los plastidios y culmina en el citosol. Inicialmente, en los plastidios, la enzima fitoenodesaturasa desatura el fitoeno para formar licopeno. A continuación, la enzima licopeno β -ciclasa convierte el licopeno en β -caroteno. Luego, el β -caroteno es hidroxilado por la enzima β -caroteno hidroxilasa, produciendo zeaxantina, que es transformada en violaxantina mediante la acción de la enzima zeaxantinaepoxidasa (ZEP). La última conversión dentro de los plastidios es la transformación de violaxantina en 9-cis-violaxantina o 9-cis-neoxantina, que luego se convierte en xantoxina a través de una reacción catalizada por la enzima 9-cis-epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED), la cual es fundamental para la síntesis de ABA.

La xantoxina es entonces transportada al citosol, donde dos reacciones enzimáticas la convierten en ABA. Primero, una dehidrogenasa/reductasa de cadena corta (SDR) transforma la xantoxina en ABA aldehído, y finalmente, la oxidación de ABA aldehído a ABA es realizada por la enzima ABA aldehído oxidasa (AAO) (Sah *et al.*, 2016) (Fig. 7).

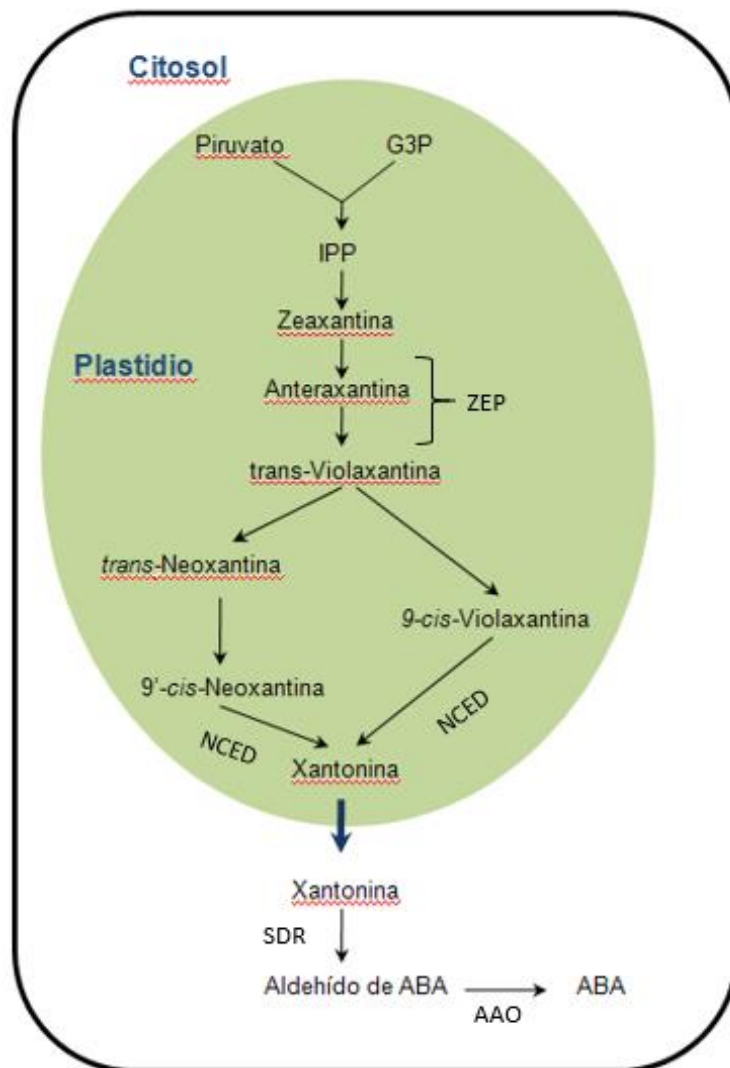


Figura 7. Biosíntesis de ABA (Sah *et al.*, 2016).

El ABA desempeña varios roles fisiológicos en las plantas tales como mediar los mecanismos de defensa frente a factores abióticos como por ejemplo a estrés hídrico, salino y temperaturas extremas (Sah *et al.*, 2016; Muhammad Aslam *et al.*, 2022) y factores de estrés biótico (Qi *et al.*, 2016; Gietler *et al.*, 2020). Además, regula otros procesos tales como inhibición del crecimiento vegetativo, dormición de yemas, abscisión de hojas, flores y frutos (Jordán y Casaretto, 2006). En cuanto al desarrollo de las semillas, el ABA está involucrado en los procesos de maduración, inhibición de la germinación temprana, y en la síntesis de proteínas esenciales para la tolerancia a la desecación durante la embriogénesis (proteínas LEA) (Finch-Savage y Leubner-Metzger 2006). Asimismo, el ABA juega un importante rol en la dormición de semillas, siendo el regulador negativo de la germinación (Ali *et al.*, 2022; Gianinetti, 2023). Por otro lado, diferentes estudios han reportado que el nivel de dormición de la semilla, está estrechamente relacionado con la sensibilidad de las mismas al ABA, pero no con el contenido de ABA (Footitt *et al.*, 2011; Rodríguez *et al.*, 2015; Laspina *et al.*, 2020).

Giberelinas (GAs)

Las giberelinas (GAs) son hormonas de crecimiento pertenecientes a la familia de los diterpenoides tetracíclicos ácidos, cuya estructura básica está formada por un anillo ent-giberelano (Fig. 8).

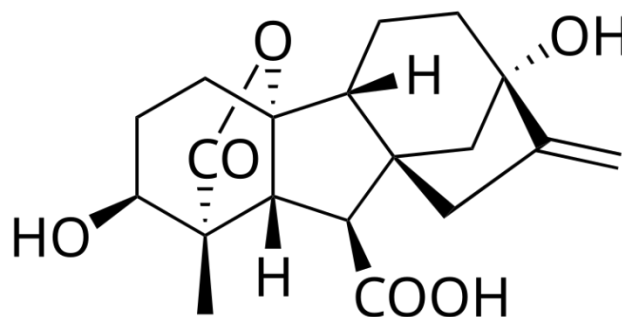


Figura 8. Estructura química de GAs

Aunque se han identificado más de 100 GAs en plantas, solo unas pocas demuestran una actividad biológica significativa. En este sentido, la mayoría de las GAs que conforman esta amplia familia de compuestos no tienen la capacidad por sí mismas para regular el crecimiento y desarrollo de las plantas. En realidad, la mayoría de las giberelinas actúan como precursores o productos inactivos, ya sean intermediarios o finales, dentro de las rutas biosintéticas que generan las giberelinas activas. Entre las GAs, aquellas que presentan en su

estructura química un grupo hidroxilo en la posición 3β, como GA₁, GA₄, GA₃ y GA₇, son las que exhiben actividad biológica (Hedden, 2020). La síntesis de GAs comienza con la formación de geranylgeranyl pirofosfato (GGPP o GGDP, si se emplea su sinónimo difosfato), que es el precursor de los diterpenos. Este compuesto se sintetiza principalmente en los plastidios a través de la vía del metileritritol fosfato (MEP), aunque también se ha identificado una ruta biosintética complementaria dependiente del mevalonato (MVA) en el citoplasma. La biosíntesis de las giberelinas se puede dividir en tres etapas claves (Fig. 9). En la primera etapa, el GGPP se convierte en ent-kaureno, que es un intermediario crucial en la vía biosintética de las giberelinas. En la segunda etapa, el ent-kaureno se transforma en GA₁₂-aldehído, un precursor inmediato de las giberelinas activas. En la tercera etapa, el GA₁₂-aldehído se convierte en diversas GAs, entre ellas las biológicamente activa como GA₁ y GA₄ (Borjas-Ventura *et al.*, 2020).

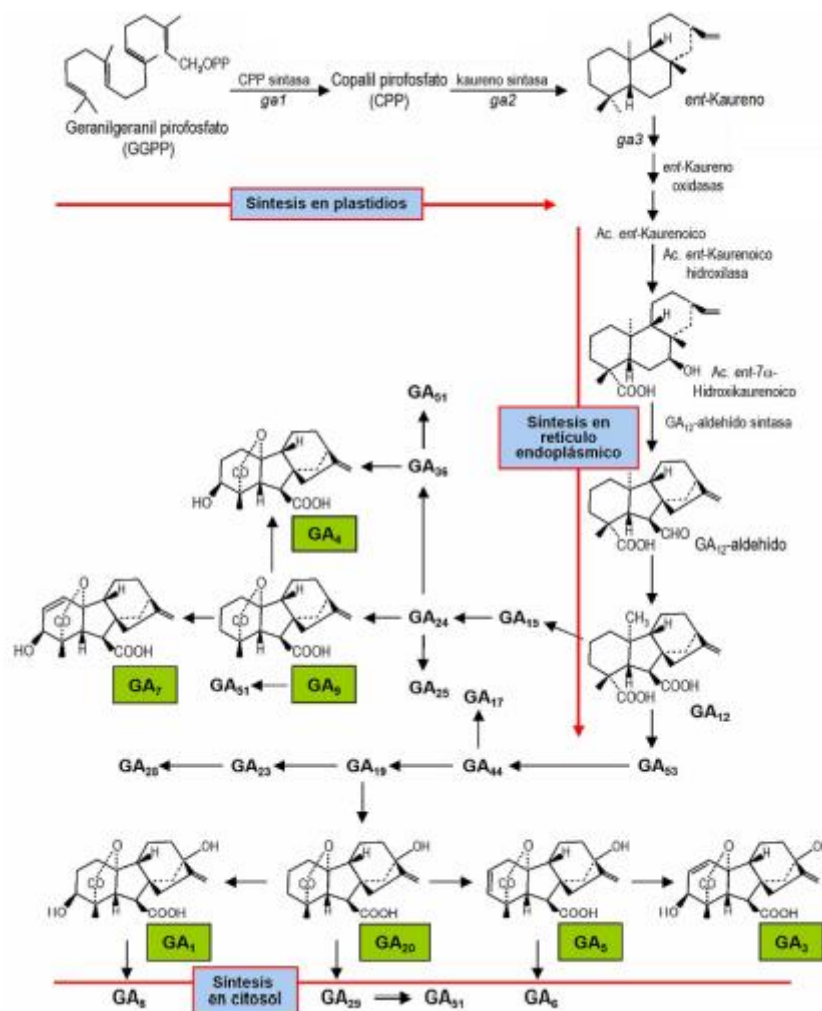


Figura 9. Biosíntesis de las principales giberelinas a partir de GGPP (Jordán y Casaretto, 2006).

La síntesis de giberelinas puede ser modificada por diferentes factores ambientales, tales como la temperatura y, sobre todo, las condiciones lumínicas en que las plantas crecen. Por otro lado, los niveles endógenos de GAs activas se regulan mediante complejos mecanismos de control internos tales como la retroalimentación negativa o positiva que permite la regulación de los niveles endógenos de GAs bioactivas mediante la activación o inhibición de la transcripción de genes que codifican enzimas de su biosíntesis, la conjugación con azúcares, la desactivación mediante la incorporación de un grupo hidroxilo en la posición 2 β , metilación, epoxidación (Gao *et al.*, 2017). También se conoce que la síntesis de GAs está regulada por otras hormonas, principalmente por auxinas y brasinoesteroides (Aguilar *et al.*, 2007; Jiménez Hernández, 2015).

Las GAs juegan un papel crucial en la regulación del crecimiento y desarrollo de las plantas. Son determinantes en el control de la elongación del tallo y, en algunas especies, pueden incluso inducir la reversión de la fase adulta a la fase juvenil. Además, las GAs influyen significativamente en los procesos reproductivos, participando en la inducción de la floración, el crecimiento y producción de flores, el cuajado, así como en el desarrollo y maduración de los frutos (Jordán y Casaretto, 2006). Respecto a la germinación de las semillas, las GAs están involucradas en la ruptura de la dormición, estimulando la germinación de semillas al suprimir antagónicamente el efecto del ABA (Tuan *et al.*, 2018), junto a otras hormonas tales como etileno (ET), brasinoesteroides (BRs), ácido jasmónico (JA), ácido salicílico (SA), citocininas (CTKs), auxinas y estrigolactonas (SLs) (Miransari y Smith, 2014; Shu *et al.*, 2016; Ali *et al.*, 2022). En particular, la transición dormición-germinación está regulado por el balance ABA/GAs (Yamaguchi, 2008; Gianinetti, 2023). En adición al contenido endógeno, en numerosas especies la transición del estado dormido a no dormido se caracteriza por una disminución en la sensibilidad a ABA y un incremento en la sensibilidad a GAs (Chiwocha *et al.*, 2005). También, las GAs pueden suplir las necesidades de luz o frío que requieren muchas semillas para germinar (González *et al.*, 2007) y, en los cereales, son fundamentales en la regulación de la hidrólisis de las reservas almacenadas en las semillas (Alberca Vega, 2019).

Otros reguladores del crecimiento vegetal involucrados en la dormición y germinación de semillas

Brasinoesteroides (BRs)

Los BRs son hormonas vegetales, considerados reguladores del crecimiento con efectos pleiotrópicos.

La estructura química los BRs cuenta con cuatro anillos (A, B, C y D) y una cadena lateral (Fig. 10). Son sintetizados a partir de la condensación de bloques de cinco átomos de

carbonos denominados isoprenos. Los BRs pueden tener 27, 28 o 29 átomos de carbono, siendo los más ampliamente distribuidos los que poseen 28 carbonos. Las variaciones estructurales están dadas por la presencia de un átomo de oxígeno en las posiciones C2, C3 y C6 de los anillos A y B, y en las posiciones C22 y C23 de la cadena lateral.

La síntesis de los BRs ocurre en el estroma de los plastidios, y los gránulos de almidón son los sitios de almacenaje de estas fitohormonas (Hernández Silva y García-Martínez, 2016).

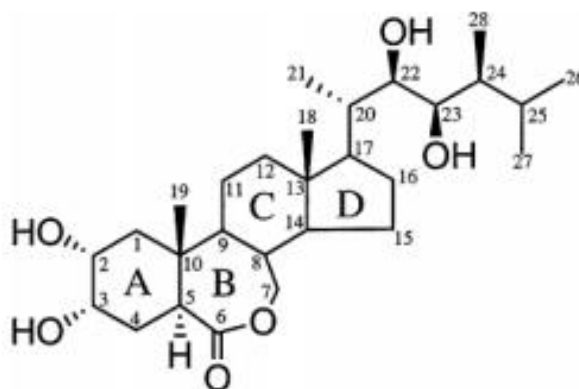


Figura 10. Estructura química de los brasinoesteroides.

En diferentes cultivos de importancia económica, los BRs se caracterizan por estimular el crecimiento vegetal, aumentar el rendimiento de la producción de biomasa y acelerar la maduración de frutos (Carbonell *et al.*, 2016). Además, aumentan la resistencia de las plantas a plagas y a factores de estrés abiótico como la salinidad, la sequía y la temperatura, así como también a plaguicidas y herbicidas (Torres - Ruiz *et al.*, 2007). Además, también se ha demostrado que los BRs son promotores de la germinación de las semillas en diferentes especies tales como arroz, trigo, tomate y tabaco (Hernández Silva y García-Martínez, 2016).

Estrigolactonas (SLs)

Las SLs son hormonas vegetales pertenecientes al grupo de las lactonas terpénicas y constan de una molécula de 3 anillos con un grupo cetona, unido a un butenolide a través de una unión enoléter (Fig. 11). Las SLs son productos derivados de la ruta biosintética de los carotenoides (Mota Elvira, 2020).

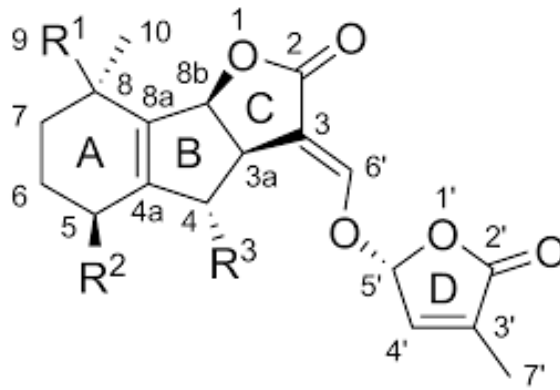


Figura 11. Estructura química de las Estrigolactonas.

Los primeros efectos documentados de las SLs se relacionan con la interacción de la planta con la rizósfera. Estas moléculas son conocidas por fomentar la formación de hifas en micorrizas arbusculares (Akiyama *et al.*, 2005) y también actúan como estimulantes en la germinación de plantas parásitas como *Striga*, *Orobancha* y *Phelipanche* spp. (Cardoso *et al.*, 2011). Además, se ha evidenciado que las SLs desempeñan un papel crucial en el control del desarrollo arquitectónico de la planta (Zwanenburg *et al.*, 2016), ya que pueden inhibir la ramificación de brotes y el crecimiento de yemas laterales del tallo (Gómez-Roldan *et al.*, 2008; Umehara *et al.*, 2008). Asimismo, las SLs participan en la represión de la formación de raíces laterales y en la estimulación de la elongación de la raíz en combinación con auxinas (Kapulnik *et al.*, 2011). Estas moléculas también colaboran, junto con citoquininas, en la supresión de la formación de raíces adventicias a partir de tejidos no radiculares (Gomez-Roldan *et al.*, 2008; Rasmussen *et al.*, 2012).

El GR24 es un compuesto sintético que actúa como un análogo de las SLs. Este compuesto se utiliza principalmente en estudios para investigar el papel de las SLs en diversos procesos fisiológicos de las plantas, incluido el proceso de germinación de semillas, especialmente en plantas parásitas (Akiyama *et al.*, 2005). En este sentido, en tomate, se ha demostrado que la germinación y las características morfológicas y fisiológicas de las plantas mejoraron con la aplicación exógena de GR24 ya que este compuesto contribuyó a mejorar la tasa fotosintética (Al-Amri *et al.*, 2023). Otros estudios han demostrado también que las SLs juegan un papel importante en la ruptura de la termoinhibición de la germinación de semillas. Por ejemplo, en *Arabidopsis thaliana*, la aplicación exógena de GR24 reduce la relación ABA/GAs, lo cual alivia la termoinhibición de la germinación de semillas, permitiendo la germinación de las mismas (Toh *et al.*, 2012).

Karrikinas (KARs)

Las KARs son un grupo de reguladores de crecimiento del tipo butenolide que se encuentran en el humo de la quema de material vegetal y juegan un papel relevante en la activación de la germinación de semillas dormidas en el suelo (Waters y Nelson, 2023). En efecto, las KARs tienen su origen en el calentamiento o la combustión de carbohidratos, como la celulosa (Flematti *et al.*, 2011). En 2004 se aisló el compuesto bioactivo principal en el humo y se identificó como 3-metil-2H-furo [2,3-c] piran-2-ona al que se denominó karriquina 1 (KAR1) (Flematti *et al.*, 2004). Actualmente, hay seis KARs conocidas que se designan KAR1, KAR2, KAR3, KAR4, KAR5 y KAR6 (Fig. 12). Respecto a la estructura química, las KARs están compuestas por un anillo butenolide y otro pirano (Marciniak *et al.*, 2023).

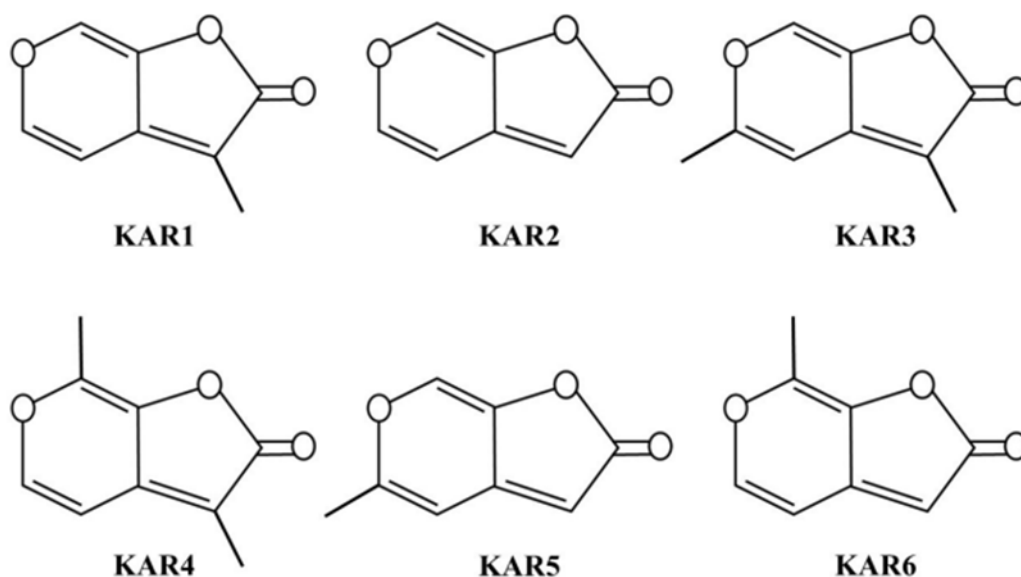


Figura 12. Estructura química de las karrikinas (KARs).

En cuanto a sus funciones fisiológicas, KAR2 es la KARs más eficaz en la inhibición de la elongación del hipocótilo de *Arabidopsis thaliana*. Tanto la inhibición de la elongación del hipocótilo como la expansión del cotiledón son respuestas dependientes de la luz al tratamiento con KARs (Antala *et al.*, 2019).

Por otro lado, las KARs estimulan el contenido de clorofila en especies de los géneros *Arabidopsis*, *Eragrostis* y *Daucus* (Antala *et al.*, 2019). Los KARs no solo influyen en el contenido de clorofila, sino que también mejoran la tasa neta de fotosíntesis, probablemente

como resultado de una mayor conductancia estomática y una mayor concentración de CO₂ intercelular, que se encontró en plantas de zanahoria tratadas con KAR1 y reducen el transporte de auxina (Antala *et al.*, 2019).

Por otro lado, diferentes estudios confirman la acción KARs sobre la germinación en gran número de especies. Por ejemplo, las KARs estimulan la germinación en *Avena fatua* (Cembrowska-Lech y Kępczyński, 2016), *Lactuca sativa*, *Nicotiana attenuata* (Flematti *et al.*, 2015) y *Arabidopsis thaliana* (Nelson *et al.*, 2009) entre otras especies. En este sentido, diferentes trabajos han reportado que las KARs al ser inductoras de la germinación de semillas interactúan con otras fitohormonas tales como ABA y GAs en la regulación de estos procesos (Sami *et al.*, 2021).

Ethephon

El Ethephon es un regulador sistémico del crecimiento de las plantas que pertenece a la familia de los fosfonatos. Las plantas lo pueden absorber fácilmente para inducir la síntesis y liberación de etileno (ET) (Fig. 13). Por lo tanto, el Ethephon juega un papel importante en la producción de cultivos (Hussain *et al.*, 2020; Yu *et al.*, 2017), ya que por ejemplo se usa para inducir la ruptura de dormición y por ende promover la germinación de las semillas (Arc *et al.*, 2013).

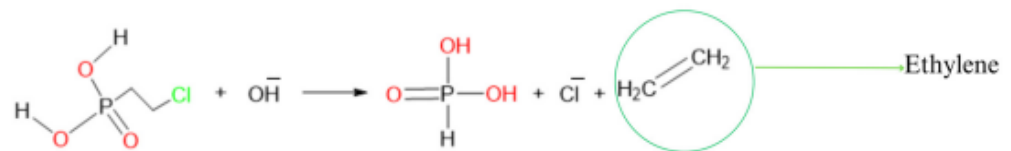


Figura 13. Biosíntesis de Etileno a partir de Ethephon

En efecto, diferentes estudios han demostrado que el ET juega un importante rol en la ruptura de la dormición y la germinación de semillas, en una interacción compleja con otros grupos hormonales tales como ABA y GAs así como también con óxido nítrico (NO) y especies reactivas de oxígeno (ROS) (Bailly *et al.*, 2023). En este sentido, existe una interacción negativa entre ET y la biosíntesis y el camino de señalización de ABA; mientras que por el contrario ET promueve el catabolismo de esta hormona. Respecto a GAs, ET estimula su biosíntesis y vía de señalización (Arc *et al.*, 2013; Corbineau *et al.*, 2014;)

En girasol, la expresión de la dormición a altas temperaturas (por ejemplo, a 45°C) ha sido asociada con la reducida producción de ET (Riveira Rubin, 2022). A su vez, la dormición secundaria está asociada a la incapacidad para convertir el ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) a Etileno. Además, se ha demostrado que la germinación de semillas de girasol pre-incubadas a 45°C fue estimulada por el ácido 2-cloroetil fosfónico (ethephon), compuesto liberador de ET (Riveira Rubin, 2022).

HIPOTESIS y OBJETIVOS

Hipótesis

Brasinoesteroides, Estrigolactonas, Karrikinas y Ethephon desempeñan un rol clave en la regulación de la germinación y dormición de semillas de girasol a través de la acción concertada con Ácido Abscísico y Giberelinas.

Objetivo general

Estudiar el rol de Brasinoesteroides, Estrigolactonas, Karrikinas y Ethephon en la regulación de la germinación y dormición de semillas de líneas endocriadas de girasol contrastantes en su capacidad germinativa y analizar su interacción con Ácido Abscísico y Giberelinas.

Objetivos específicos

1. Analizar la acción de Brasinoesteroides, Estrigolactonas, Karrikinas y Ethephon sobre la dormición de semillas de girasol de las líneas B123 y A-3 (ambas con dormición al momento de cosecha).

2. Cuantificar los niveles hormonales endógenos de ABA y GAs en eje embrionario de semillas secas y embebidas de girasol de la línea B91 (sin dormición a cosecha), B123 y A-3 al momento de cosecha.

3. Evaluar el efecto de Ethephon sobre el contenido endógeno de ABA y GAs en eje embrionario de semillas secas y embebidas de las líneas B123 y A-3.

4. Relacionar capacidad germinativa de las semillas de girasol con niveles hormonales endógenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de almacenamiento

Cipselas de las líneas B91 y B123 fueron provistas por el MSc. Daniel Álvarez de la EEA INTA-Manfredi y las de la línea A-3 por la Ing. Marisa Della Maddalena de la Asociación de Cooperativas Argentinas (ACA). Todas las líneas utilizadas fueron producidas en el INTA Manfredi (sembradas y cosechadas simultáneamente). Inmediatamente después de la cosecha a campo, las semillas fueron almacenadas a -20°C , hasta su uso.

Determinación de Viabilidad

El análisis de viabilidad se llevó a cabo mediante el método topográfico de tetrazolio (ISTA, 2019). Semillas de las líneas B91, B123 y A-3 fueron acondicionadas entre papel húmedo durante toda la noche a temperatura ambiente (25°C). Luego se procedió a retirar de las semillas el pericarpo y tegumentos adheridos a los cotiledones. Las semillas sin pericarpo y tegumento seminal se colocaron en placas de Petri con solución de tetrazolio al 1%, manteniéndose en estufa a 37°C durante 4 horas. Finalmente, se lavaron tres veces con agua corriente y se observaron con una lupa binocular. Las determinaciones se hicieron por cuadruplicado.

Tratamientos exógenos con reguladores de crecimiento

Los tratamientos exógenos con reguladores del crecimiento - brassinolide (BL), GR24 (SLs), KAR2 (KARs) y Ethephon - se realizaron sobre 100 cipselas de las líneas B123 y A-3 contenidas en recipientes plásticos herméticos, dispersando la solución hormonal correspondiente ($50\ \mu\text{l}$ de solución/gr de cipselas) con micropipeta y realizando agitación vigorosa durante 2 minutos para facilitar su penetración en el tejido. Posteriormente, las semillas permanecieron en los mismos recipientes herméticos durante 30 min a temperatura ambiente para asegurar la penetración de los reguladores de crecimiento aplicados. Para la condición control, las cipselas de las líneas B123 y A-3 fueron tratadas con agua deionizada.

Las experiencias se realizaron por cuadruplicado. Los tratamientos con reguladores del crecimiento aplicados fueron:

Regulador de crecimiento	Concentración
BL	0,5 μM y 2,5 μM
GR24	0,01 μM , 0,5 μM , 5 μM y 20 μM
KAR2	1 μM y 100 μM
Ethephon	1000 ppm

Tabla 1: Tratamientos exógenos de reguladores del crecimiento aplicados

Determinación del poder germinativo

El poder germinativo se evaluó en semillas control (tratadas con agua deionizada) y en semillas tratadas exógenamente con brassinolide (BL), GR24 (SLs), KAR2 (KARs) y Ethephon. Para ello, se colocaron a germinar veinticinco cipselas por repetición entre toallas de papel húmedo en Cuartos Ambientales Conviron PR48 programados con 8 h de oscuridad a 20°C y 70% de HR y 16 h de luz (130 $\mu\text{E}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$) a 28°C y 65% de HR según lo indicado por las normas ISTA (2019). El recuento de germinación se realizó a los 10 días post-siembra, considerándose germinadas aquellas cipselas que presentaron la emergencia de la radícula.

Obtención de eje embrionario para las determinaciones hormonales

Las determinaciones hormonales se llevaron a cabo en el eje embrionario de cipselas tratadas con agua deionizada (control) y aquellas tratadas con reguladores del crecimiento efectivos en la liberación de la dormición de semillas de girasol. Para ello, veinticinco semillas (por repetición), tanto controles como tratadas, se sembraron en bandejas entre toallas de papel húmedo y se colocaron a germinar bajo las condiciones mencionadas anteriormente. A las 3, 6 y 12 horas de imbibición, las semillas se cosecharon y se separaron cuidadosamente los ejes embrionarios. Las cipselas secas se consideraron como 0 horas de imbibición. Los ejes embrionarios aislados se congelaron en N_2 líquido, liofilizaron y se conservaron a -20°C hasta las determinaciones hormonales.

Extracción, purificación, identificación y cuantificación de hormonas endógenas

Los niveles hormonales de ABA y GAs (GA_1 y GA_4) fueron evaluados en el eje embrionario de semillas secas y embebidas. La extracción y purificación se llevaron a cabo según Durgbanshi *et al.* (2005) con modificaciones. Para ello, se trituraron 200 mg de peso seco de material vegetal en un mortero con N_2 líquido y 5 ml de agua deionizada (solvente de extracción). Los extractos se transfirieron a tubos Falcon de 50 ml y se añadieron 50 ng de los

respectivos estándares deuterados de cada hormona. Cada muestra se homogeneizó brevemente con un miniultraturax y luego se centrifugaron a 8000 rpm durante 15 min. Se recogió el sobrenadante y se ajustó el pH a 2,8-3,2 con ácido acético al 30%. Posteriormente, se realizó una doble partición con éter etílico, se descartaron las fases acuosas y se recolectaron las fases orgánicas, las cuales se llevaron a sequedad en un evaporador rotativo. Finalmente, los extractos se filtraron a través de un filtro de celulosa utilizando una cámara de vacío y se secaron en un SpeedVac. Los extractos secos se resuspendieron con 50 µl de MeOH para la purificación y análisis mediante un cromatógrafo Alliance 2695 (Waters, Inc., California, USA) equipado con una bomba cuaternaria con autoinyector de muestra. Se utilizó una columna Resteck C18 (Resteck USA, 2.1 x 100 mm, 5 µm) a 25°C, con un volumen de inyección de 10 µl. La elución se realizó en gradiente con un sistema de solvente binario: 0,2% HOAc en H₂O (solvente B)/MeOH (solvente A) a una velocidad de flujo de 200 µl/min, procediendo con las siguientes proporciones (v/v) de solvente A: (t (min), %A): (0, 40), (25, 80). Al final de cada corrida se establecieron 7 minutos de equilibración del sistema y columna. La identificación y cuantificación de los niveles hormonales endógenos se realizaron mediante un espectrómetro de masa de doble cuadrupolo (Micromass Quatro Ultima™ PT, Manchester City, UK) en modo de ionización negativo utilizando el modo MRM para la adquisición de datos, monitoreando iones parentales y transiciones para las hormonas puras y sus estándares deuterados. La concentración de cada hormona se obtuvo mediante curvas de calibración para el compuesto endógeno y su estándar deuterado, expresándose los valores en pmol de hormona por gramo de peso seco (PS-1). El software utilizado fue MassLynx™ V.4.1. La experiencia se llevó a cabo por cuadruplicado.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2013, InfoStat/Profesional V. 2014) empleando el test ANOVA para comparar las medias de las variables evaluadas. Se utilizó posteriormente un test de Rangos Múltiples de diferencias mínimas significativas (LSD de Fisher; $p \leq 0.05$).

RESULTADOS

Determinación de viabilidad

Los resultados obtenidos permitieron establecer que las semillas de las líneas B91, B123 y A-3 presentaron un alto porcentaje de viabilidad (Tabla 2; Figs. 14 y 15). Esto indicaría que los lotes de semillas de las tres líneas analizadas son altamente viables.

LÍNEA	VIABILIDAD (%)
B91	85
B123	98
A-3	90,5

Tabla 2. Porcentaje de viabilidad de semillas de las líneas B91, B123 y A-3



Figura 14. Viabilidad de semillas de la línea A-3

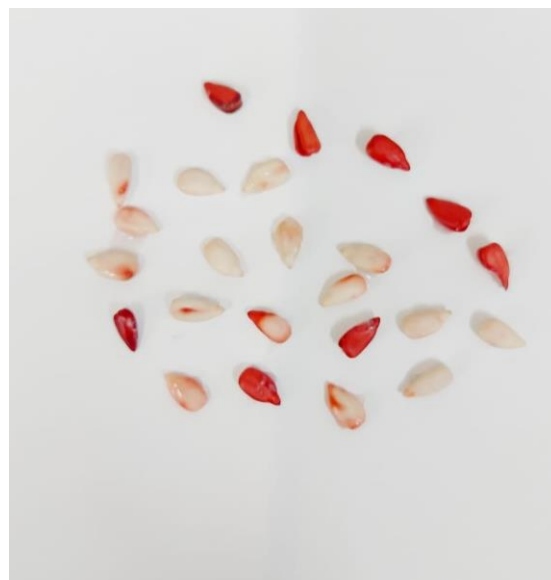


Figura 15. Viabilidad de semillas de la línea B123

Poder germinativo

Las semillas de las líneas A-3 y B123 presentan dormición a cosecha, ya que el poder germinativo (PG) alcanzó un valor de 24% y 1% respectivamente (Fig. 16).

La línea B91 tiene un alto valor de PG a cosecha (85%), lo que indicaría que la semilla no presenta dormición (Fig. 16). En vista de estos resultados la evaluación de los tratamientos exógenos con reguladores del crecimiento se realizará en semillas de las líneas dormidas B123 y A-3.

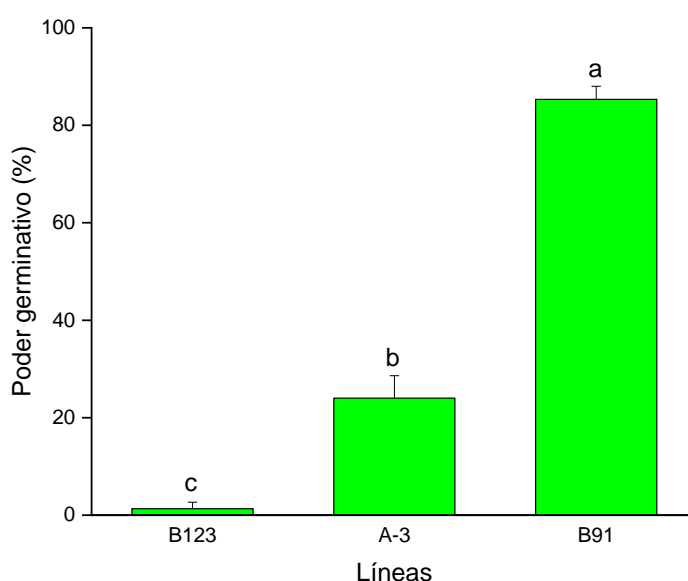


Figura 16. Poder germinativo a cosecha de las líneas B123, A-3 y B91. (n=4±SE)

Niveles endógenos de GAs y ABA en eje embrionario

ABA, GA₁ y GA₄ se cuantificaron en el eje embrionario de semillas secas y embebidas de las líneas B91, B123 y A-3 a los 0 días post-cosecha. Eje embrionario de semillas secas y embebidas mostraron diferencias en los perfiles hormonales endógenos (Figs. 17 a 22).

En eje embrionario de la línea B123, la cual presentó mayor dormición a cosecha, se registraron los más altos niveles endógenos de ABA respecto a las líneas A-3 y B91. Durante la imbibición, en la línea B123, ABA disminuyó a las 6 h, para luego aumentar a las 12 h. En la línea A-3, ABA disminuyó a las 3 h, luego aumentó a las 6 h alcanzando el nivel de la

semilla seca (0 h), para finalmente disminuir a las 12 h. En la línea B91, ABA disminuyó a las 6 h, para posteriormente aumentar a las 12 h donde no se registraron diferencias significativas con la semilla seca (Fig. 17).

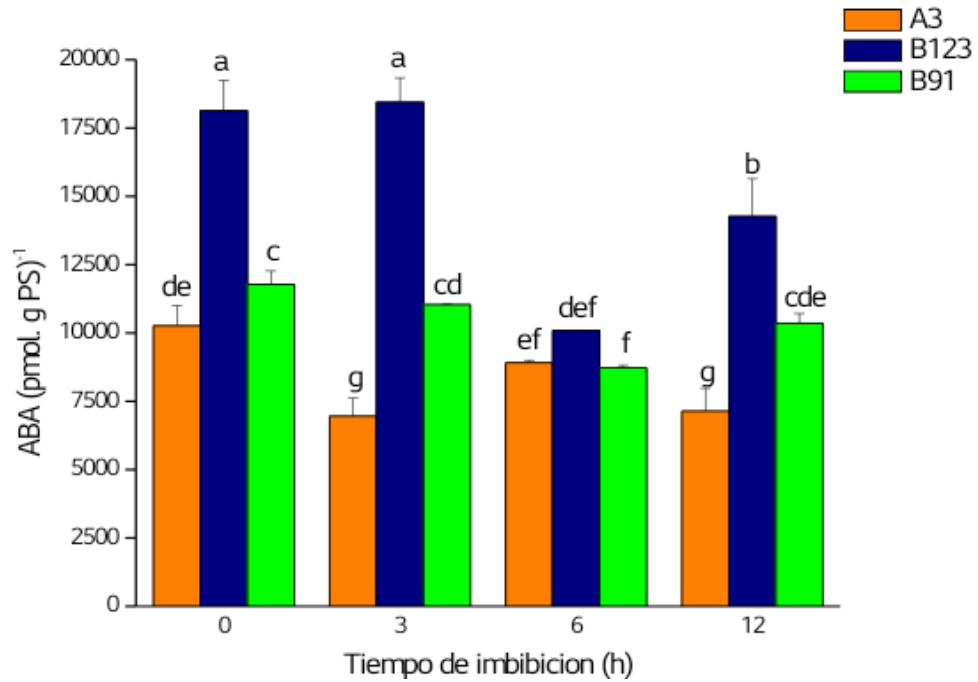


Figura 17. Niveles endógenos de ABA de las líneas A-3, B91 y B123 a cosecha durante la imbibición temprana. (n=4±SE).

Respecto a GA_1 , en el eje embrionario de la línea B91, la cual no presenta dormición en sus semillas al momento de cosecha, registró los mayores niveles. Durante la imbibición, GA_1 incrementó progresivamente a lo largo de la imbibición. En la línea B123, GA_1 aumentó a las 12 h de imbibición, mientras que en A-3, GA_1 se mantuvo constante a lo largo de la imbibición (Fig. 18).

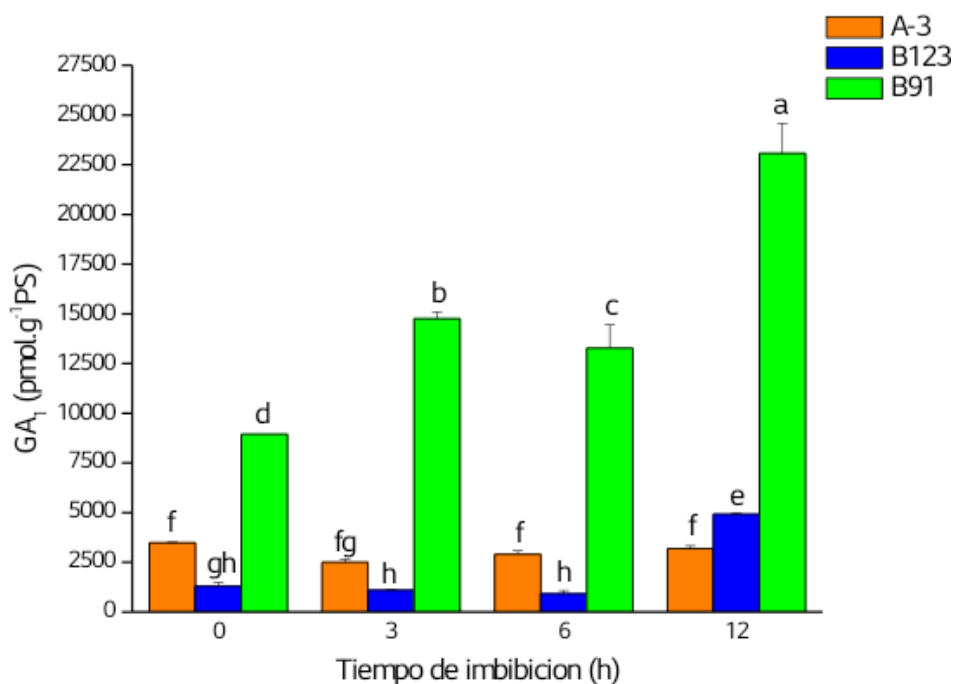


Figura 18. Niveles endógenos de GA_1 en eje embrionarios de las líneas A-3, B91 y B123 a cosecha durante la imbibición temprana ($n=4\pm SE$).

Respecto de GA_4 , presentó menores niveles que GA_1 (Figs. 19 y 18). Una tendencia similar fue observada durante todos los tiempos de imbibición analizados (0, 3, 6 y 12 h) entre GA_4 y GA_1 (Fig. 19 y 18), registrándose también un mayor nivel endógeno de GA_4 en el eje embrionario de la línea B91 (Fig. 19).

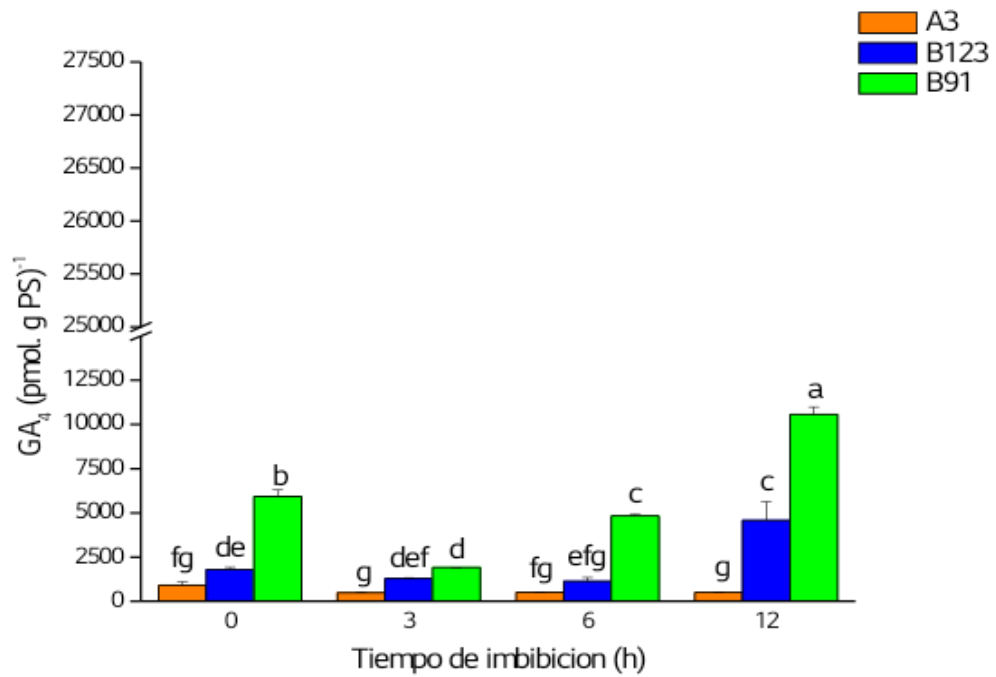


Figura 19. Niveles hormonales de GA₄ en eje embrionario de las líneas A-3, B91 y B123 a cosecha durante la imbibición temprana (n=4±SE).

En cuanto a la relación ABA/GAs, las líneas A-3 y B123 presentaron un más alto valor, lo que estaría en relación con el bajo poder germinativo observado en estas líneas al momento de cosecha. Durante la imbibición ambas líneas presentaron una disminución de la relación ABA/GAs a las 12 h de imbibición. Por el contrario, en la línea B91 se observó un bajo valor en la relación ABA/GAs el cual se mantuvo constante a lo largo de la imbibición (Fig. 20).

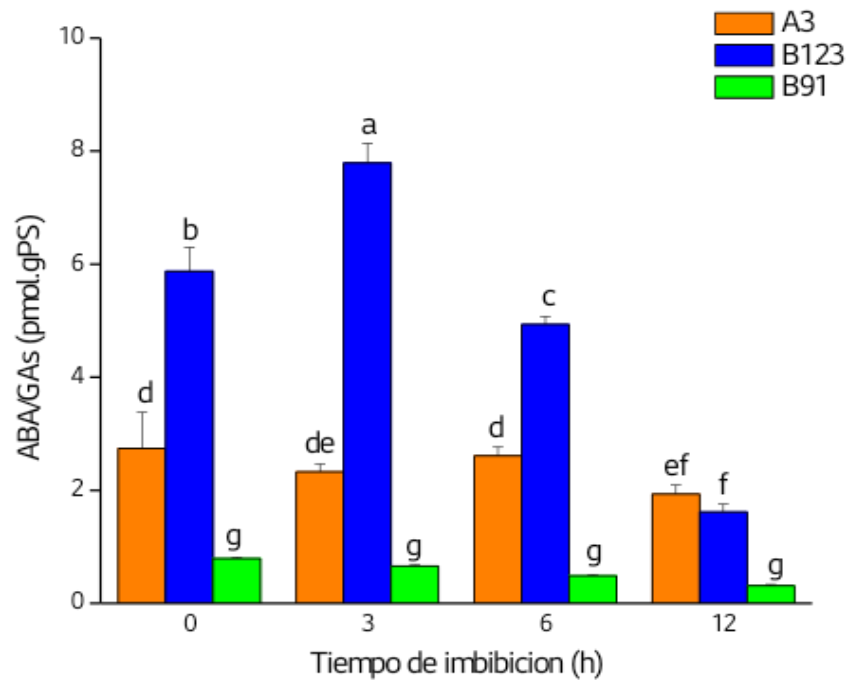


Figura 20. Relación ABA/GAs en eje embrionario de las líneas A-3, B91 y B123 a cosecha durante la imbibición temprana ($n=4\pm SE$).

Las relaciones ABA/GA₁ y ABA/GA₄ mostraron una tendencia similar durante la imbibición (Fig. 21 y 22), siendo mayor el valor en las líneas que presentan dormición (A-3 y B123) respecto a la línea B91 (no dormida al momento de cosecha). En referencia a la relación ABA/GA₁, en la línea B123 incrementó a las 3 h, para luego disminuir hasta las 12 h. En las líneas A-3 y B91 no se registraron diferencias significativas durante la imbibición temprana (Fig. 21). Por otra parte, en la relación ABA/GA₄, la línea A-3 registró la mayor relación, aumentando a las 3 h para luego permanecer constante a lo largo de la imbibición. Por el contrario, en las líneas A-3 y B91 se observó un aumento a las 3 h, disminuyendo progresivamente hacia las 12 h (Fig. 22).

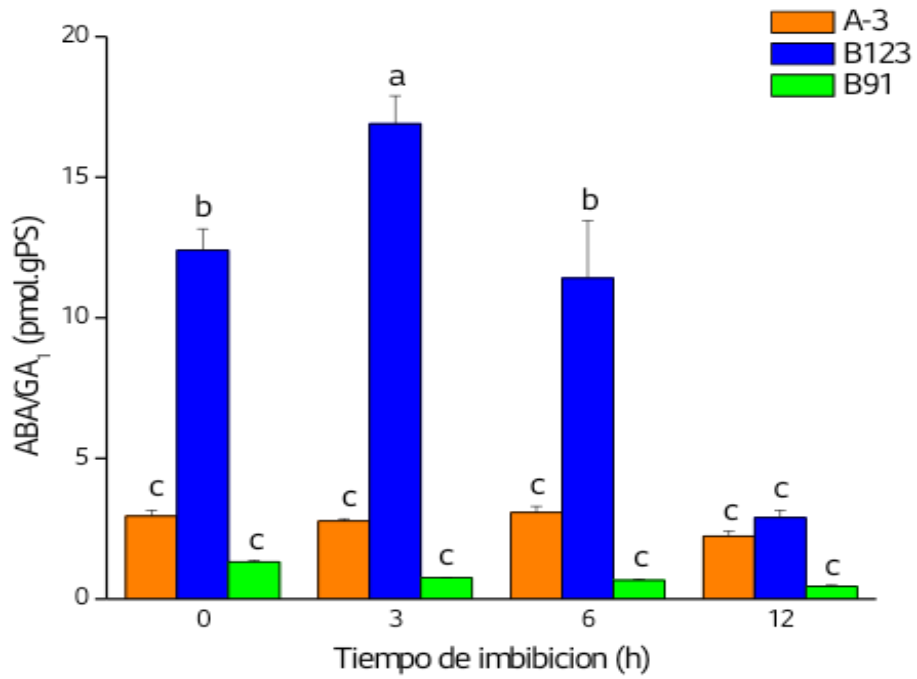


Figura 21. Relación ABA/GA₁ en eje embrionario de las líneas A-3, B91 y B123 a cosecha la imbibición temprana (n=4±SE).

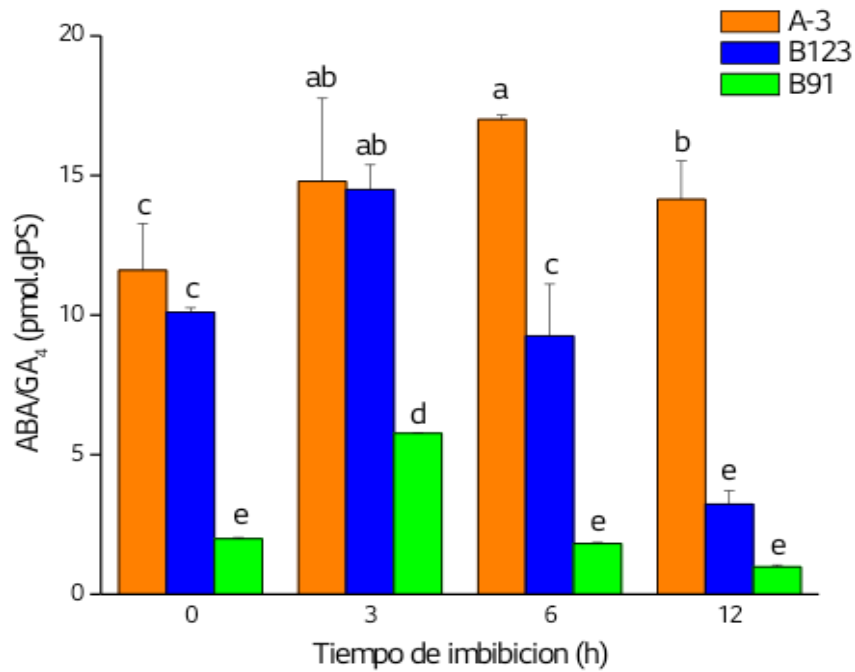


Figura 22. Relación ABA/GA₄ en eje embrionario de las líneas A-3, B91 y B123 a cosecha durante la imbibición temprana (n=4±SE).

Efecto de los tratamientos exógenos con reguladores del crecimiento sobre el poder germinativo de semillas de las líneas A-3 y B123

La aplicación exógena de Brasinoesteroides (BRs), Estrigolactonas (SLs), Karrikinas (KARs) y Ethephon modificó el poder germinativo (PG) de semillas de las líneas B123 y A-3 (Figs. 23 y 24).

En la línea B123 la aplicación exógena de BL (0,5 μM y 2,5 μM) y GR24 (20 μM , 5 μM y 0,5 μM) no modificó significativamente el PG (Fig. 22). Respecto a KAR2, solo la concentración 100 μM aumentó significativamente el PG, aunque este incremento no fue relevante desde el punto de vista tecnológico (Fig. 23). En la línea A-3 la aplicación exógena de GR24 0,5 μM y KAR2 1 μM mejoraron el PG respecto a la condición control, sin embargo, los valores de PG son muy bajos para ser semillas destinadas a la siembra (Fig. 24).

El tratamiento Ethephon incrementó significativamente el PG en ambas líneas, rompiendo la dormición de las semillas de las líneas que presentaron dormición al momento de cosecha (Fig. 23 y 24).

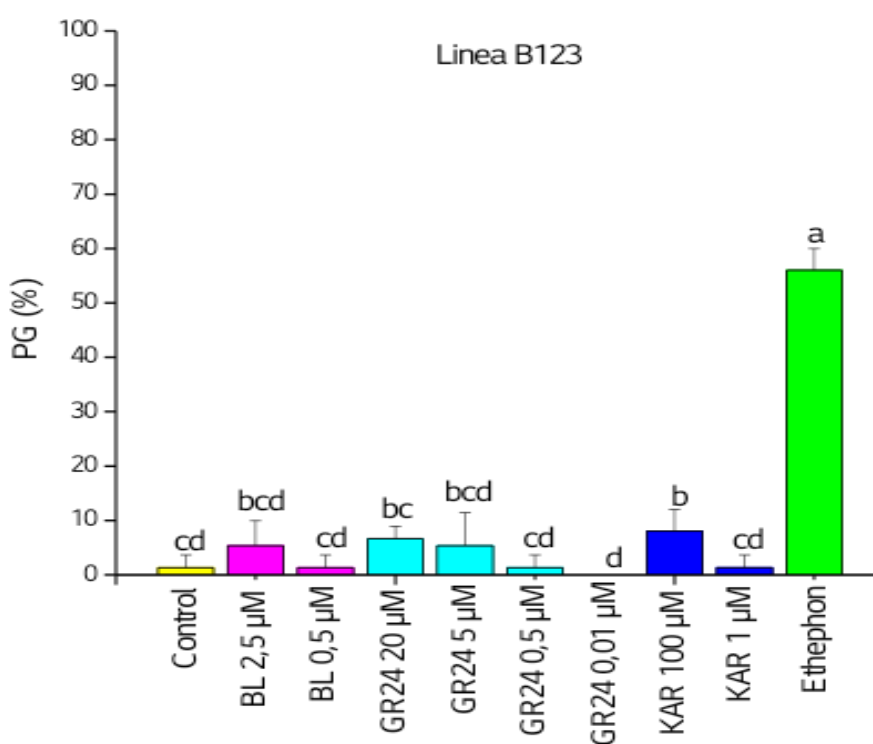


Figura 23. Poder germinativo de semillas de la línea B123 luego de aplicar diferentes tratamientos exógenos de regulares del crecimiento ($n=4\pm\text{SE}$).

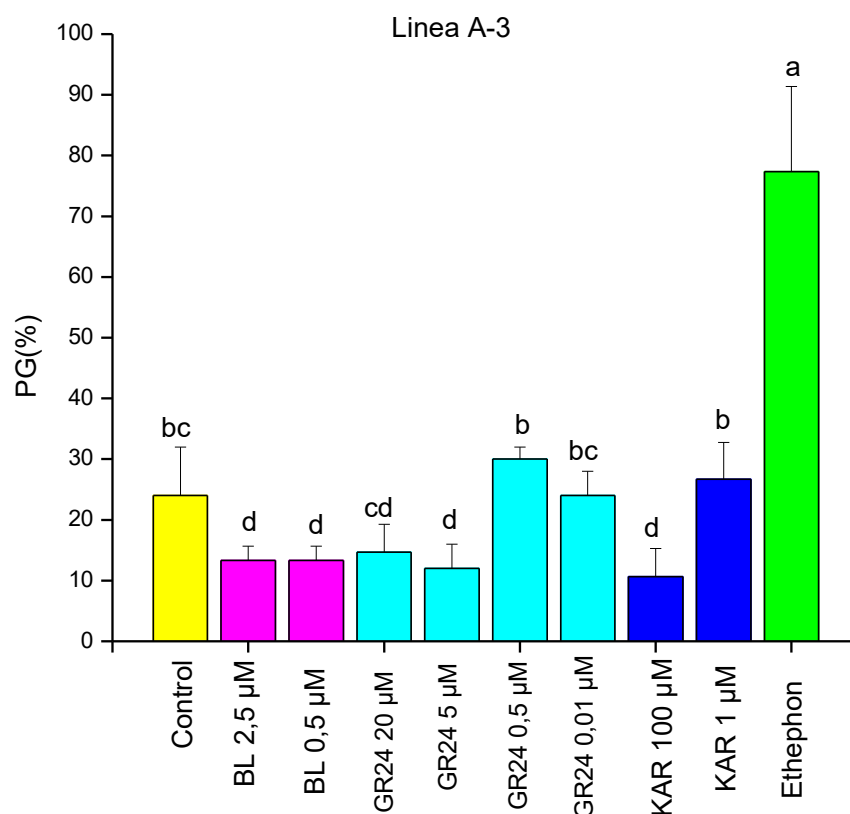


Figura 24. Poder germinativo de semillas de la línea A-3 luego de aplicar diferentes tratamientos exógenos de reguladores del crecimiento ($n=4 \pm SE$).

Efecto de la aplicación exógena de Ethephon sobre los niveles endógenos de ABA y GAs en eje embrionario de semillas de las líneas B123 y A-3

La aplicación exógena de Ethephon, regulador del crecimiento efectivo en la ruptura de la dormición en semillas de girasol, modificó los niveles endógenos de ABA, GA_1 y GA_4 en eje embrionario de las líneas B123 (Figs. 25, 27, 29, 31, 33, 35 y 37) y A-3 (Figs. 26, 28, 30, 32, 34, 36 y 38).

En la línea B123, la aplicación exógena de Ethephon 1.000 ppm disminuyó significativamente el nivel endógeno de ABA en eje embrionario respecto a la condición control durante todos los tiempos de imbibición analizados (Fig. 25). Durante la imbibición temprana, el tratamiento con Ethephon, disminuyó el nivel endógeno de ABA a partir de las 6 h; lo que estuvo relacionado con la liberación de la germinación en semillas de la línea B123 luego de la aplicación de este tratamiento exógeno.

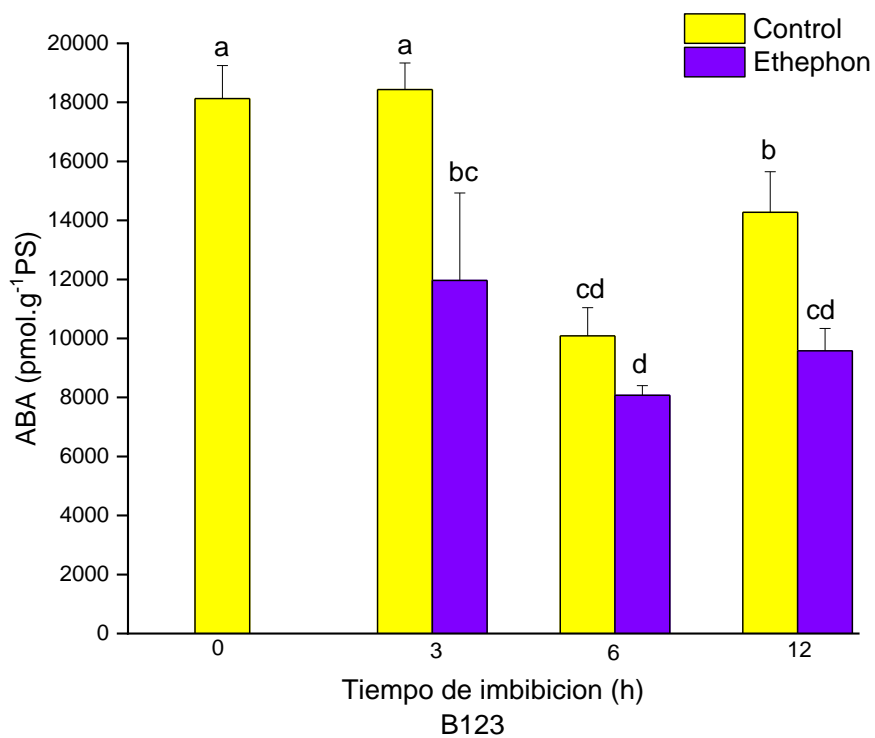


Figura 25. Niveles endógenos de ABA en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea B123 en la condición control y luego de aplicar Ethephon ($n=4\pm SE$).

En la línea A-3 se observó una tendencia opuesta a lo observado en la línea B123. El nivel endógeno de ABA aumentó significativamente en eje embrionario de semillas tratadas con Ethephon (Fig. 26).

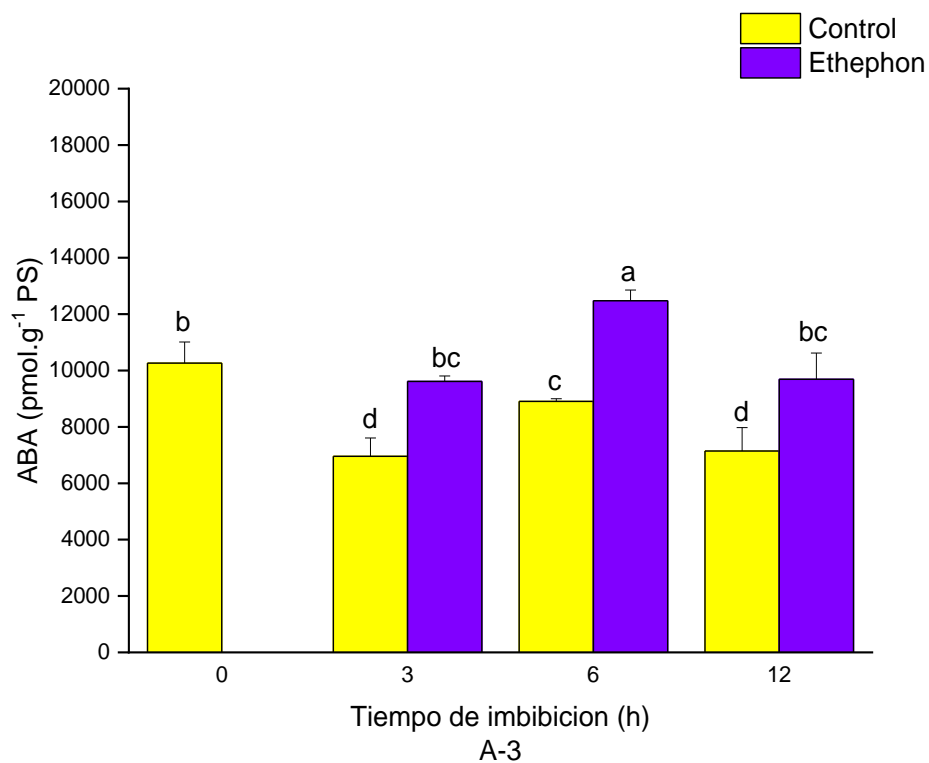


Figura 26. Niveles endógenos de ABA en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea A-3 en la condición control y luego de aplicar Ethephon ($n=4\pm SE$).

Respecto a GA_1 , se observó un incremento significativo de esta hormona luego de aplicar Ethephon respecto a la condición control durante la imbibición temprana (Fig. 27). Un alto contenido de GA_1 se detectó a las 3 h de imbibición en eje embrionario tratados con Ethephon. Posteriormente GA_1 disminuyó, no registrándose diferencias significativas entre las 6 y 12 h de imbibición (Fig. 27).

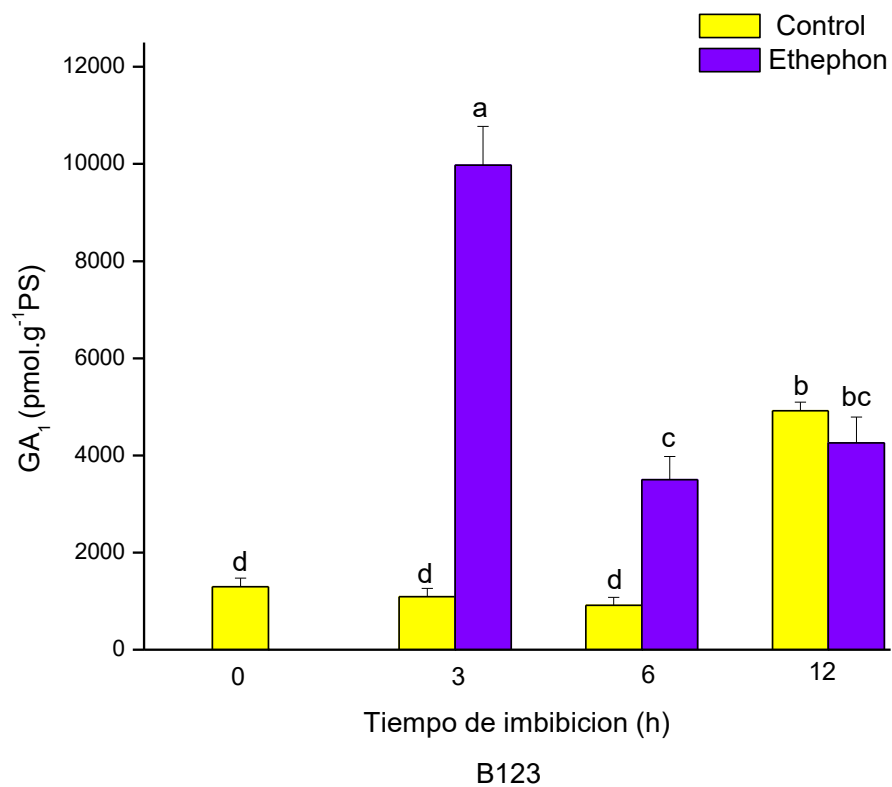


Figura 27. Niveles endógenos de GA₁ en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea B123 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

En la línea A-3, la aplicación exógena de Ethephon incrementó significativamente la concentración endógena de GA₁ a las 12 h de imbibición (Fig. 28).

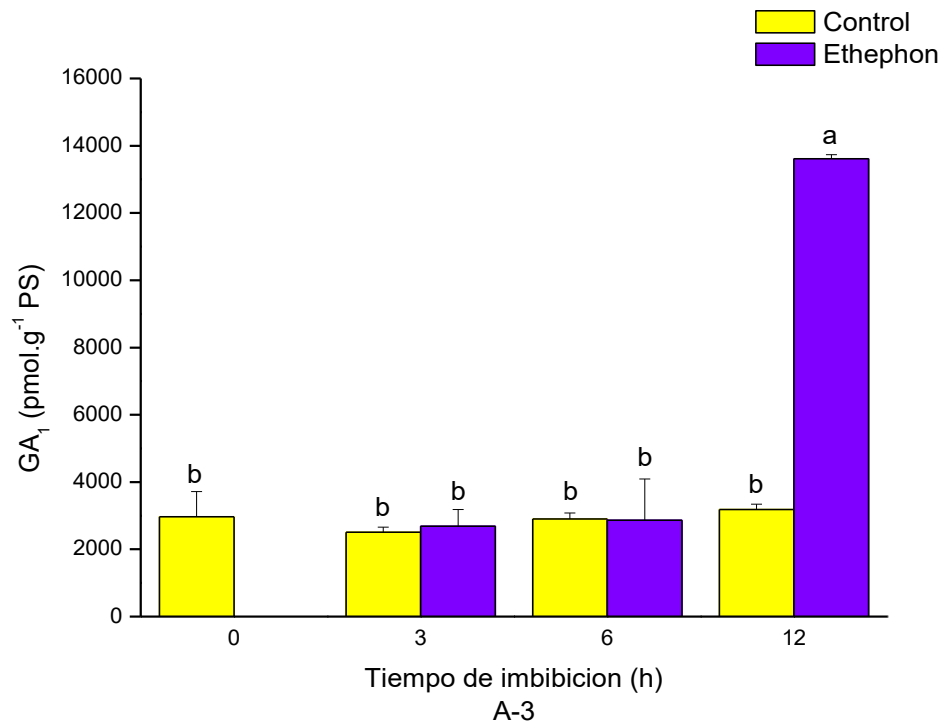


Figura 28. Niveles endógenos de GA₁ en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea A-3 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

Respecto a GA₄, en la línea B123 se observó un leve incremento a las 3 h de imbibición luego de aplicar Ethephon respecto a la condición control. Por otro lado, GA₄ disminuyó en ejes embrionarios de la línea B123 tratados con Ethephon durante la imbibición (Fig. 29).

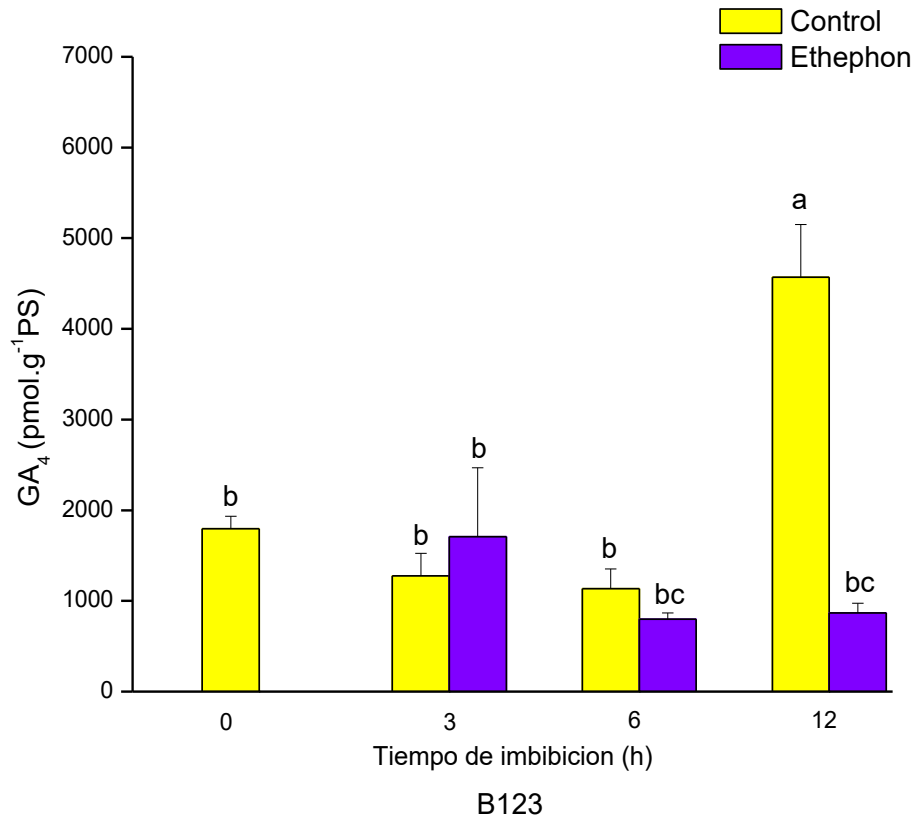


Figura 29. Niveles endógenos de GA₄ en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea B123 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

En la línea A-3 el nivel endógeno de GA₄ incrementó significativamente a las 6 y 12 h en ejes embrionarios tratados con Ethephon respecto a la condición control (Fig. 30).

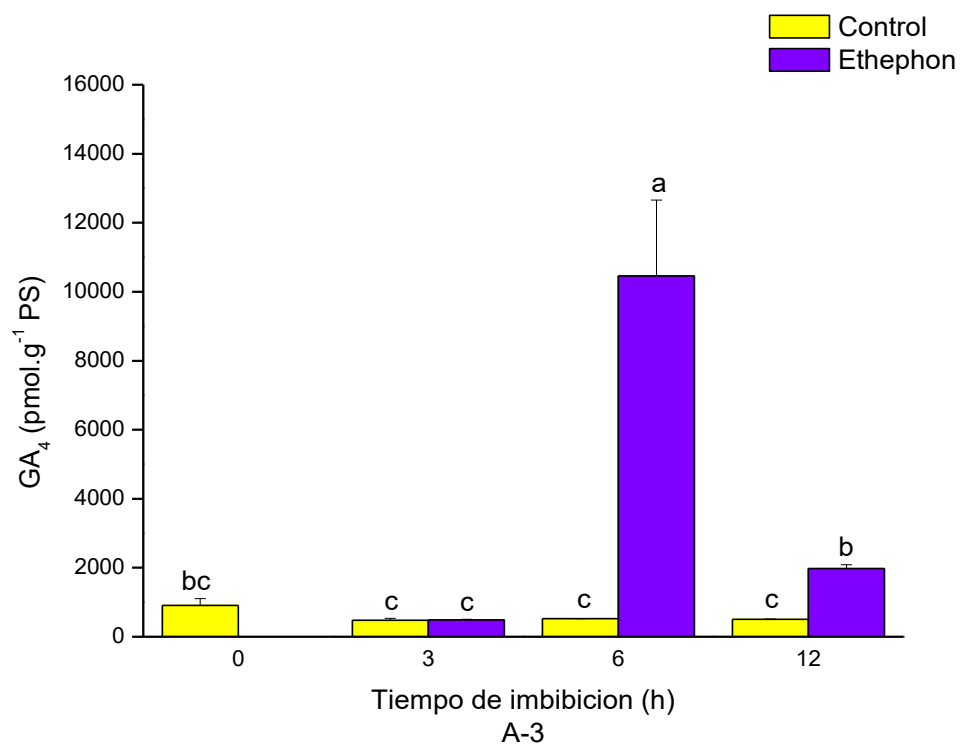


Figura 30. Niveles endógenos de GA₄ en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea A-3 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

El análisis de las GAs en conjunto (GA₁ + GA₄) mostró un aumento significativo en el nivel endógeno de GAs a las 3 y 6 h en ejes embrionarios de la línea B123 tratados con Ethephon respecto a la condición control. Sin embargo, a las 12 h el nivel endógeno de GAs fue mayor en la condición control (Fig. 31). Por otro lado, en la línea A-3 se observó que la aplicación exógena de Ethephon incrementó los niveles endógenos de GAs a las 6 y 12 h de imbibición (Fig. 32).

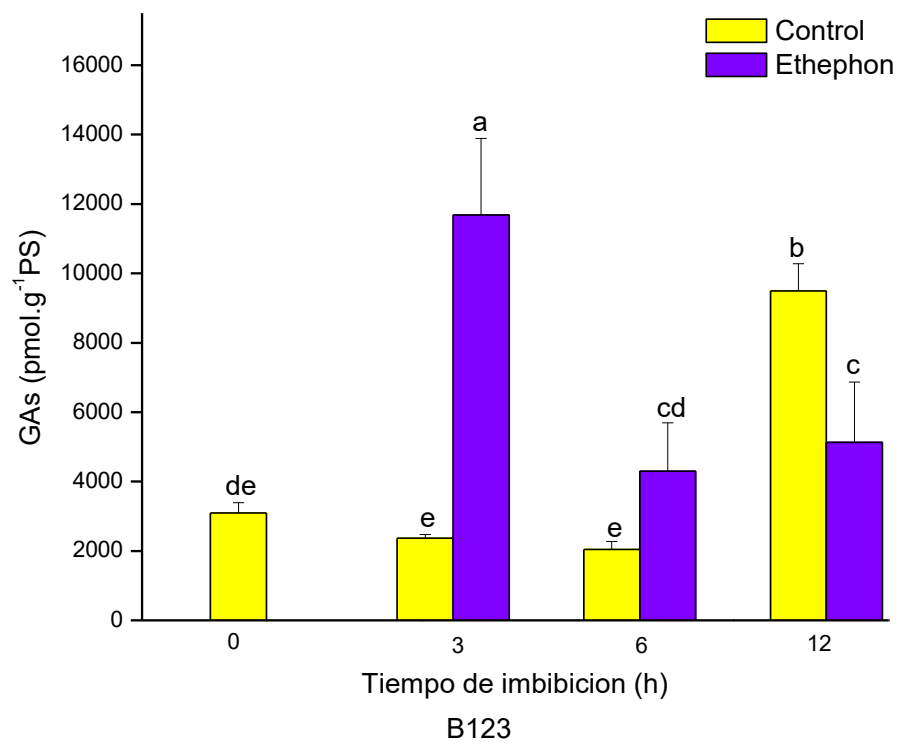


Figura 31. Niveles endógenos de GAs en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea B123 en la condición control y luego de aplicar Ethephon ($n=4\pm SE$).

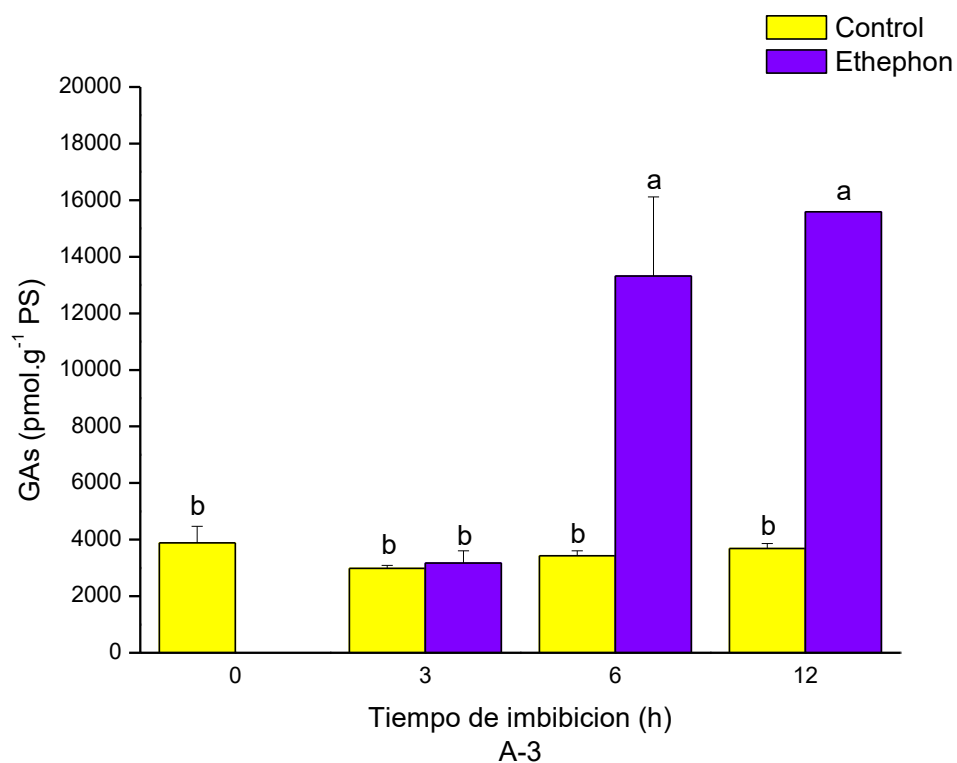


Figura 32. Niveles endógenos de GAs en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea A-3 en la condición control y luego de aplicar Ethephon ($n=4\pm SE$).

En relación a la relación ABA/GA_1 , se registró una disminución a las 3, 6 y 12 h de imbibición en el tratamiento con Ethephon respecto a la condición control en la línea B123; manteniéndose constante a lo largo de la imbibición (Fig. 33). Similarmente, en la línea A-3 se registró una disminución significativa de la relación ABA/GA_1 en ejes embrionarios tratados con Ethephon, registrándose dicha disminución a las 12 h de imbibición (Fig. 34).

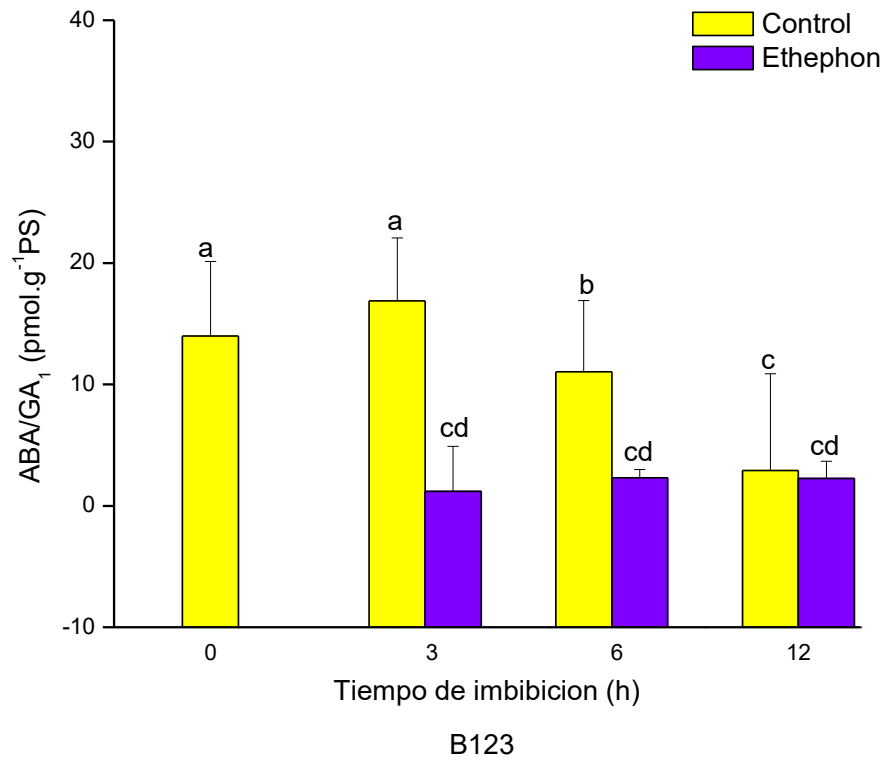


Figura 33. Relación ABA/GA₁ en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea B123 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

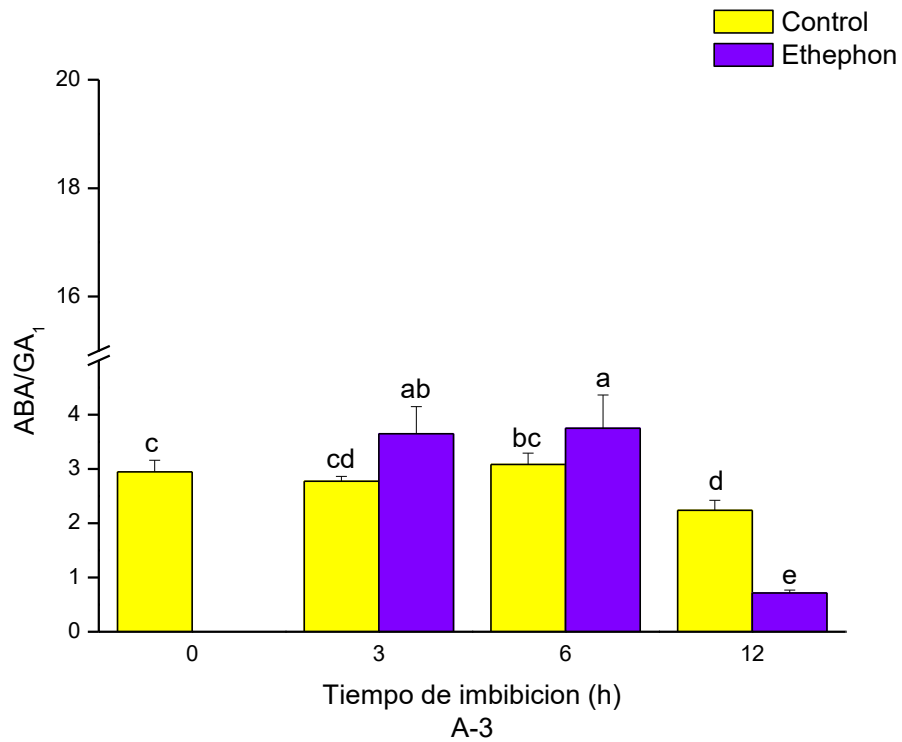


Figura 34. Relación ABA/GA₁ en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea A-3 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

Respecto a la relación ABA/GA₄, el tratamiento con Ethephon disminuyó significativamente la relación a las 3 h de imbibición respecto a la condición control en la línea B123. Sin embargo, a las 6 y 12 h la relación incrementó en ejes embrionarios tratados con Ethephon (Fig. 35).

Contrariamente, en la línea A-3, el tratamiento con Ethephon aumentó significativamente la relación ABA/GA₄ a las 3 h de imbibición, mientras que a las 6 y 12 h la relación disminuyó significativamente respecto de la condición control (Fig. 36).

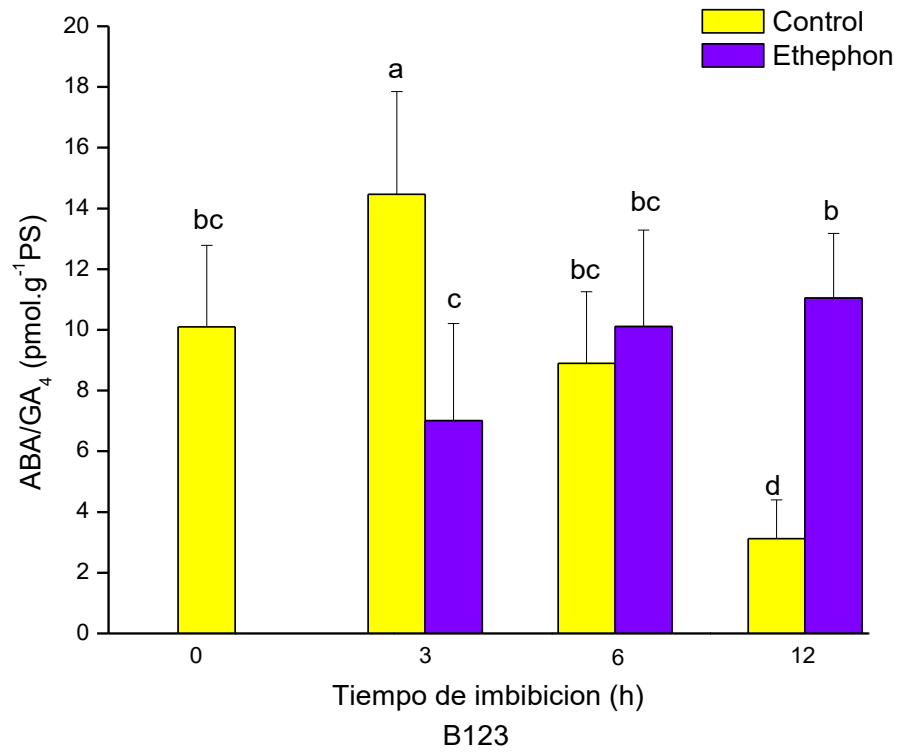


Figura 35. Relación ABA/GA₄ en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea B123 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

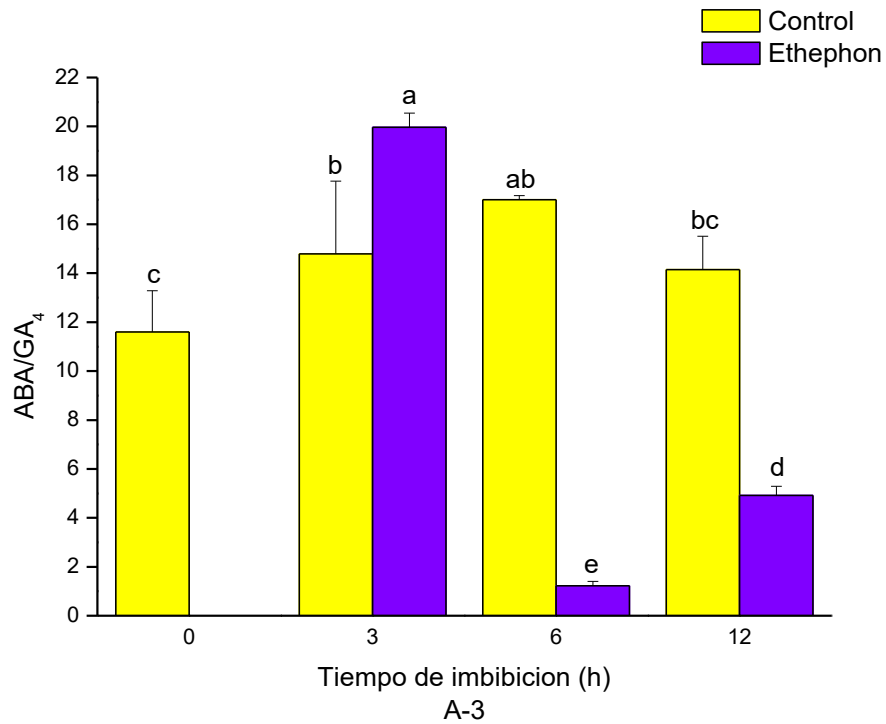


Figura 36. Relación ABA/GA₄ en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea A-3 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

Al analizar la relación ABA/GAs en la línea B123 se observó que el tratamiento con Ethephon la disminuyó a las 3 y 6 h de imbibición respecto al control. Sin embargo, no se registraron diferencias significativas a las 12 h de imbibición (Fig. 37). Similarmente, en la línea A-3 una disminución de la relación ABA/GAs se pudo observar durante la imbibición. En esta línea, la relación ABA/GAs disminuyó a las 6 y 12 h en ejes embrionarios tratados con Ethephon respecto de la condición control (Fig. 38).

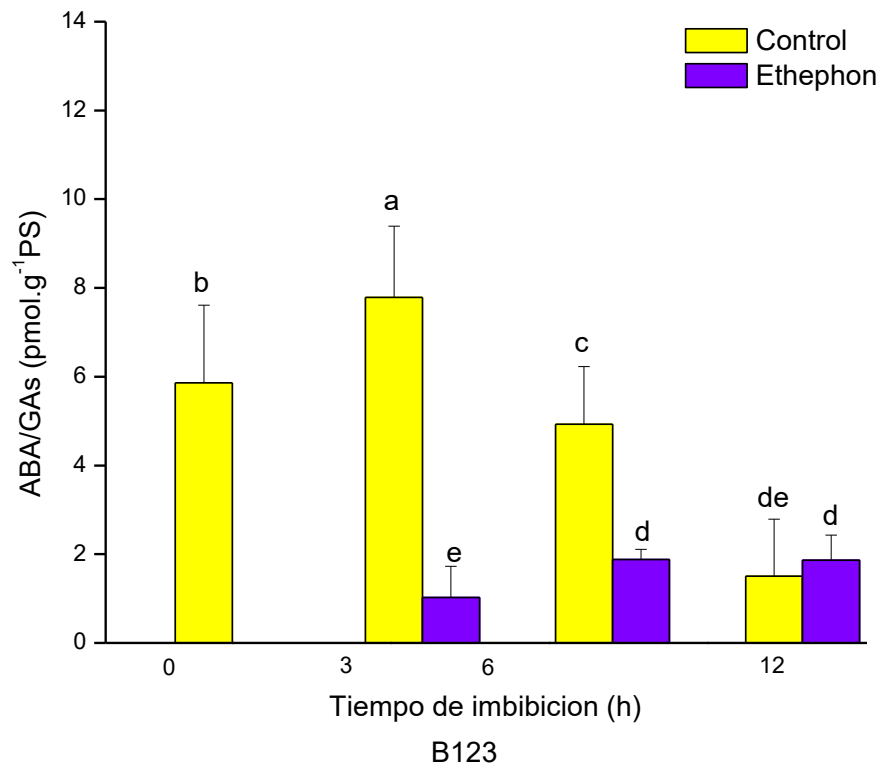


Figura 37. Relación ABA/GAs en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea B123 en la condición control y luego de aplicar Ethephon (n=4±SE).

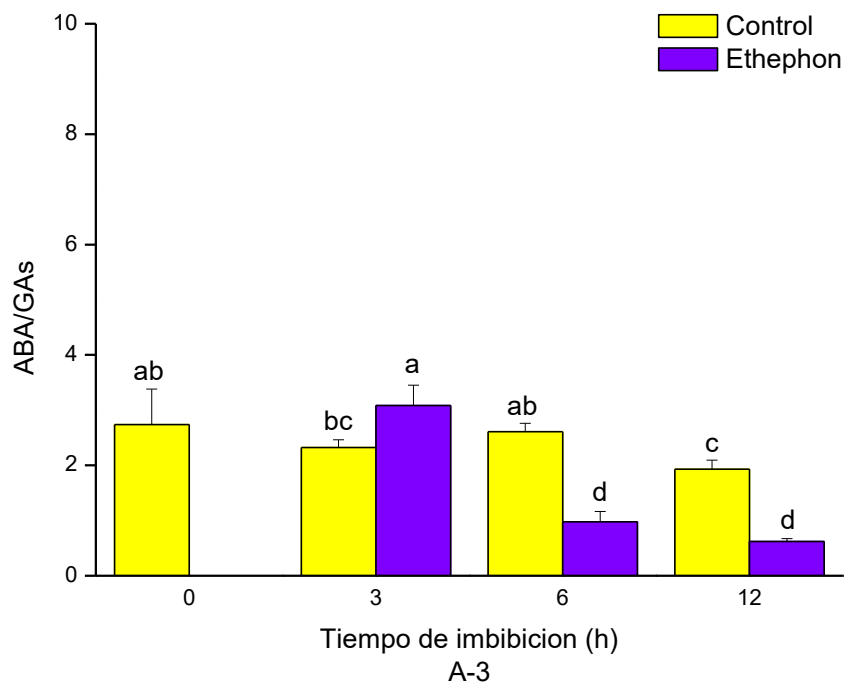


Figura 38. Relación ABA/GAs en eje embrionario de semillas secas y embebidas de la línea A-3 en la condición control y luego de aplicar Ethephon ($n=4 \pm SE$).

DISCUSIÓN

La dormición en las semillas es una estrategia que las plantas han desarrollado para evitar que las mismas germinen en condiciones ambientales desfavorables y en el caso del girasol (*Helianthus annuus* L.), se ha detectado que hay una alta variación en el nivel de dormición entre diferentes líneas (Maiti *et al.*, 2006; Benech-Arnold *et al.*, 2013), lo que afecta la calidad de la semilla y con ello su germinación.

Los resultados obtenidos en este trabajo, confirman que al momento de cosecha las semillas de girasol de las líneas B123 y A-3 presentaron dormición, siendo la línea B123 la que presentó mayor nivel. Por otro lado, las semillas de la línea B91 pudieron ser clasificadas como “no dormidas”. En conjunto estos resultados estarían corroborando lo previamente reportado por Andrade *et al.* (2015) y Vigliocco *et al.* (2017).

Diferentes tratamientos han sido desarrollados en condiciones experimentales controladas con el fin de superar los problemas de dormición en semillas de girasol; entre ellos almacenamiento en seco (after-ripening), aplicación de compuestos nitrogenados e hipoclorito de sodio, escarificación y aplicación exógena de reguladores del crecimiento (Domínguez *et al.*, 2016; Xia *et al.*, 2019; Bouriouq *et al.*, 2020).

Nuestros resultados mostraron que la aplicación exógena de KAR2 (KARs) no tuvo un efecto relevante en ninguna de las concentraciones ensayadas sobre la ruptura de la dormición de semillas de girasol de las líneas B123 y A-3. En concordancia, a lo observado bajo nuestras condiciones experimentales, KARs retrasaron la germinación de las semillas de soja (Meng *et al.*, 2017). Por el contrario, Antala, *et al.* (2019) observó que KAR₂ estimula la germinación de las semillas de *Arabidopsis* en condiciones óptimas de germinación, pero puede inhibirla en presencia de osmolitos o de temperaturas elevadas. Por otra parte, la aplicación exógena de Brasinolide (BL, BRs), tampoco fue capaz de modificar el poder germinativo en semillas de girasol de las líneas B123 y A-3. En este sentido, resultados contradictorios han sido observados al analizar el poder germinativo luego de la aplicación de BRs en diferentes especies. Por ejemplo, Leubner-Metzger (2001) confirmó que la aplicación de BRs a semillas dormidas de tabaco no inducía a la germinación; mientras que en *Arabidopsis* se observó un efecto contrario (Xi y Yu, 2010). Por otro lado, en contraposición a lo observado en nuestras condiciones experimentales, donde la aplicación exógena de GR24 no modificó el poder germinativo de las líneas B123 y A-3, Al-Amri *et al.* (2023) y Toh *et al.* (2012) observaron que el tratamiento exógeno con GR24 rompe la dormición de semillas de tomate y *Arabidopsis* respectivamente favoreciendo la germinación de las mismas. Las discrepancias observadas entre los diferentes estudios podrían deberse a diferencias en los genotipos utilizados, grados de dormición de las semillas y la metodología aplicada, entre otros.

Por otro lado, nuestros resultados confirman la importancia y efectividad del tratamiento exógeno de Ethephon en la liberación de la dormición de semillas de girasol. En este sentido diferentes estudios reportaron que el uso de compuestos capaces de liberar etileno tales como ethephon (Corbineau *et al.*, 2014), metilviológeno, cianuro de hidrógeno (El-Maarouf-Bouteau *et al.*, 2015; Oracz *et al.*, 2009) y tifón (Domínguez, 2010) son capaces de romper dormición en semillas de girasol.

Las fitohormonas juegan un rol clave en la regulación de la mayoría de los procesos biológicos, incluyendo la germinación y dormición de semillas (Shu *et al.*, 2016; Skubacz y Daszkowska-Golec, 2017). En este sentido, es ampliamente conocido que ácido abscísico (ABA, promueve la dormición de semillas) y giberelinas (GAs, estimulan la germinación de semillas) son las hormonas primarias que juegan un rol antagónico en la regulación de ambos procesos (Sano y Marion-Poll, 2021; Farooq *et al.*, 2022; Jhanji *et al.*, 2024); especialmente importante es el balance entre ambas fitohormonas. Por otro lado, durante la imbibición, el eje embrionario es el centro de importantes procesos metabólicos y fisiológicos los cuales conducen a la germinación de la semilla y desarrollo de una nueva plántula (Bicalho *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2015).

Nuestros resultados mostraron diferencias en los perfiles hormonales de eje embrionario de semillas secas y embebidas entre líneas B123 y A-3 (con dormición a cosecha) y la línea B91 (sin dormición a cosecha), observándose una tendencia similar en las líneas con dormición a cosecha (B123 y A-3) en comparación con la no dormida (B91). En efecto, durante la imbibición temprana, ABA registró los mayores niveles endógenos en eje embrionario de la línea B123 la cual presentó mayor nivel de dormición a cosecha. En este sentido, Roselló *et al.* (2016) informaron que ABA sería el responsable de la imposición de la dormición impuesta por el embrión en semillas de girasol de la línea B123 en el momento de la cosecha. Por el contrario, en la línea B91 el alto porcentaje de germinación al momento de cosecha se asoció con un alto nivel de GA₄ y GA₁ respecto de las líneas no-dormidas B123 y A-3. En efecto, es conocido que las GAs promueven la germinación de semillas (Vishal y Kumar, 2018). De hecho, diferentes estudios reportan la importancia de estas giberelinas activas en la germinación de semillas (Ribeiro *et al.*, 2015). En la actualidad, es conocido que no solo los niveles endógenos individuales de ABA y GAs regulan los procesos metabólicos sino también que la relación ABA/GAs constituye un mecanismo regulatorio central en la germinación y liberación de la dormición (Shu *et al.*, 2016; Finch-Savage y Footitt, 2017; Gianinetti, 2023). En este sentido, nuestros resultados mostraron que ejes embrionarios de semillas de la línea B91 registraron una baja relación ABA/GAs durante la imbibición temprana lo que permitió que las semillas germinaran. Por el contrario, en las líneas B123 y A-3, ambas con dormición a cosecha, los ejes embrionarios presentaron una alta relación ABA/GAs.

El tratamiento con Ethephon, compuesto liberador de etileno, modificó los niveles endógenos de ABA y GAs en ejes embrionarios de las líneas B123 y A-3 lo cual condujo a la pérdida de dormición y la consiguiente germinación de las semillas. En efecto diferentes trabajos han demostrado que el efecto promotor del etileno sobre la germinación está asociado con la modulación del metabolismo y el camino de señalización de ABA y GAs (Corbineau, 2024). Durante la imbibición, el tratamiento con Ethephon disminuyó los niveles endógenos de ABA en ejes embrionarios de semillas de la línea B123, lo que podría estar en relación con la pérdida de dormición de semillas de esta línea luego del tratamiento aplicado. En concordancia, Xia *et al.* (2018) observaron que ABA disminuyó tanto en semillas dormidas y no dormidas tras una imbibición de 15 h, aumentando a las 24 h solo en las semillas dormidas. En este sentido es ampliamente conocido, que durante la imbibición ABA disminuye tanto en semillas dormidas como no dormidas de diferentes especies, no afectando directamente la germinación (Arc *et al.*, 2013). Por el contrario, la línea A-3 presentó una tendencia opuesta a lo observado en la línea B123. En la línea A-3 si bien el tratamiento exógeno con Ethephon liberó la dormición de las mismas, este proceso no se correlacionó con una disminución en el contenido de ABA en eje embrionario por lo que el nivel endógeno de ABA no estaría relacionado con la pérdida de la dormición. Respecto a las GAs, la aplicación exógena de Ethephon, incrementó los niveles endógenos de GAs biológicamente activas ($GA_1 + GA_4$) durante la imbibición temprana en eje embrionario de ambas líneas. En efecto, ha sido reportado que existe una interacción positiva entre Etileno y GAs (Corbineau, 2024). Es más, el efecto estimulador de la germinación de etileno, fitohormona liberada a partir de Ethephon, se asocia a una activación de la síntesis y del camino de señalización de GAs (Iglesias-Fernández y Matilla, 2010; Linkies y Leubner-Metzger, 2012). Asimismo, el importante rol del etileno en la liberación de la dormición y germinación de semillas está asociado a la regulación de la relación ABA/GAs (Corbineau, 2024). En este sentido bajo nuestras condiciones experimentales el tratamiento exógeno con Ethephon disminuyó la relación ABA/GAs en eje embrionario de las líneas B123 y A-3 durante la imbibición temprana relevando así la importancia de la misma en la liberación de la dormición y el desencadenamiento de la germinación en semillas de girasol. En efecto, cambios en la relación ABA/GAs y así como en la capacidad de respuesta de cada tejido, es decir, en la sensibilidad a ABA y GAs, juegan un rol central en la regulación de la dormición y germinación de semillas (Ali *et al.*, 2022; Finch-Savage y Footitt, 2017).

A partir de lo anteriormente expuesto, en este trabajo se comprueba que la aplicación exógena de Brasinolide (BRs), GR24 (SLs) y KAR2 (KARs) no tuvieron efecto significativo en la ruptura de la dormición de semillas de girasol de las líneas A-3 y B123. Asimismo, se confirma la importancia y efectividad de Ethephon, compuesto liberador de etileno, en la

ruptura de la dormición en semillas de girasol; lo cual está asociado a un aumento en la síntesis de GAs biológicamente activas (GA_1 y GA_4) con la consecuente disminución de relación ABA/GAs en eje embrionario durante la imbibición temprana. Así, GAs y la relación ABA/GAs juegan un rol clave en la germinación de semillas de girasol. Sin embargo, estudios adicionales son necesarios a fin de dilucidar completamente la interacción de ET con otras fitohormonas como por ejemplo los BRs en la regulación de la dormición y germinación de semillas.

CONCLUSIONES

- Las semillas de las líneas A-3 y B123 presentan dormición a cosecha mientras que las semillas de la línea B91 tienen un alto valor de PG a cosecha por lo que se la clasifica como línea “no dormida”.
- La aplicación exógena de BL, GR24 y KAR2 no tuvo efecto significativo en la ruptura de la dormición de semillas de girasol de las líneas A-3 y B123.
- La aplicación exógena con Ethephon fue efectiva en la ruptura de la dormición de semillas de las líneas B123 y A-3.
- Ácido abscísico (ABA), Giberelinas (GAs) y particularmente la relación ABA/GAs participan en la regulación de la germinación y dormición de semillas de girasol.
- El tratamiento exógeno con Ethephon incrementa los niveles endógenos de GAs durante la imbibición en las líneas B123 y A-3, ambas con dormición a cosecha.
- La disminución de la relación ABA/GAs juega un rol fundamental en la germinación de semillas de las líneas B123 y A-3 (ambas con dormición a cosecha) luego de la aplicación exógena de Ethephon.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- ADELEKE, B. S., & BABALOLA, O. O. (2020). Oilseed crop sunflower (*Helianthus annuus*) as a source of food: Nutritional and health benefits. *Food Science & Nutrition*, 8(9), 4666-4684.
- AGUILAR, M., MELGAREJO, L. M., & ROMERO, M. (2007). Fitohormonas. *Departamento de biología. Universidad de Colombia. Bogotá.*
- AKIYAMA, K., MATSUZAKI, K., & HAYASHI, H. (2005). Interaction of strigolactones with arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 276(1), 15-25.
- AL-AMRI, A. A., ALSUBAIE, Q. D., ALAMRI, S. A., & SIDDIQUI, M. H. (2023). Strigolactone analog GR24 induces seed germination and improves growth performance of different genotypes of tomato. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(9), 5653-5666.
- ALBERCA VEGA, J. G. (2019). Efecto individual y combinado de giberelinas, auxinas y citoquininas en la producción de germinado hidropónico de maíz (*Zea Mays*) variedades “Criollo” y “Selva” en Lambayeque. Tesis Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Perú.
- ALCÁNTARA CORTES, J. S., ACERO GODOY, J., ALCÁNTARA CORTÉS J. D., & SÁNCHEZ MORA, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA*, 17(32), 109-27.
- ALI, F., QANMBER, G., LI, F., & WANG, Z. (2022). Updated role of ABA in seed maturation, dormancy, and germination. *Journal of Advanced Research*, 35, 199-214.
- ANDRADE, A., RIERA, N., LINDSTRÖM, L., ALEMANO, S., ALVAREZ, D., ABDALA, G., & VIGLIOCCO, A. (2015). Pericarp anatomy and hormone profiles of cypselas in dormant and non-dormant inbred sunflower line. *Plant Biology* 17, 351-360.
- ANTALA, M., SYTAR, O., RASTOGI, A., & BRESTIC, M. (2019). Potential of karrikins as novel plant growth regulators in agriculture. *Plants*, 9(1), 43.
- ARATA, G. J. (2015). *Dormición en frutos de girasol (Helianthus annuus L.): variabilidad intraespecífica y mecanismos fisiológicos*. Universidad de Buenos Aires. Tesis Doctoral.
- ARC, E., SECHET, J., CORBINEAU, F., RAJJOU, L., & MARION-POLL, A. (2013). ABA crosstalk with ethylene and nitric oxide in seed dormancy and germination. *Frontiers in Plant Science*, 4, 63.

- AZCÓN-BIETO, J., & TALÓN, M. (2008). *Fundamentos de la Fisiología Vegetal*. 2da. Edición. Ed. McGraw-Hill Interamerica de España S.L., Madrid, España. 672 p.
- BAILLY, C. (2023). ROS in seed germination. *Advances in Botanical Research*, 105, 177-204. Academic Press.
- BENECH-ARNOLD, R. L., RODRIGUEZ, M. V., BATLLA, D., & MEYERS, R. (2013). Seed dormancy and agriculture, physiology. *Sustainable food production*, 1425-1435.
- BICALHO, E. M., PINTO-MARIJUAN, M., MORALES, M., MÜLLER, M., MUNNEBOSCH, S. & GARCIA Q. S. (2015). Control of macaw palm seed germination by the gibberellin/ abscisic acid balance. *Plant Biology*, 17, 990-996.
- BOLSA DE COMERCIO DE ROSARIO, (2023). *Balance regional de Girasol 2022/23 en Argentina*. En: <https://www.bcr.com.ar/es>. Consultado: 04/03/2024.
- BORJAS-VENTURA, R., JULCA-OTINIANO, A., & ALVARADO-HUAMÁN, L. (2020). Las fitohormonas una pieza clave en el desarrollo de la agricultura. *Journal of the Selva andina Biosphere*, 8(2), 150-164.
- BOURIOUG, M., EZZAZA, K., BOUABID, R., ALAOUI-MHAMDI, M., BUNGAU, S., BOURGEADE, P., ALAOUI-SOSSÉ, L., ALAOUI-SOSSÉ, B., & ALEYA, L. (2020). Influence of hydro- and osmo-priming on sunflower seeds to break dormancy and improve crop performance under water stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(12), 13215-13226.
- BRUNICK, R. L. (2007). *Seed dormancy in domesticated and wild sunflowers (Helianthus annuus L.): types, longevity and QTL discovery*. Oregon State University. Department of Horticulture. Doctoral Dissertation.
- CARBONELL, L. S., LARA, I. C., & PAREDES, F. R. (2016). Los brasinoesteroides. *Revista Ciencia*, 80-86.
- CARDOSO, C., RUYTER-SPIRA, C., & BOUWMEESTER, H. J. (2011). Strigolactones and root infestation by plant-parasitic Striga, Orobanche and Phelipanche spp. *Plant science*, 180(3), 414-420.
- CEMBROWSKA-LECH, D., Y & KĘPCZYŃSKI, J. (2016). Gibberellin-like effects of KAR 1 on dormancy release of *Avena fatua* caryopses include participation of non-enzymatic antioxidants and cell cycle activation in embryos. *Planta*, 243, 531-548.
- CHIWOCHA, S. D., CUTLER, A. J., ABRAMS, S. R., AMBROSE, S. J., YANG, J., ROSS, A. R., & KERMODE, A. R. (2005). The *etr1-2* mutation in *Arabidopsis thaliana* affects the

abscisic acid, auxin, cytokinin and gibberellin metabolic pathways during maintenance of seed dormancy, moist-chilling and germination. *The Plant Journal*, 42(1), 35-48.

CHIWOCHA, S. D., DIXON, K. W., FLEMATTI, G. R., GHISALBERTI, E. L., MERRITT, D. J., NELSON, D. C., & STEVENS, J. C. (2009). Karrikins: a new family of plant growth regulators in smoke. *Plant science*, 177(4), 252-256.

CORBINEAU, F., XIA, Q., BAILLY, C., & EL-MAAROUF-BOUATEAU, H. (2014). Ethylene, a key factor in the regulation of seed dormancy. *Frontiers in Plant Science*, 5, 539.

CORBINEAU, F. (2024). Ethylene, a signaling compound involved in seed germination and dormancy. *Plants*, 13(19), 2674.

DI RIENZO, J.A., CASANOVES, F., BALZARINI, M. G., GONZALEZ, L., & TABLADA, M. (2013). InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

DOMINGUEZ, C. P. (2010). *Dormición en aquenios de girasol (Helianthus annuus L.): Bases fisiológicas y derivación de tecnologías para su eliminación a escala industrial*. Universidad de Buenos Aires. Tesis Doctoral.

DOMÍNGUEZ, C. P., BATLLA, D., RODRÍGUEZ, M. V., WINDAUER, L. B., GERBALDO M., & BENECH-ARNOLD, R. L. (2016). Pericarp-imposed dormancy in sunflower: physiological basis, impact on crop emergence, and removal at an industrial scale. *Crop Science*, 56, 716-726.

DURGBANSHI, A., ARBONA, V., POZO, O., MIERSCH, O., SANCHO J. V., & GÓMEZ-CADENAS, A. (2005). Simultaneous determination of multiple phytohormones in plant extracts by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8437-8442.

EL-MAAROUF-BOUATEAU, H., SAJJAD, Y., BAZIN, J., LANGLADE, N., CRISTESCU, S.M., BALZERGUE, S., BAUDOUIN, E., & BAILLY, C. (2015). Reactive oxygen species, abscisic acid and ethylene interact to regulate sunflower seed germination. *Plant Cell Environmental*, 38, 364-374.

FAROOQ, M. A., MA, W., SHEN, S., & GU, A. (2022). Underlying biochemical and molecular mechanisms for seed germination. *International Journal of Molecular Science*, 23(15): 8502.

FINCH-SAVAGE W. E., & LEUBNER-METZGER G. (2006) Seed dormancy and the control of germination. *New Phytology*, 171, 501-523.

- FINCH-SAVAGE, W. E., & BASSEL, G. W. (2016). Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67(3), 567-591.
- FINCH-SAVAGE, W. E., & FOOTITT, S. (2017). Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. *Journal of Experimental Botany*, 68, 843-856.
- FINKELSTEIN, R., REEVES, W., ARIIZUMI, T., & STEBER, C. (2008). Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 387-415.
- FLEMATTI, G. R., GHISALBERTI, E. L., DIXON, K. W., & TRENGOVE, R. D. (2004). A compound from smoke that promotes seed germination. *Science*, 305(5686), 977-977.
- FLEMATTI, G. R., MERRITT, D. J., PIGGOTT, M. J., TRENGOVE, R. D., SMITH, S. M., DIXON, K. W., & GHISALBERTI, E. L. (2011). Burning vegetation produces cyanohydrins that liberate cyanide and stimulate seed germination. *Nature Communications*, 2(1), 360.
- FLEMATTI, G.R., DIXON, K.W., & SMITH, S.M. (2015). What are karrikins and how were they 'discovered' by plants? *BMC Biology*, 13, 1-7.
- FOOTITT, S., DOUTERELO-SOLER, I., CLAY, H., & FINCH-SAVAGE, W. E. (2011). Dormancy cycling in *Arabidopsis* seeds is controlled by seasonally distinct hormone-signaling pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108, 20236-20241.
- GAO, X., ZHANG, Y., HE, Z., FU, X., LI, J., & LI, C. (2017). Gibberellins. *Hormone metabolism and signaling in plants*, 107-160.
- GIANINETTI, A. A. (2023) Travel through Landscapes of Seed Dormancy. *Plants*, 12, 3963.
- GIETLER, M., FIDLER, J., LABUDDA, M., & NYKIEL, M. (2020). Abscisic acid—Enemy or savior in the response of cereals to abiotic and biotic Stresses?. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 4607.
- GIRÓN, D. J. (2023). *Caracterización morfológica de una accesión de girasol silvestre (Helianthus annuus L.) con presencia de androesterilidad*. Universidad Nacional del Sur. Trabajo de intensificación (Ingeniero Agrónomo).
- GOMEZ-ROLDAN, V., FERMAS, S., BREWER, P. B., PUECH-PAGÈS, V., DUN, E. A., PILLOT, J. P., ... & ROCHANGE, S. F. (2008). Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*, 455(7210), 189-194.

- GONZÁLEZ, M. L., CAYCEDO, C., VELÁSQUEZ, M. F., FLÓREZ, V., & GARZÓN, M. R. (2007). Efecto de la aplicación del ácido giberélico sobre el crecimiento de coliflor (*Brassica oleraceae* L.) var. Botrytis DC. *Agronomía Colombiana*, 25(1), 54-61.
- HEDDEN, P. (2020). The current status of research on gibberellin biosynthesis. *Plant Cell Physiology*, 61(11), 1832-1849.
- HERNÁNDEZ SILVA, E., & GARCÍA-MARTÍNEZ, I. (2016). Brasinoesteroides en la agricultura. II. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(2), 451-462.
- HUSSAIN, S., ZHU, C., HUANG, J., HUANG, J., ZHU, L., CAO, X., & ZHANG, J. (2020). Ethylene response of salt stressed rice seedlings following Ethephon and 1-methylcyclopropene seed priming. *Plant Growth Regulation*, 92, 219-231.
- IGLESIAS-FERNÁNDEZ, R., & MATILLA, A. (2010). Genes involved in ethylene and gibberellins metabolism are required for endosperm-limited germination of *Sisymbrium officinale* L. seeds. *Planta*, 231, 653-664.
- ISTA. 2019. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association (ISTA) Zürichstr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Switzerland.
- JHANJI, S., GOYAL, E., CHUMBER, M., & KAUR, G. (2024). Exploring fine-tuning between phytohormones and ROS signaling cascade in regulation of seed dormancy, germination and seedling development. *Plant Physiology and Biochemistry*, 207, 108352.
- JIMÉNEZ HERNÁNDEZ, F. (2015). *Interacción entre giberelinas y auxinas en tomate Micro Tom* (, Universitat Politècnica de València. Tesis Doctoral.
- JORDÁN, M., & CASARETTO, J. (2006). Hormonas y reguladores del crecimiento: etileno, ácido abscísico, brasinoesteroides, poliaminas, ácido salicílico y ácido jasmónico. *Fisiología vegetal. Ediciones Universidad de La Serena, La Serena, Chile*.
- KIM, S. Y., WARPEHA, K. M., & HUBER, S. C. (2019). The brassinosteroid receptor kinase, BRI1, plays a role in seed germination and the release of dormancy by cold stratification. *Journal of Plant Physiology*, 241, 153031.
- LAMONT, B. B., & PAUSAS J. G. (2023). Seed dormancy revisited: Dormancy-release pathways and environmental interactions. *Functional Ecology*, 37, 1106-1125.
- LASPINA, N. V.; BATLLA, D.; BENECH-ARNOLD, R. L. (2020). Dormancy cycling is accompanied by changes in ABA sensitivity in *Polygonum aviculare* seeds. *Journal of Experimental Botany*, 71, 5924-5934.

- LEUBNER-METZGER, G. (2001). Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathways. *Planta*, 213, 758-763.
- LI, C., LU, X., LIU, Y., XU, J., & YU, W. (2023). Strigolactone alleviates the adverse effects of salt stress on seed germination in cucumber by enhancing antioxidant capacity. *Antioxidants*, 12(5), 1043.
- LINKIES, A., & LEUBNER-METZGER, G. (2012). Beyond gibberellins and abscisic acid: How ethylene and jasmonates control seed germination. *Plant Cell Reports*, 31, 253-270.
- LIU, X., & HOU, X. (2018). Antagonistic regulation of ABA and GA in metabolism and signaling pathways. *Frontiers in Plant Science*, 9, 251.
- LONGO, C., HOLNESS, S., DE ANGELIS, V., LEPRI, A., OCCHIGROSSI, S., RUTA, V., & VITTORIOSO, P. (2020). From the outside to the inside: New insights on the main factors that guide seed dormancy and germination. *Genes*, 12(1), 52.
- MAITI, R. K., VIDYASAGAR, P., SHAHAPUR, S. C., & SEILER, G. J. (2006). Studies on genotypic variability and seed dormancy in sunflower genotypes (*Helianthus annuus* L.). *Indian Journal of Crop Science*, 1, 84-87.
- MARCINIAK, P., SOCHACKI, D., & NOWAKOWSKA, K. (2023). Karrikins effect on plants, interaction with other growth regulators, and potential use in horticulture. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 22(3), 3-16.
- MENG, Y., SHUAI, H., LUO, X., CHEN, F., ZHOU, W., YANG, W., & SHU, K. (2017). Karrikins: regulators involved in phytohormone signaling networks during seed germination and seedling development. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2021.
- MIRANSARI, M., & SMITH, D. L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110-121.
- MOSTOFA, M. G., LI, W., NGUYEN, K. H., FUJITA, M., & TRAN, L. S. P. (2018). Strigolactones in plant adaptation to abiotic stresses: An emerging avenue of plant research. *Plant, Cell & Environment*, 41(10), 2227-2243.
- MOTA ELVIRA, A. (2020). *Papel de las estrigolactonas en el desarrollo vascular de Arabidopsis thaliana*. Universidad Politécnica de Valencia. Tesis de Maestría.
- MUHAMMAD ASLAM, M., WASEEM, M., JAKADA, B. H., OKAL, E. J., LEI, Z., SAQIB, H. S. A., YUAN, W., XU, W., & ZHANG, Q. (2022). Mechanisms of abscisic acid mediated drought stress responses in plants. *International Journal of Molecular Science*, 19, 1084.

NASREEN, S., AYUB KHAN, M., MUHAMMAD, Z., MEHWISH, I., SALEEM, U., MUHAMMAD, A., & ZARRIN, F. (2015). Response of sunflower to various pre-germination techniques for breaking seed dormancy. *Pakistan Journal of Botany*, 47, 413-416.

NELSON, D. C., RISEBOROUGH, J. A., FLEMATTI, G. R., STEVENS, J., GHISALBERTI, E. L., DIXON, K. W., & SMITH, S. M. (2009). Karrikins discovered in smoke trigger Arabidopsis seed germination by a mechanism requiring gibberellic acid synthesis and light. *Plant Physiology*, 149(2), 863-873.

ORACZ, K., EL-MAAROUF-BOUTEAU, H., KRANNER, I., BOGATEK, R., CORBINEAU, F., & BAILLY, C. (2009). The mechanisms involved in seed dormancy alleviation by hydrogen cyanide unravel the role of reactive oxygen species as key factors of cellular signaling during germination. *Plant Physiology*, 150, 494-505.

RASMUSSEN, A., MASON, M. G., DE CUYPER, C., BREWER, P. B., HEROLD, S., AGUSTI, J., ... & BEVERIDGE, C. A. (2012). Strigolactones suppress adventitious rooting in Arabidopsis and pea. *Plant physiology*, 158(4), 1976-1987.

RIBEIRO, L. M., GARCIA, Q. S., MÜLLER, M., & MUNNÉ-BOSCH, S. (2015). Tissue-specific hormonal profiling during dormancy release in macaw palm seeds. *Physiologia Plantarum*, 153(4), 627-642.

QI, P.-F., BALCERZAK, M., ROCHELEAU, H., LEUNG, W., WEI, Y.-M., ZHENG, Y.-L., & OUELLET, T. (2016). Jasmonic acid and abscisic acid play important roles in host-pathogen interaction between *Fusarium graminearum* and wheat during the early stages of fusarium head blight. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 93, 39-48.

RIBEIRO, L.M., GARCIA Q. S., MÜLLER M., & MUNNE-BOSCH, S. (2015). Tissue-specific hormonal profiling during dormancy release in macaw palm seeds. *Physiologia Plantarum*, 153, 627-642.

RIVEIRA RUBIN, M. (2022). Regulación de la dormición por el ambiente materno en frutos de girasol (*Helianthus annuus* L.): estudio de los mecanismos fisiológicos involucrados Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Tesis de Doctorado.

RODRÍGUEZ, M. V., BARRERO, J. M., CORBINEAU, F., GUBLER, F., & BENECH-ARNOLD, R. L. (2015). Dormancy in cereals (not too much, not so little): about the mechanisms behind this trait. *Seed Science Research*, 25, 99-119.

ROSELLÓ, P., VIGLIOCCO, A. E., ANDRADE, A. M., RIERA, N. V., CALAFAT, M., MOLAS, M. L., & ALEMANO, S. G. (2016). Differential hormonal and gene expression

dynamics in two inbred sunflower lines with contrasting dormancy level. *Plant Physiology and Biochemistry*, 102, 133-140.

SAH, S. K., REDDY, K. R. & LI, J. (2016) Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Frontier in Plant Science*, 7, 571.

SAJEEV, N., KOORNNEEF, M., & BENTSINK, L. (2024). A commitment for life: Decades of unraveling the molecular mechanisms behind seed dormancy and germination. *The Plant Cell*, 36(5), 1358-1376.

SALGADO, P. (2009). Proteínas de girasol: aislamiento, caracterización y aplicación en la industria alimentaria. Universidad Nacional de La Plata. Tesis Doctoral.

SAMI, A., ZHU, Z. H., ZHU, T. X., ZHANG, D. M., XIAO, L. H., YU, Y., & ZHOU, K. J. (2021). Influence of KAR1 on the plant growth and development of dormant seeds by balancing different factors. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-10.

SANO, N., & MARION-POLL, A. (2021) ABA metabolism and homeostasis in seed dormancy and germination. *International Journal of Molecular Science*, 22, 5069

SHU, K., LIU, X. D., XIE, Q., & HE, Z. H. (2016). Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination. *Molecular Plant*, 9(1), 34-45.

SILVA, E. H., & GARCÍA-MARTÍNEZ, I. (2016). Brasinoesteroides en la agricultura. II. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(2), 451-462.

SKUBACZ, A., & DASZKOWSKA-GOLEC, A. (2017). *Phytohormones—signaling mechanisms and crosstalk in plant development and stress responses*. 1ra. Edición. Mohamed El – Esawi, Croacia. ISBN 978-953-51-4710-7. 170 p

TOH, S., KAMIYA, Y., KAWAKAMI, N., NAMBARA, E., MCCOURT, P., & TSUCHIYA, Y. (2012). Thermoinhibition uncovers a role for strigolactones in Arabidopsis seed germination. *Plant and Cell Physiology*, 53(1), 107-117.

TORRES-RUIZ, B. L., ESPINOSA-CALDERÓN, A., MENDOZA-RODRÍGUEZ, M., IRIZAR-GARZA, M. B., & CASTELLANOS-RUIZ, J. S. (2007). Efecto de brasinoesteroides en híbridos de maíz androestériles y fértiles. *Agronomía Mesoamericana*, 18(2), 155-162.

TUAN, P. A., KUMAR, R., REHAL, P. K., TOORA, P. K., & AYELE, B. T. (2018). Molecular mechanisms underlying abscisic acid/gibberellin balance in the control of seed dormancy and germination in cereals. *Frontier in Plant Science*, 23, 668.

VIGLIOCCO, A. E., ANDRADE, A. M., LINDSTRÖM, L. I., & ALEMANO, S. G. (2017). Dormancy in sunflower line A-3: The role of the pericarp. *Botany*, *95*, 853-858.

VIGLIOCCO, A., DEL BEL, Z., PÉREZ-CHACA, M. V., MOLINA, A., ZIRULNIK, F., ANDRADE, A. M., & ALEMANO, S. (2019). Spatiotemporal variations in salicylic acid and hydrogen peroxide in sunflower seeds during transition from dormancy to germination. *Physiologia Plantarum*, *169*, 27-39.

VISHAL, B., & KUMAR, P. P. (2018). Regulation of seed germination and abiotic stresses by gibberellins and abscisic acid. *Frontier in Plant Science*, *9*, 838.

WATERS, M. T., & NELSON, D. C. (2023). Karrikin perception and signalling. *New Phytologist*, *237*(5), 1525-1541.

XI, W., & YU, H. (2010). MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination and fertility relevant to the brassinosteroid signaling pathway. *Plant Signaling & Behavior*, *5*(10), 1315-1317.

XIA, Q., PONNAIA, M., GILARD, F., PERREAU, F., HUGUET, S., BALZERGUE, S., LANGLADE, N., BAILLY, C., MEIMOUN, P., CORBINEAU, F., & EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. (2018). One way to achieve germination: Common molecular mechanism induced by ethylene and after-ripening in sunflower seeds. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*.

XIA, Q., PONNAIAH M., THANIKATHANSUBRAMANIAN, K., CORBINEAU, F., BAILLY, C., NAMBARA, E., MEIMOUN, P., & EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. (2019). Re-localization of hormone effectors is associated with dormancy alleviation by temperature and after-ripening in sunflower seeds. *Scientific Reports*, *9*, 4861.

YAMAGUCHI, S. (2008). Gibberellin metabolism and its regulation. *Annual Review of Plant Biology*, *59*(1), 225-251.

YU-QING, N. I. U., HUI-BIN, X. U., YU-XIAO, Z. H. A. N. G., LING, L. I. A. N., JIA-HUAN, J. I. A. N. G., MIN-RONG, J. I. A. N. G., & JIAN-FU, Z. H. A. N. G. (2017). Studies on molecular mechanism of plant seed dormancy. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, *32*(10), 1156-1164.

ZWANENBURG, B., POSPÍŠIL, T., & ČAVAR ZELJKOVIĆ, S. (2016). Strigolactones: new plant hormones in action. *Planta*, *243*, 1311-1326.