UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOMAS DE ZAMORA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Trabajo de Investigación

Ingeniería Agronómica

“Comprensión del efecto de mayores dosis de temperaturas alternadas en la terminación de la dormición de *Cynara cardunculus* L.”

Catoggio Francisco Lucas

Director: **Huarte Héctor Roberto**

Lomas de Zamora, agosto del 2026

Trabajo de Investigación

"Comprensión del efecto de mayores dosis de temperaturas alternadas en la terminación de la dormición de *Cynara cardunculus* L."

Identificación del proyecto: EX 09355/2025

Carrera: Ingeniería Agronómica

Unidad ejecutora: Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora

Director

Apellido y Nombre: Héctor Roberto Huarte

Cargo: Profesor Asociado. Cátedra de Fisiología Vegetal.

Fecha de iniciación del proyecto: enero del 2026

“Las opiniones expresadas por el autor de este Trabajo no representan necesariamente los criterios de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Lomas de Zamora”.

RESUMEN

La dormición fisiológica no profunda, regulada principalmente por el balance entre el ácido abscísico (ABA) y las giberelinas (GAs), es el tipo más frecuente en semillas de malezas y especies no domesticadas. En *Cynara cardunculus* L. (var. *sylvestris*), su terminación ocurre mediante post-madurado en seco y ciclos de alternancia de temperaturas (AT), siendo la amplitud térmica uno de los factores determinantes. Estudios previos demostraron que la AT actúa inhibiendo la síntesis y señalización del ABA sin modificar la síntesis de GAs. Sin embargo, el efecto de distintas amplitudes sobre el balance ABA/GAs no había sido evaluado previamente. El objetivo de este trabajo fue incrementar el conocimiento sobre la respuesta a la AT en aquenios de *C. cardunculus* L. y sus bases hormonales, hipotetizando que mayores amplitudes promueven progresivamente la germinación mediante modificaciones en dicho balance. Se realizaron dos experimentos factoriales con un diseño completamente aleatorizado, cruzando tres amplitudes (0°C, 5°C y 10°C) con siete niveles de trinexapac-ethil (TE; inhibidor de biosíntesis de GAs) y seis niveles de ABA. Se incluyeron además tratamientos rescates mediante GA_3. La germinación aumentó progresivamente con la amplitud. La presencia de TE produjo una inhibición dosis-dependiente, significativa a menor dosis con mayor amplitud (30 µM a 10°C vs. 60 µM a 5°C), interpretado como consecuencia de que la AT reduce el ABA endógeno, convirtiendo la síntesis de GAs —no modificada por la amplitud— en el factor limitante de la germinación. El ABA exógeno suprimió la germinación de manera dosis y amplitud-dependiente, siendo significativo a menor concentración bajo mayor amplitud (100 µM a 10°C vs. 150 µM a 5°C) y convergiendo las tres amplitudes a partir de 150 µM. Los rescates con GA_3 revirtieron la inhibición en ambos experimentos. Se concluye que mayores amplitudes térmicas

promueven progresivamente la germinación de *C. cardunculus* L. a través del balance ABA/GAs, lo cual respalda a hipótesis de que la reducción del ABA endógeno es el componente hormonal central del mecanismo.

Palabras clave: dormición fisiológica no profunda, *Cynara cardunculus* L., alternancia de temperaturas, balance ABA/Giberelinas, amplitud térmica.

ÍNDICE GENERAL.

RESUMEN 3

INTRODUCCIÓN 7

OBJETIVOS 11

Objetivo general. 11

Objetivos específicos. 11

HIPÓTESIS 11

Hipótesis general. 11

Hipótesis específicas. 11

MATERIALES Y MÉTODOS 12

Material vegetal 12

Experimento 1. Efecto del trinexapac-ethil. 12

Experimento 2. Efecto del ácido abscísico. 13

Análisis de datos 13

RESULTADOS 14

Experimento 1. Efecto del trinexapac-ethil sobre la germinación. 14

Experimento 2. Efecto del ácido abscísico sobre la germinación. 16

DISCUSIÓN 19

CONCLUSIÓN 23

INVESTIGACIONES FUTURAS 25

REFERENCIAS 26

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1: 15

Figura 2: 17

TABLA DE ABREVIATURAS.

- ABA: Ácido Abscísico.
- ANOVA: Análisis de Varianza.
- AT: Alternancia de temperaturas.
- GAs: Giberelinas.
- LC-MS/MS: Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem.
- LC-ESI-MS/MS: Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem con Ionización por electrospray.
- TE: Trinexapac-ethil.

INTRODUCCIÓN

Las semillas de muchas especies de malezas son dispersadas en estado de dormición. El término dormición se refiere al estado de cese del crecimiento y desarrollo de algún órgano de la planta (Hilhorst *et al*., 2010). Para el caso específico de las semillas, Finch-Savage y Leubner-Metzger (2006) la definen como un bloqueo que impide la germinación de una semilla viable intacta bajo condiciones favorables. Fenner y Thompson (2005) destacan que no solo debe entenderse como la ausencia de germinación, sino como un mecanismo que utilizan las semillas para censar las condiciones ambientales circundantes y regular el *timing* de la germinación, permitiéndoles mantenerse en el banco de semillas del suelo hasta la presencia de condiciones propicias. Numerosos autores consideran que es el resultado de un proceso adaptativo adquirido a lo largo de la evolución de cada especie, cuyo principal objetivo es evitar que se desencadene la germinación en condiciones que pueden resultar en la muerte de la futura plántula (Baskin y Baskin, 2004; Fenner y Thompson, 2005).

En la actualidad, existe un sistema de clasificación de la dormición, propuesto por Baskin y Baskin (2004), en el que se determinan "clases" de dormición, las cuales están compuestas por "niveles", y estos niveles por "tipos". Dentro de las clases se incluyen: la dormición fisiológica (PD), dormición morfológica (MD), dormición morfofisiológica (MPD), dormición física (PY), dormición combinacional (PY + PD). La clase de dormición más frecuente en especies malezas es la fisiológica, pudiendo destacarse entre ellas a *Amaranthus palmeri* S. Wats. (Cristaudo *et al*., 2007), *Chenopodium álbum* L. (Murdoch *et al*., 1989), *Echinochloa colona* (L.) Link (Royo-Esnal *et al.*, 2022). Esta clase presenta regulación hormonal y puede dividirse en tres niveles: profunda, intermedia y no profunda, siendo la no profunda la más frecuente en la mayoría de las especies malezas

(Baskin y Baskin, 2004). Este nivel de dormición fisiológica se caracteriza porque puede romperse mediante el tratamiento con Giberelinas (GAs) y, dependiendo de la especie, también puede eliminarse mediante escarificación, post-madurado en seco y estratificación fría o cálida.

Dentro del grupo de especies que presentan dormición fisiológica no profunda se encuentra *Cynara cardunculus* L. (var. *sylvestris*) (Asteráceas), vulgarmente conocida como Cardo de Castilla. En esta especie, la dormición se alivia mediante un proceso de post-maduración en seco, el cual consiste en un período de almacenamiento en seco de las semillas (Huarte *et al*., 2018). *C. cardunculus* L. es una maleza perenne, nativa del Mediterráneo, que se encuentra con frecuencia en los pastizales naturales del centro, norte y este de Buenos Aires, aunque su difusión en Argentina es más amplia, abarcando zonas del sector bonaerense, la región de Cuyo, Noreste y Centro del país (Falasca y Ulberich, 2006), y la facilidad en la obtención de sus semillas la convierte en un modelo interesante para el estudio de procesos fisiológicos en especies con este tipo de dormición.

Una vez alcanzados bajos niveles de dormición en condiciones de campo, para muchas especies la terminación del estado de dormición solo se alcanza luego de la percepción de estímulos ambientales como la luz y la alternancia de temperaturas del suelo (Batlla y Benech-Arnold, 2005). La alternancia de temperaturas (AT) es un estímulo fundamental para estimular la germinación (Probert, 1992), cuyo sentido ecológico radica tanto en la detección de espacios abiertos sobre la superficie del suelo como de la profundidad de entierro (Carta *et al*., 2013). Una vez percibido un número específico de ciclos de AT, se desencadena una serie de procesos fisiológicos que reducen el potencial agua base de los aquenios (Huarte, 2006), se modifica el balance hormonal

entre el Ácido Abscísico (ABA) y GAs (Huarte y Benech-Arnold, 2010; Huarte *et al*., 2014) y se reduce la sensibilidad al ABA, principal hormona implicada en el mantenimiento de la dormición. Adicionalmente, Huarte y Benech-Arnold (2010) demostraron que la aplicación de GAs exógena en aquenios mantenidos bajo temperaturas constantes estimula la germinación, lo que indicaría que la GA exógena reemplaza la necesidad de AT.

Entre los factores determinantes de la eficacia de los ciclos de AT se identificaron la amplitud térmica, definida como la diferencia entre las temperaturas máxima y mínima del ciclo (Totterdell y Roberts, 1980; Ekstam *et al*., 1999), y el número de ciclos a los que se expone la semilla (Totterdell y Roberts, 1981; Benech-Arnold *et al*., 1990). Sin embargo, la relación entre una mayor amplitud térmica y la progresiva reducción en la relación ABA/GA no ha sido examinada en profundidad. Frente a este escenario, cabe plantear la hipótesis de que el incremento en la germinación total observada ante mayores amplitudes térmicas se asocia con una disminución progresiva en la sensibilidad y señalización al ABA, resultando en una relación ABA/GA reducida.

Al trabajar con especies malezas no es posible contar con fenotipos mutantes. Frente a esto, una estrategia experimental para evaluar el balance hormonal es el uso de promotores e inhibidores aplicados exógenamente. Para el caso de las GAs, la inhibición de su síntesis se logra mediante compuestos como el trinexapac-etil (TE) (Aparecido Manzani Lisboa *et al*., 2018). En cambio, para el ABA se suele utilizar el fluridone (Argyris *et al*., 2008). Por su parte, cuando se requiere una mayor concentración hormonal, esta puede agregarse exógenamente. Basado en lo anteriormente expuesto, con la intención de ahondar en la comprensión de las bases fisiológicas de la respuesta a mayores amplitudes térmicas en la terminación de la dormición se desarrollaron ensayos en

condiciones controladas en presencia de inhibidores de la biosíntesis de GAs, como el TE, y de ABA.

OBJETIVOS

Objetivo general.

Incrementar el conocimiento sobre la respuesta a la alternancia de temperaturas en aquenios de *C. cardunculus* L., y sus bases fisiológicas y hormonales.

Objetivos específicos.

I. Determinar si un incremento en la amplitud térmica promueve progresivamente la germinación en aquenios de *C. cardunculus* L.

II. Evaluar si la respuesta a mayores amplitudes térmicas se asocia con modificaciones en el balance hormonal ABA/GAs.

HIPÓTESIS

Hipótesis general.

Mayores amplitudes térmicas promueven la terminación de la dormición en aquenios de *C. cardunculus* L. a través de cambios en el balance hormonal ABA/GAs.

Hipótesis específicas.

I. Mayores amplitudes térmicas promueven un incremento progresivo en el porcentaje de germinación de aquenios de *C. cardunculus* L.

II. La exposición de aquenios de *C. cardunculus* L. a mayores amplitudes térmicas obedece a progresivos cambios en la relación ABA/GAs.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal.

Se utilizaron aquenios de una población de *C. cardunculus* L. (var. *sylvestris*) cosechados en enero del 2025 en el predio de la Sede Laguna de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora (FCA-UNLZ). Desde el momento de la cosecha hasta su uso en los experimentos, los aquenios se conservaron en el interior de un freezer a -18°C con aproximadamente un 5% de contenido de humedad para mantener el nivel de dormición inicial (Benech-Arnold *et al*., 2003). La reducción del contenido de humedad se logró mediante secado en estufa a 35°C, tomando muestras a intervalos de 12 horas hasta alcanzar un 5% de contenido hídrico.

Experimento 1. Efecto del trinexapac-ethil.

El experimento se realizó bajo un Diseño Completamente Aleatorizado con arreglo factorial de dos factores. El factor uno fue la amplitud térmica con tres niveles: 0°C (15°C constante), 5°C (17°C/12°C, 12h/12h) y 10°C (20°C/10°C, 12h/12h). El factor dos fue la concentración de TE con siete niveles: 0, 15, 30, 60, 90, 120 y 500 µM. Los aquenios se incubaron durante 21 días en presencia de 7 ml de soluciones de TE de las concentraciones mencionadas bajo las tres amplitudes térmicas. El pH de cada solución se ajustó a 6,7. El efecto de cada tratamiento se evaluó en 3 repeticiones de 20 aquenios cada una. Los aquenios se colocaron en cajas de Petri de 9 cm de diámetro sobre dos discos de papel de filtro hidratados con las soluciones correspondientes. Para eliminar el efecto de la luz, las cajas de Petri se envolvieron en doble lámina de papel de aluminio. Con el fin de descartar efectos fitotóxicos del TE sobre la germinación, se evaluó un tratamiento combinado de TE (500 µM) más GA_3 (1 mM) (Phytotechnology Laboratories,

Shawnee Mission, Kansas, USA). Los conteos de germinación se realizaron a los 21 días de iniciado el experimento (Huarte *et al*., 2018). Se consideró germinados a los aquenios que presentaron radícula visible de al menos 2 mm.

Experimento 2. Efecto del ácido abscísico.

El experimento se realizó bajo un Diseño Completamente Aleatorizado con arreglo factorial de dos factores. El factor uno fue la amplitud térmica con los mismos tres niveles que en el Experimento 1. El factor dos fue la concentración de ABA con seis niveles: 0, 50, 100, 150, 200 y 250 µM. Los aquenios se incubaron durante 21 días en presencia de 7 ml de soluciones de ABA bajo las tres amplitudes térmicas. El pH de cada solución se ajustó a 6,7. El efecto de cada tratamiento se evaluó en 3 repeticiones de 20 aquenios cada una. Las condiciones de colocación y oscuridad fueron idénticas a las del Experimento 1. Se evaluó adicionalmente un tratamiento combinado de ABA (250 µM) más GA_3 (1000 µM). Los conteos de germinación se realizaron a los 21 días de iniciado el experimento (Huarte *et al*., 2018). Se consideró germinados a los aquenios que presentaron radícula visible de al menos 2 mm.

Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron analizados mediante ANOVA y las diferencias entre medias se evaluaron mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$). Se utilizó el software InfoStat P (Di Rienzo *et al*., 2020). Las figuras se elaboraron mediante GraphPad Prism versión 8.0.1 (GraphPad Software, Boston, Massachusetts, USA).

RESULTADOS

Experimento 1. Efecto del trinexapac-ethil sobre la germinación.

El análisis de varianza presentó diferencias significativas ($P < 0,0001$) tanto para la amplitud térmica, la concentración de trinexapac-ethil y su interacción sobre el porcentaje de germinación de los aquenios (Figura 1). En dosis de TE 0 µM los aquenios bajo amplitud térmica de 10°C alcanzaron el mayor porcentaje de germinación del experimento (91,67 % ± 7,11) (media ± error estándar). Este tratamiento mostró diferencias significativas frente a la amplitud de 5°C (71,67 % ± 7,11) y a la de 0°C de amplitud (43,33 % ± 7,11), los cuales también difirieron estadísticamente entre sí. Para la amplitud de 10°C, la dosis de 30 µM mostró diferencias significativas frente a su control (TE = 0 µM). Para el caso de la amplitud térmica de 5°C, el tratamiento de 60 µM mostró diferencias estadísticamente significativas frente a su control a esa amplitud. A partir de 15 µM y hasta 120 µM, los tratamientos de 10°C y 5°C no mostraron diferencias significativas entre sí, aunque ambos mantuvieron diferencias significativas respecto a los tratamientos de 0°C. A los 500 µM, los tres niveles de amplitud térmica no mostraron diferencias estadísticas entre sí. Para la amplitud térmica de 0°C, los tratamientos de 15, 30, 60, 90, 120 y 500 µM no mostraron diferencias significativas entre sí y frente al control (TE = 0 µM). El tratamiento combinado TE (500 µM) + GA_3 (1 mM) produjo una disminución de la inhibición por TE en los tres niveles de amplitud. Bajo amplitudes de 10°C y 5°C, la aplicación de GA_3 incrementó significativamente la germinación respecto a 500 µM de TE sin GA_3, aunque sin recuperar los valores del control sin TE (TE = 0 µM), mostrando diferencias significativas con este. Por otro lado, en el caso de 0°C de amplitud térmica, la combinación (TE + GA_3) produjo valores de germinación significativamente superiores al control sin TE a esa misma temperatura, mostrando

diferencias estadísticas frente al control como a la dosis 500 µM sin GA_3 para la misma amplitud.

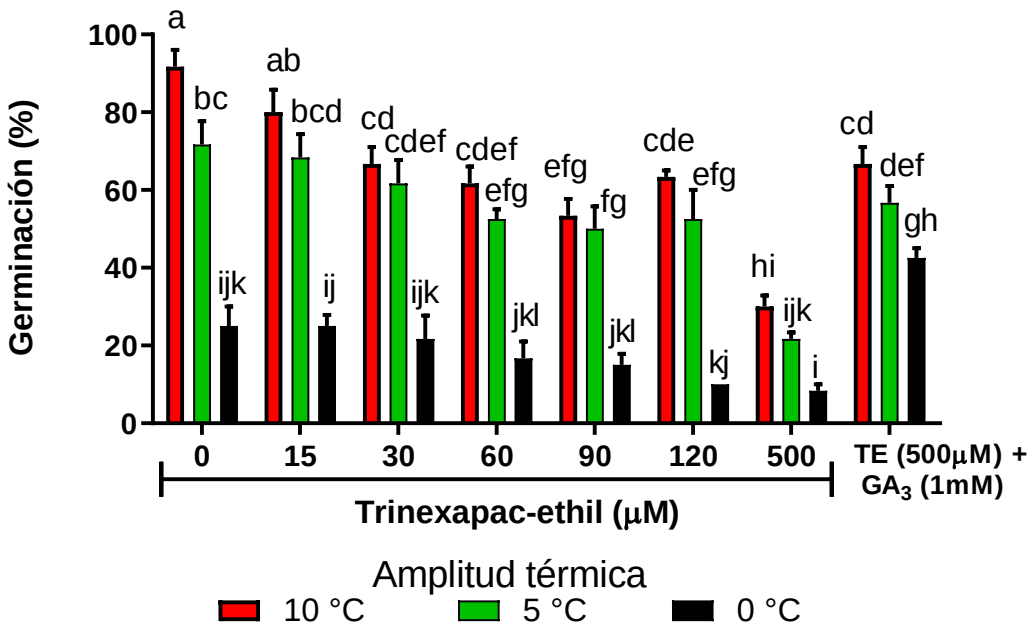


Figura 1: Porcentaje de germinación promedio de los aquenios incubados durante 21 días bajo tres amplitudes térmicas (10°C: barras rojas; 5°C: barras verdes; 0°C: barras negras) en presencia de concentraciones crecientes de trinexapac-ethil (TE; 0, 15, 30, 60, 90, 120 y 500 µM) y de una solución combinada de TE (500 µM) + GA_3 (1 mM). Las barras por encima de cada columna indican el error estándar. Los grupos de letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos según la prueba de Tukey ($\alpha = 0,05$). Las barras que comparten al menos una letra no difieren significativamente entre sí.

Experimento 2. Efecto del ácido abscísico sobre la germinación.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P < 0,0001$) para la amplitud térmica, la concentración de ABA exógeno y su interacción sobre el porcentaje de germinación de los aquenios (Figura 2). En ausencia de ABA (ABA = 0 µM), los aquenios bajo amplitud térmica de 10°C alcanzaron el mayor porcentaje de germinación del experimento (91,67 % ± 5,32). Este valor fue significativamente superior al obtenido bajo amplitud térmica de 5°C (65,00 % ± 5,32) y al de temperatura constante (0°C de amplitud; 20,00 % ± 5,32), los cuales también difirieron estadísticamente entre sí. A 50 µM, ninguna amplitud mostró diferencias significativas respecto a su control sin ABA (83,33 %, 61,67 % y 16,67 % para 10°C, 5°C y 0°C respectivamente), aunque a partir de esta concentración los tratamientos de 10°C y 5°C no mostraron diferencias estadísticas entre sí. Por otro lado, el tratamiento de 0°C se mantuvo significativamente inferior a ambos. A 100 µM, el tratamiento de 10°C experimentó la mayor caída absoluta del experimento (91,67 % → 46,67 %, reducción de 45 %), presentando diferencias estadísticas significativas frente a su control (ABA = 0 µM). A esta concentración, los tratamientos de 5°C (50,00 %) y 0°C (16,67 %) no difirieron estadísticamente. Sin embargo, los tratamientos de 10°C y 0°C aún mantuvieron diferencias significativas entre sí. A partir de la concentración de 150 µM, los tres niveles de amplitudes térmicas no se diferenciaron estadísticamente entre sí (10°C = 36,67 %, 5°C = 35,00 % y 0°C = 15,00 %). Además, para la amplitud térmica de 5°C, dicha concentración de ABA presentó diferencias estadísticas respecto a su control sin ABA. En relación con los tratamientos de 0°C de amplitud, ninguna concentración de ABA redujo la germinación de forma estadísticamente significativa respecto al control sin ABA. El tratamiento combinado ABA (250 µM) + GA_3 (1000 µM) produjo una reversión marcada de la

inhibición por ABA en los tres niveles de amplitud térmica, sin diferencias significativas entre sí (Figura 2). Bajo amplitudes de 10°C y 5°C, la aplicación de GA_3 recuperó la germinación hasta (68,33 % ± 5,32) y (61,67 % ± 5,32), valores que no presentaron diferencias estadísticas con sus respectivos controles sin ABA. Para el caso de la amplitud 0°C, se produjo una germinación del 43,33 % ± 5,32, valor estadísticamente superior a los tratamientos 50, 100, 150, 200 y 250 µM de ABA a esa misma amplitud térmica, y no presentó diferencias significativas tanto con el control sin ABA a 0°C como con el control sin ABA a 5°C de amplitud.

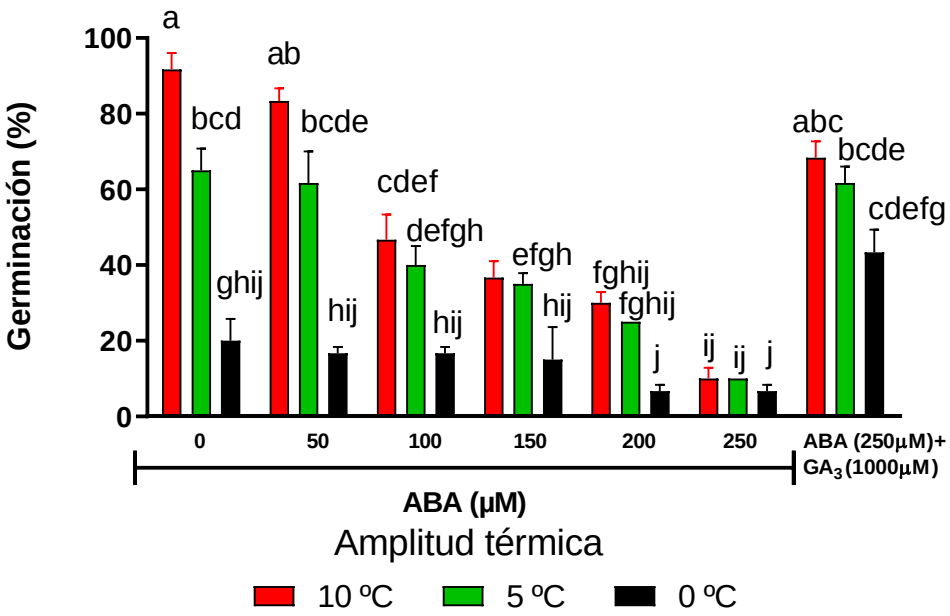


Figura 2: Porcentaje de germinación promedio de los aquenios incubados durante 21 días bajo tres amplitudes térmicas (10°C: barras rojas; 5°C: barras verdes; 0°C: barras negras) en presencia de concentraciones crecientes de Ácido Abscísico (0, 50, 100, 150, 200 y 250 µM) y de una solución combinada de ABA (250 µM) + GA_3 (1000 µM). Las barras por encima de cada columna indican el error estándar. Los grupos de letras sobre las barras indican diferencias estadísticamente significativas

entre tratamientos según el test de Tukey (α = 0,05). Las barras que comparten al menos una letra no difieren significativamente entre sí.

DISCUSIÓN

La luz y la alternancia de temperaturas son dos estímulos fundamentales que las semillas ortodoxas de muchas especies malezas, las cuales se encuentran en el banco de semillas del suelo, deben percibir para romper la dormición (Batlla y Benech-Arnold, 2005). Dentro del estímulo de alternancia térmica, el número de ciclos de alternancia de temperatura a los que se encuentran expuestas y la amplitud térmica de dicho ciclo son los factores que determinan la eficacia sobre la ruptura de la dormición. Los resultados obtenidos indican que la exposición de los aquenios de *C. cardunculus* L. a mayores amplitudes térmicas (i.e. 0°C, 5°C y 10°C) dentro del ciclo de alternancia de temperaturas promueve un incremento progresivo y significativo en el porcentaje de germinación. En ausencia de inhibidores (0 µM TE y 0 µM ABA), la respuesta sigue un patrón de 10°C > 5°C > 0°C, donde el porcentaje de germinación aumentó significativamente al pasar de una temperatura constante (0°C de amplitud) a una amplitud de 5°C y, finalmente, alcanzó su máximo con 10°C de amplitud térmica (91,67%). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Leon *et al*. (2004) en poblaciones de *Amaranthus tuberculatus* (Moq.) J.D.Sauer y *Setaria faberi* R.A.W. Herrm., y con los resultados obtenidos por Huarte (2006) en poblaciones de *Carduus acanthoides* L. y *Cirsium vulgare* (Savi) Ten., donde el incremento de la amplitud térmica del ciclo de alternancias de temperaturas resultó en un aumento del porcentaje de germinación.

Actualmente, no se encuentra estudiada en profundidad la relación entre el efecto de mayores amplitudes térmicas sobre el balance hormonal ABA/GA, el cual regula la dormición fisiológica no profunda. Frente este escenario, los resultados obtenidos se analizan contemplando lo demostrado por Huarte *et al*. (2014), quienes mediante cuantificación directa de GAs bioactivas por LC-ESI-MS/MS y análisis de expresión génica

por RT-PCR determinaron que la alternancia de temperaturas termina la dormición en *C. cardunculus* L. a través de la inhibición de la síntesis de ABA y la reducción de la señalización de ABA. Además, esos autores demostraron que la alternancia de temperaturas no modifica la síntesis ni la señalización de GAs, ni el contenido de GA_1 ni de GA_4, ni la expresión de genes implicados, entre semillas incubadas bajo temperaturas alternadas y constantes.

Bajo este contexto, en el experimento con TE, la inhibición de la germinación fue dosis-dependiente. La supresión resultó estadísticamente significativa respecto al control a 30 µM bajo 10°C de amplitud y a 60 µM bajo 5°C de amplitud, mientras que a 0°C de amplitud ninguna concentración produjo diferencias significativas. Este patrón no indicaría que mayores dosis de amplitud térmica estimulen activamente la síntesis de GAs, sino que permite suponer que a mayores amplitudes térmicas el ABA endógeno resultaría más bajo por inhibición de su síntesis y señalización, y, en consecuencia, la síntesis de GAs que ocurre de forma independiente de la amplitud térmica se convierte en el factor limitante de la germinación, por lo que, al bloquear la síntesis de GAs con TE, se produciría la reversión del balance ABA/GAs hacia la dormición con menores concentraciones. En cambio, a 0°C de amplitud, los resultados sugieren que el ABA endógeno sería el principal determinante del balance hormonal de tal forma que la inhibición de la síntesis de GAs no produce un efecto estadísticamente detectable. Por lo tanto, se podría suponer que la sensibilidad al TE reflejaría un menor nivel de ABA endógeno, y no una mayor tasa de síntesis de GAs. Esto es consistente con los resultados de Huarte y Benech-Arnold (2010), quienes demostraron que la aplicación de fluridone (inhibidor de la síntesis de ABA) bajo temperatura constante produce germinación equivalente a la observada bajo amplitud térmica, confirmando que la inhibición de la

síntesis de ABA es, por sí sola, suficiente para terminar la dormición sin necesidad de incrementar la síntesis de GAs. Para complementar este resultado, el tratamiento combinado TE (500 µM) + GA_3 (1 mM) permitiría descartar posibles efectos fitotóxicos del TE. La reversión parcial de la inhibición de la germinación en 10°C y 5°C y la superación del propio control sin TE en 0°C de amplitud, son consistentes con la acción del TE sobre la vía biosintética de las GAs. Además, en la respuesta a 0°C de amplitud, la GA_3 exógena incrementó la germinación por encima del control sin TE a esa amplitud, lo que es consistente con Huarte y Benech-Arnold (2010), confirmando que el estímulo causado por la alternancia de temperaturas puede ser reemplazado por la aplicación de GAs exógenas.

Asimismo, la presencia de ABA exógeno desplazó el balance hormonal a favor de esta hormona, por lo tanto, hacia la mantención de la dormición de forma progresiva en los niveles de 10°C y 5°C de amplitud térmica. Este resultado es coherente con el rol central del ABA como hormona que promueve y mantiene la dormición fisiológica (Baskin y Baskin, 2004; Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006). A 100 µM, la amplitud de 10°C experimentó la mayor caída absoluta del experimento (de 91,67% a 46,67%), lo que refleja que bajo esa condición el balance hormonal se encontraría desplazado hacia las GAs por la acción de la alternancia de temperaturas sobre el ABA endógeno y, por tanto, habría sido más susceptible a la modificación del balance inducido por el ABA exógeno. La convergencia de las tres amplitudes a partir de 150 µM (10°C = 36,67%; 5°C = 35,00%; 0°C = 15,00%), con desaparición de las diferencias estadísticas entre ellas, indica que cuando el balance es desplazado suficientemente hacia el ABA por vía exógena el efecto promotor de la amplitud térmica queda anulado. Así mismo, en los tratamientos de amplitud de 0°C, ninguna concentración de ABA redujo la germinación de forma

estadísticamente significativa respecto al control sin ABA. Este resultado implicaría que la germinación obtenida a 0°C ya es el reflejo de un alto contenido de ABA endógeno, consistente con lo documentado por Huarte *et al*. (2014). A su vez, el tratamiento combinado ABA (250 µM) + GA_3 (1000 µM) produjo una reversión marcada en los tres niveles de amplitud sin diferencias estadísticas entre ellos. En la amplitud de 0°C, la combinación generó una germinación del 43,33%, estadísticamente superior a todos los tratamientos con aplicación de ABA a esa amplitud y no diferente del control sin ABA a las amplitudes de 0°C y 5°C. Este resultado sugiere fuertemente que el balance ABA/GAs es el determinante central de la germinación en *C. cardunculus* L. independientemente del nivel de amplitud térmica, y que las GAs pueden contrarrestar farmacológicamente la inhibición del ABA. Estos resultados son consistentes con los reportados recientemente por Frazzetto *et al*. (2025) en *Dipsacus fullonum* L., otra asterácea con dormición fisiológica no profunda, donde la alternancia térmica redujo los niveles endógenos de ABA medidos por LC-MS/MS y la expresión de genes de señalización de ABA, sin modificar la síntesis de GAs, confirmando que la reducción del ABA es el componente hormonal primario de la respuesta a la alternancia de temperaturas.

CONCLUSIÓN

A partir de los resultados obtenidos, se concluye que el incremento de la amplitud térmica del ciclo de alternancias de temperaturas actúa como estímulo ambiental que promueve de manera progresiva y cuantitativa la germinación de los aquenios de *C. cardunculus* L., operando a través de modificaciones del balance ABA/GAs. En ausencia de reguladores hormonales, la germinación siguió el patrón 10°C > 5°C > 0°C.

La aplicación de trinexapac-ethil demostró que la inhibición de la biosíntesis de GAs suprimió la germinación de manera dosis-dependiente. Este efecto fue significativo a menores concentraciones del inhibidor cuando la amplitud térmica fue mayor (30 µM con una amplitud de 10 °C frente a 60 µM con una amplitud de 5 °C), mientras que, en ausencia de amplitud térmica (0 °C de amplitud), ninguna concentración de TE produjo un efecto significativo sobre la germinación. Estos resultados sugieren que el incremento de la amplitud térmica reduciría el contenido endógeno de ABA, desplazando progresivamente el equilibrio hormonal hacia un estado más permisivo para la germinación. En este contexto, dado que la síntesis de GAs no parece modificarse por la amplitud térmica, su disponibilidad pasaría a constituir el principal factor limitante del proceso germinativo. En consecuencia, bajo mayores amplitudes térmicas, concentraciones más bajas de trinexapac-ethil son suficientes para restablecer el balance hormonal hacia un estado de dormición.

Por otro lado, la mayor sensibilidad al ABA exógeno observada bajo las amplitudes térmicas más elevadas confirmó que, cuando el balance hormonal se desplaza artificialmente hacia esta fitohormona, el efecto promotor de la temperatura queda anulado de manera dosis-dependiente hasta lograr la convergencia de las respuestas. Finalmente, la consistencia de los tratamientos de rescate con GA_3 ratifica que la

modulación del balance ABA/GAs constituye el mecanismo fisiológico central que regula la terminación de la dormición en esta especie.

En conjunto, los resultados brindan un apoyo sólido tanto a la hipótesis general como a las hipótesis específicas, indicando que la amplitud térmica promueve progresivamente la terminación de la dormición en *C. cardunculus* L. a través de modificaciones en el balance ABA/GAs. En concordancia con lo demostrado por Huarte *et al*. (2014), los resultados obtenidos respaldan la hipótesis de que la reducción del ABA endógeno, mediante la inhibición de su síntesis y señalización, constituye el componente hormonal central del mecanismo, siendo este proceso de mayor magnitud a medida que se incrementa la amplitud térmica. Asimismo, la síntesis de GAs, no modificada por la amplitud, representa un requisito necesario para que la germinación pueda completarse una vez que el ABA endógeno es reducido.

INVESTIGACIONES FUTURAS

Los resultados obtenidos y la interpretación desarrollada abren líneas de investigación que permitirían consolidar y extender la comprensión de los mecanismos hormonales implicados. El paso más inmediato es la cuantificación directa de los niveles endógenos de ABA en aquenios incubados bajo las distintas amplitudes, dado que la interpretación del experimento con TE descansa en la premisa de que la AT reduce el ABA endógeno de forma proporcional a la amplitud, inferencia que resulta coherente con Huarte *et al*. (2014) pero que no fue verificada directamente en el presente trabajo. Por otro lado, el diseño experimental del presente trabajo fijó el período de incubación en 21 días sin variar el número de ciclos de AT, evaluar la interacción entre el número de ciclos y la amplitud térmica en un diseño factorial completo permitiría determinar si ambos factores son aditivos, sinérgicos o si existe un umbral de ciclos a partir del cual la amplitud deja de ser determinante. Finalmente, la extensión de este enfoque a otras Asteráceas con dormición fisiológica no profunda permitiría establecer si los mecanismos descritos constituyen una respuesta conservada a nivel de familia o son propios de *C. cardunculus* L.

REFERENCIAS

Aparecido Manzani Lisboa, L., Da Silva Viana, R., Hatsu Pereira Yoshida, C., de Marcos Lapaz, A., da Silva Viana, R., & Alexandre Monteiro de Figueiredo, P. (2018). TRINEXAPAC-ETHYL ACTION IN THE GERMINATION PROCESS OF VARIETIES OF ENDIVE. In *Article in International Journal of Development Research*. http://www.journalijdr.com

Argyris, J., Dahal, P., Hayashi, E., Still, D. W., & Bradford, K. J. (2008). Genetic variation for lettuce seed thermoinhibition is associated with temperature-sensitive expression of abscisic acid, gibberellin, and ethylene biosynthesis, metabolism, and response genes. *Plant Physiology*, *148*(2), 926–947. https://doi.org/10.1104/pp.108.125807

Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2004). A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, *14*(1), 1–16. https://doi.org/10.1079/ssr2003150

Batlla, D., & Luis Benech-Arnold, R. (2005). Predicting changes in dormancy level in weed seed soil banks: Implications for weed management. *Crop Protection*, *26*(3), 189–197. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.07.014

Benech-Arnold, R. L., Enciso, S., Sánchez, R. A., & Rodríguez, M. V. (2003). On the hormonal nature of the stimulatory effect of high incubation temperatures on germination of dormant sorghum (S. bicolor) caryopses. *New Phytologist*, *160*(2), 371–377. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00900.x

Benech Arnold, L., Ghersa, C. M., Sanchez, R. A., & Insausti, P. (1990). Temperature effects on dormancy release and germination rate in Sorghum halepense (L.) Pers. seeds: a quantitative analysis. In *Weed Research* (Vol. 30).

Carta, A., Bedini, G., Müller, J. V., & Probert, R. J. (2013). Comparative seed dormancy and germination of eight annual species of ephemeral wetland vegetation in a

Mediterranean climate. *Plant Ecology*, *214*(2), 339–349. https://doi.org/10.1007/s11258-013-0174-1

Cristaudo, A., Gresta, F., Luciani, F., & Restuccia, A. (2007). Effects of after-harvest period and environmental factors on seed dormancy of Amaranthus species. *Weed Research*, *47*(4), 327–334. https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2007.00574.x

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL http://www.infostat.com.ar

Ekstam, B., Johannesson, R., & Milberg, P. (1999). The effect of light and number of diurnal temperature fluctuations on germination of Phragmites australis. *Seed Science Research*, *9*(2), 165–170. https://doi.org/10.1017/s0960258599000185

Falasca, S., & Ulberich, A. (2006). Cultivos alternativos para la producción de biocombustibles en el área semiárida argentina. *Revista Geográfica*, (140), 135–150. http://www.jstor.org/stable/40996734

Fenner, M., & Thompson, K. (2005). *The Ecology of Seeds*. Cambridge: Cambridge University Press.

Finch-Savage, W. E., & Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. In *New Phytologist* (Vol. 171, Number 3, pp. 501–523). https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x

Frazzetto, P., Huarte, H. R., Puglia, G. D., Prjibelski, A., Saini, S. S., Giglio, V., Dattilo, S., & Cristaudo, A. (2025). Light and Alternating Temperatures Release Seed Dormancy in the Invasive Dipsacus fullonum L. Through ROS Homeostasis and ABA Regulation. *Physiologia Plantarum*, *177*(6). https://doi.org/10.1111/ppl.70642

Hilhorst, H. W. M., Finch-Savage, W. E., Buitink, J., Bolingue, W., & Leubner-Metzger, G. (2010). Dormancy in plant seeds. *Topics in Current Genetics*, *21*, 43–67. https://doi.org/10.1007/978-3-642-12422-8_4

Huarte, H. R., & Benech-Arnold, R. L. (2010). Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in Cynara cardunculus (L.). *Seed Science Research*, *20*(1), 39–45. https://doi.org/10.1017/S0960258509990249

Huarte, H. R., Borlandelli, F., Varisco, D., & Batlla, D. (2018). Understanding dormancy breakage and germination ecology of Cynara cardunculus (Asteraceae). *Weed Research*, *58*(6), 450–462. https://doi.org/10.1111/wre.12331

Huarte, H. R., Luna, V., Pagano, E. A., Zavala, J. A., & Benech-Arnold, R. L. (2014). Fluctuating temperatures terminate dormancy in Cynara cardunculus seeds by turning off ABA synthesis and reducing ABA signalling, but not stimulating GA synthesis or signalling. *Seed Science Research*, *24*(2), 79–89. https://doi.org/10.1017/S0960258514000051

Huarte, R. (2006). Hydrotime analysis of the effect of fluctuating temperatures on seed germination in several non-cultivated species. In *Seed Sci. & Technol* (Vol. 34).

Leon, R. G., Knapp, A. D., & Owen, M. D. K. (2004). Effect of temperature on the germination of common waterhemp (Amaranthus tuberculatus), giant foxtail (Setaria faberi), and velvetleaf (Abutilon theophrasti). *Weed Science*, *52*(1), 67–73. https://doi.org/10.1614/p2002-172

Murdoch, A. J., Roberts, E. H., & Goedert, C. O. (1989). A Model for Germination Responses to Alternating Temperatures. In *Annals of Botany* (Vol. 63).

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

Royo-Esnal, A., Onofri, A., Taab, A., Loddo, D., Necajeva, J., Uludag, A., Synowiec, A., Calha, I. M., Lars, A., Jensen, P. K., Uremis, I., Economou, G., Murdoch, A. J., & Tørresen, K. S. (2022). Comparing the emergence of Echinochloa crus-galli populations in different locations. Part II: similarities and threshold parameters. *Weed Research*, *62*(3), 203–214. https://doi.org/10.1111/wre.12529

Totterdell, S., & Roberts, E. H. (1980). Characteristics of alternating temperatures which stimulate loss of dormancy in seeds of Rumex obtusifolius L. and Rumex cn'spus L. In *Plant, Cell and Environment* (Vol. 3).

Totterdell, S., & Roberts, E. H. (1981). Ontogenetic variation in response to temperature change in the control of seed dormancy of Rumex obtusifolius L. and Rumex crispus L. In *Plant, Cell and Environment* (Vol. 4).