

Physiological response of sorghum seeds treated with *Arsenicum album* submitted to low temperature

Rosimar Maria Marques, Bruno Reis, Anielen Cassia Tormena Cavazin, Flávia Carolina Moreira, Hingrid Ariane Silva, Monica Gomes Buchoski, Mayara Assumpção Lolis, Carlos Moacir Bonato

State University of Maringá, Maringá, PR, Brazil

ABSTRACT

Introduction: Temperature is one of the main environmental factors that act on plants, affecting physiological processes such as germination and vigor, growth, photosynthesis, water and nutrients uptake, among others [1]. When seeds are exposed to temperature stress during imbibition process occur dramatic changes in the reorganization and function of the plasma membrane impairing the stability and functional structure of the membrane resulting in the decrease on germination and embryo death [2][3]. In plant, stress triggers wide response that extends from the change of gene expression and cell metabolism to changes in growth rate and productivity. The organism's reaction is a function of plant capacity to produce effects opposite to the action of stressors [4].

Aim: the purpose of this study was to evaluate high dilution effect of *Arsenicum album* on physiological variables of germination and growth of sorghum.

Material and Methods: The experiment was conducted at the Laboratory of Physiology and Homeopathy at Universidade Estadual de Maringá - UEM. *Arsenicum album* 6x matrix was acquired in homeopathic laboratory. From matrix, other dilutions were prepared according to Brazilian Homeopathic Pharmacopoeia [5] with the homeopathic remedies prepared in distilled water (1/10) and succussed by 100 times in mechanical arm (50-Denise Model Autic). For cold test, 50 seeds were distributed on germitest paper moistened to 2.5 times the weight of paper under different dilutions of *A. album* (9, 12, 18, 24 and 30x) with four replications. The control consisted of distilled water. After sowing, the rolls were placed in plastic bags and sealed, and lead in BOD-chamber at 10°C for 7 days. After this period, the rolls were removed from plastic bags and transferred to BOD-chamber at (25 ± 2)°C, arranged at random where they remained for seven days. Germination percentage (GP%) were evaluated according to Rules for Seed Analysis [6]. The length of primary roots (LPR) and length of hypocotyl (LH) were determined only for seedlings. The total length seedlings (TLS) was calculated as the sum of the lengths of hypocotyl (LH) and primary root (LPR). The fresh biomass (FB) of the seedlings were obtained by removing from their cotyledons, and then weighed on an analytical balance. The dry biomass (DB) was obtained after drying at (80 ± 1)°C for 72h. The experimental design was completely randomized. We adopted the double-blind procedure, thereby avoiding possible researcher interference. Data were subjected to analysis of variance and means compared by Scott-Knott ($P \leq 0.05$).

Results: Seed exposure for seven days to cold stress at 10° C inhibited the germination percentage (GP%). Dilutions 9 and 18x showed the lowest germination percentage (Figure 1A). The cold inhibited the total length

of hypocotyls (LH) the length of the seedlings (TLS), with the lowest values observed in seeds treated with dilution 24x (Figures 1B and 1C). Fresh biomass production of seedlings (FB) also was reduced the dilutions 9, 12 and 24x (Figure 1D). Seedlings treated with the dilution 24x reduced the dry biomass production (DB) (Figure 1E).

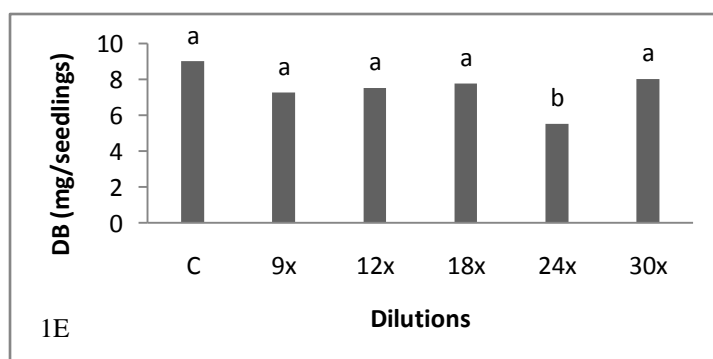
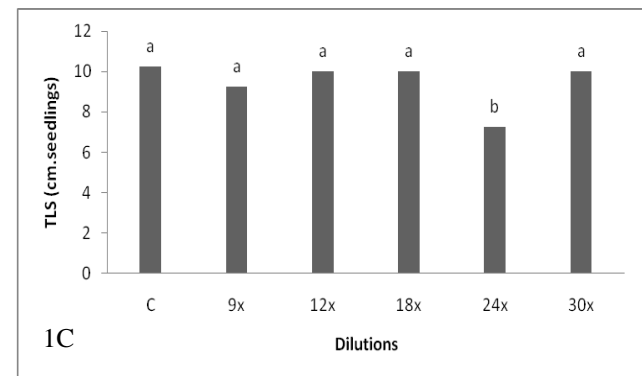
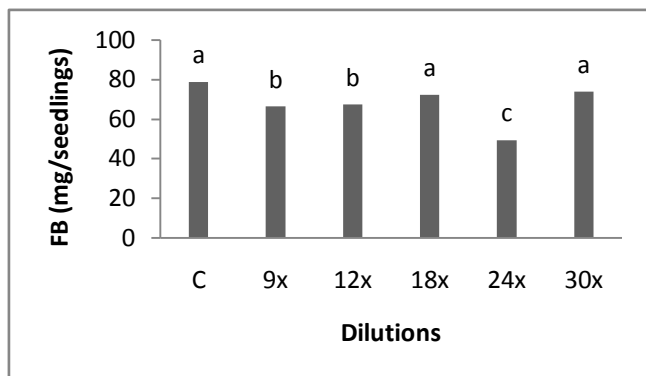
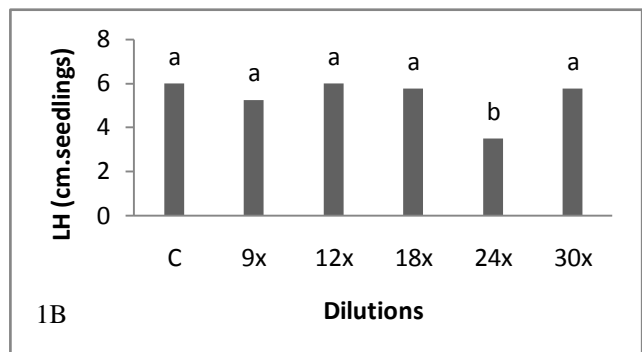
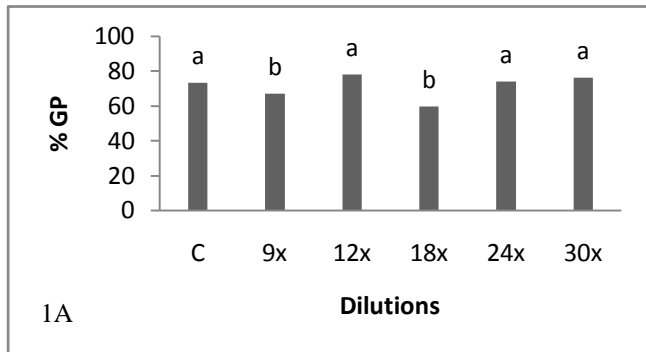


Figure 1. Effect of *Arsenicum album* in decimal (x) scale on germination percentage (1A), hypocotyl length (1B) in total length seedlings (1C), fresh biomass (1D) and dry biomass (1E) the of sorghum seeds subjected to low temperature. Means followed by same letter do not differ by Scott-Knott ($P > 0,05$).

Discussion: Cold stress causes dramatic changes in seed physiology. The stress caused by temperatures between 0 and 10°C, which are above the freezing point can cause effect reversible or irreversible, depending on time of exposure and the physiological potential of seed [7]. Under these conditions the level of seed vigour has a decisive influence on the germination process or delaying it, causing the appearance of abnormal seedlings or preventing germination [1]. Nine and 18x dilutions adversely affected seed germination. It is suggested that these dilutions may be affecting some way a key mechanism for germination, such as the mechanisms of degradation and/or reserve mobilization (Fig. 1A). Moreover, these dilutions could be affecting important metabolic steps such as the respiration rate in which the germination process is highly dependent.

The dilution 24x reduced the hypocotyl length (HL), the total length (TL) and fresh (FB) and dry biomass (DB) (Figures 1B to 1E). In this case, it is suggested that *Arsenicum album* 24x may be interfering with the cell elongation and/or cell division of the hypocotyl. This fact can be partly explained to low water content observed in the hypocotyl (1F). Low-temperature stress limits the nutrient and water uptake interfering in biosynthesis process that occurring to a lesser degree, being one of the more direct temperature effects on the growth reduction of tissues [8].

Conclusions: We can conclude that homeopathy *Arsenicum album* 24x reduced the germination percentage, the length, fresh and dry biomass of sorghum. Probably the cause of this reduction is the lower absorption/water content in the system. The reduction in water content can be the cause lower values for the variables mentioned. However, the inhibitory action of the 24x dilution in water content is not yet known and will be one of the goals of future work.

References

- [1] Marcos Filho J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Julio Marcos Filho. Piracicaba: Fealq, 2005.
 - [2] Lee SH Chung GC Steudle E. Gating of aquaporins by low temperature in roots of chilling sensitive cucumber and chilling-tolerant figleaf gourd. Journal of Experimental Botany. 2005; 56 (413): 985-995.
 - [3] Oliveira LMN, Sobreira AC de M, Monteiro F de P, Melo DF. Chill-induced changes in fatty acid composition of tonoplast vesicles from hypocotyls of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Braz. J. Plant Physiol. 2010; 22(1): 69-72.
 - [4] Bonato CM. Homeopatia em Modelos Vegetais. Cultura Homeopática. 2007; n. 21, p.24-28.
 - [5] Brasil. Farmacopéia Homeopática Brasileira. 4º ed. São Paulo: Atheneu, 1997.
 - [6] Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para Análise de Sementes. Brasília: MAPA/ACS, 2009.
 - [7] Jan N, Mahboob-ul-Hussain, Andrabi KI. Cold resistance in plants: A mystery unresolved. Electronic Journal of Biotechnology. 2009, vol.12 (3): 1-15.
 - [8] Ercoli L, Mariotti M, Masoni A, Arduini I. Growth responses of sorghum plants to chilling temperature and duration of exposure. Europ. J. Agronomy. 2004; 21: 93–103
-

Resposta fisiológica de sementes de sorgo tratadas com *Arsenicum album* submetidas à baixa temperatura

RESUMO

Introdução: A temperatura constitui-se num dos principais fatores ambientais que agem sobre as plantas, determinando processos fisiológicos como germinação e vigor das sementes, crescimento, fotossíntese, absorção de água e nutrientes, dentre outros [1]. Quando sementes são expostas ao estresse por temperatura durante determinado período o processo de embebição causa mudanças drásticas na reorganização e função da membrana plasmática, prejudicando a estabilidade estrutura e funcional da membrana culminando com a queda de germinação e a morte do embrião [2] [3]. Em plantas o estresse dispara ampla resposta que vai desde a alteração da expressão gênica e do metabolismo celular a alteração na taxa de crescimento e produtividade. A reação do organismo será em função da capacidade da planta de produzir efeitos opostos à ação dos fatores estressantes [4].

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do medicamento homeopático *Arsenicum album* sobre as variáveis fisiológicas de germinação e crescimento de sorgo.

Material e Método: O experimento foi conduzido no Laboratório de Fisiologia e Homeopatia da Universidade Estadual de Maringá – UEM. As sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L.) foram adquiridas empresa idônea. A matriz homeopática *Arsenicum album* 6x, foi adquirida em laboratório de manipulação de medicamentos homeopáticos especializado. A partir da matriz foram preparadas as demais diluições de acordo com as instruções contidas na Farmacopéia Homeopática Brasileira [5] sendo as homeopantias preparadas em água destilada (1/10) e sucussionadas 100 vezes em dinamizador braço mecânico (Modelo Denise 50-Autic). O teste de frio em rolo de papel sem solo, onde 4 repetições de 50 sementes foram distribuídas em rolos de papel umedecido com as diluições de *A. album* (9, 12, 18, 24 e 30x) em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel, o controle constituiu-se de água destilada. Após a sementeira, os rolos foram colocados no interior de sacos de plástico e vedados com fita adesiva, sendo mantidos em câmara regulada a 10°C, durante 7 dias. Após este período, os rolos foram retirados dos sacos plásticos e transferidos para uma câmara de germinação tipo BOD a temperatura de 25°C±2, dispostos aleatoriamente onde permaneceu por 7 dias. Os critérios de porcentagens de germinação (PG %) foram feitos de acordo com as recomendações das Regras para Análise de Sementes [6]. Os comprimentos da raiz primária (CRP) e hipocótilo (CHP), em centímetros, foram efetuados somente para plântulas normais. O comprimento total da plântula (CTP) foi calculado pela soma dos comprimentos do hipocótilo e da raiz primária. Para a determinação da biomassa fresca das plântulas foram removidos seus cotilédones, sendo em seguida pesadas em balança analítica, sendo em seguida colocadas para secarem em estufa a 80±1°C, por 72 horas. A biomassa fresca foi obtida dividindo-se o peso total pelo número de plântulas da parcela. Após esse período foi determinado à biomassa seca das plântulas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Foi adotado o procedimento duplo-cego, evitando-se possíveis interferências ou tendências do pesquisador. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0.05$).

Resultados: A exposição das sementes por sete dias ao estresse pelo frio (10°C) resultou no comprometimento drástico da germinação. As diluições 9 e 18x apresentaram os menores valores de porcentagem de germinação (Figura 1A). Hipocótilos foram inibidos pelo frio, com uma maior inibição observada nas sementes tratadas com a diluição 24x (Figura 1B). As plântulas também tiveram seu metabolismo comprometido exibindo redução no comprimento total das plântulas na diluição 24x (Figura 1C). Estresse causado pelo frio provoca

mudanças drásticas na fisiologia da planta. A produção de biomassa fresca das plântulas (BFPL) também sofreu redução nas diluições 9, 12 e 24x (Figura 1D). As plântulas tratadas com as diluições 9, 12, 18 e 24x apresentaram menor alocação de carbono reduzindo a produção de biomassa seca das plântulas (BSPL) (Figura 1E).

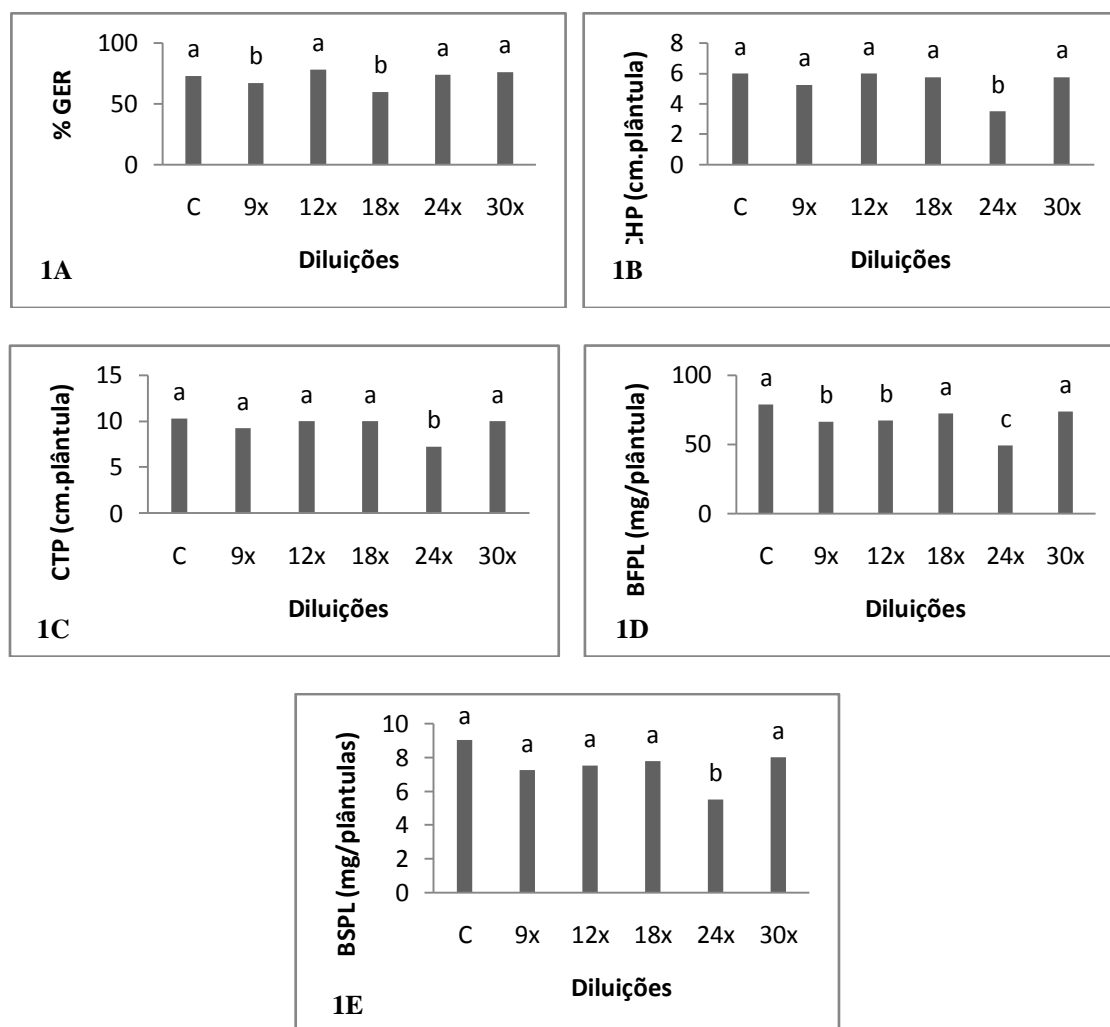


Figura 1. Efeito das diluições decimais (x) do medicamento homeopático *Arsenicum album* na porcentagem de germinação (1A), no comprimento do hipocótilo (1B), no comprimento total da plântula (1C), na biomassa fresca das plântulas e na biomassa seca das plântulas de sorgo. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P > 0,05$).

Discussão: O estresse causado por temperaturas entre 0 e 10°C, que se encontram acima do ponto de congelamento podem causar efeitos reversíveis ou irreversíveis, dependendo do tempo de exposição e do potencial fisiológico da semente [7]. Nessas condições o nível de vigor das sementes influi decisivamente sobre o processo de germinação, quer retardando-o, provocando o aparecimento de plântulas anormais, quer impedindo a germinação [1]. Observou-se neste experimento que a baixa temperatura prejudicou o vigor das sementes causando redução na porcentagem de germinação. O estresse por baixa temperatura restringe a absorção de água e nutrientes interferindo nos processos de biossíntese que ocorrem em menor intensidade, sendo um dos efeitos mais diretos da temperatura a redução do crescimento de tecidos [8]. Com base nos

resultados obtidos verifica-se que plântulas de sorgo tiveram seu metabolismo alterado resultado na redução de seu crescimento e alocação de carbono.

Conclusões: Podemos concluir que a homeopatia 24x Arsenicum album reduziu a porcentagem de germinação, o comprimento, a biomassa fresca e biomassa seca de sorgo. Provavelmente a causa dessa redução é o menor teor de absorção / água no sistema. A redução do teor de água pode ser a causa valores mais baixos para as variáveis mencionadas. No entanto, a ação inibitória da diluição 24x no conteúdo de água ainda não é conhecido e será uma das metas de trabalho futuro.



Licensed to [GIRI](#)

Support: authors declare that this study received no funding

Conflict of interest: authors declare there is no conflict of interest

Correspondence author: Carlos Moacir Bonato, cmbonato@uem.br; cmbonato@hotmail.com

How to cite this article: Marques RM, Reis B, Cavazin ACT, Moreira FC, Silva HA, Buchoski MG, Lolis MA, Bonato CM. Physiological response of sorghum seeds treated with Arsenicum album submitted to low temperature. *Int J High Dilution Res* [online]. 2011 [cited YYYY Month dd]; 10(36): 233-238. *Proceedings of the XXV GIRI Symposium and VIII CBFH; 2011 Sep 04-07; Foz do Iguaçu (Brazil). GIRI and ABFH; 2011; Available from: <http://www.feg.unesp.br/~ojs/index.php/ijhdr/article/view/506/519>*