

Influencia de diferentes reguladores del crecimiento sobre la germinación de semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) cv. 'Caribe-71'.

Amelia Capote Rodríguez, Zoila Fundora Mayor y Odalys Pérez Díaz

Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", INIFAT

RESUMEN

Se estudió el efecto de diferentes reguladores del crecimiento sobre la germinación de semillas de cebolla cv. 'Caribe-71', evaluándose las variables: porcentaje de germinación, porcentaje de plántulas normales, altura de las plántulas y precocidad en la germinación. Se registraron además los tipos de anomalías presentes en las plántulas obtenidas. Los resultados mostraron que con la aplicación de 0,1 mg/L de triacontanol (TRIA) se obtuvieron los mayores porcentajes de germinación (77,5 %) y de plántulas normales (80 %) respectivamente.

Palabras clave: Reguladores del crecimiento, germinación, triacontanol, *Allium cepa*

ABSTRACT

The effect of different growth regulators on onion seeds germination, cv. 'Caribe-71', was studied. Germination percentage, normal plantlets percentage, plantlet height and germination precocity were evaluated. The existing types of abnormalities in obtained plantlets were registered. Results showed that with the application of 0,1 mg/L triacontanol (TRIA), the highest germination percentage (77,5 %) and also normal plantlets (80 %) were obtained.

Key words: Growth regulators, germination, triacontanol, *Allium cepa*

INTRODUCCIÓN

El objetivo de los bancos de semillas es preservar la diversidad biológica de las plantas manteniendo la viabilidad y la integridad de las accesiones (Wu *et al.*, 1998). Sin embargo, factores tales como la constitución genética de las semillas, la temperatura a la cual ellas se mantienen, la humedad de las mismas y la duración del período de almacenamiento determinan la viabilidad de las mismas bajo conservación (Alexander y Doijode, 1995).

El deterioro bioquímico de las semillas comienza después de cierto período de almacenaje, resultando en una declinación de la viabilidad, lo que pudiera deberse a que se encuentran en un estado quiescente sin capacidad para germinar (Alexander y Doijode, 1995).

Numerosos tratamientos han sido aplicados para aumentar la capacidad de germinación de las semillas después de un largo período de almacenaje, así existen reportes sobre el efecto de la exposición a bajas temperaturas (Branca, 1995), a un campo magnético (Alexander y Doijode, 1995) y la concentración óptima de agua en las semillas (Walters *et al.*, 1998).

Se plantea que una de las hipótesis sobre la pérdida de la capacidad de germinación normal podría estar relacionada con los cambios en el balance endógeno de los reguladores del crecimiento vegetal en la semilla, por lo que se requiere de un suministro externo de estas

sustancias para estimular la germinación (Yamaguchi *et al.*, 1982).

Las semillas de cebolla tienen un período relativamente largo de viabilidad cuando son comparadas con otros cultivos. No obstante, en muchas ocasiones pierden su viabilidad, sobre todo cuando se mantienen bajo condiciones no óptimas o en semillas importadas (Capote, 1993).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes reguladores del crecimiento sobre la germinación de semillas de cebolla cv. 'Caribe-71', con vistas a valorar su utilidad en la recuperación de la viabilidad de las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

En la realización de este trabajo se utilizaron semillas de cebolla cv. 'Caribe-71' (*Allium cepa* L.) después de mantenerse durante un año bajo condiciones de almacenamiento en cámara fría (5 – 7) C° en bolsas de polietileno.

Las semillas fueron lavadas con agua y detergente comercial y enjuagadas en agua corriente. Para su desinfección fueron colocadas en etanol 70 % (1 min), sumergidas en una solución de lejía comercial (2,5 % de cloro activo) durante 10 minutos y posteriormente lavadas con agua destilada estéril por tres veces.

Después de desinfectadas las semillas fueron embebidas por 24 horas en medio KNOP diluído al 50 % (Gautheret, 1942) utilizado como control y diferentes soluciones, a una concentración de 0,1 mg/L cada una, de los reguladores del crecimiento utilizados (Tabla I).

Una vez finalizado este tiempo, las semillas fueron lavadas con agua destilada y colocadas en placas Petri sobre papel de filtro con agua destilada. Se utilizaron 100 semillas/ placa y se analizaron cuatro réplicas por tratamiento. Las placas fueron incubadas a $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ en la oscuridad durante un período de diez días.

TABLA I

Tratamientos estudiados para evaluar el efecto de los reguladores del crecimiento sobre la germinación de cebolla cv. Caribe- 71.

	AUXINAS (0,1 mg/L)	CITOQUININAS (0,1 mg/L)	OTROS REGULADORES (0,1 mg/L)
1(Control)	_____	_____	_____
2	_____	_____	Acido giberélico (AG ₃)
3	_____	6- furfuri amino purina (KIN)	AG ₃
4	_____	6- bencil amino purina (BAP)	AG ₃
5	Acido naftalén acético (ANA)	_____	_____
6	ANA	KIN	_____
7	ANA	BAP	_____
8	_____	KIN	_____
9	_____	BAP	_____
10	_____	_____	Acido abscisico (ABA)
11	_____	KIN	ABA
12	_____	BAP	ABA
13	Acido indol acético (AIA)	_____	_____
14	AIA	KIN	_____
15	AIA	BAP	_____
16	Triacantanol	_____	_____

Las variables evaluadas fueron: porcentaje de germinación y porcentaje de plántulas normales según lo establecido por el Manual para la evaluación de las plántulas en los análisis de germinación (INSV, 1980).

En los tratamientos con porcentajes de germinación superiores al 60% se evaluó además la altura de las plántulas (cm) a los diez días y se calculó la precocidad en la germinación expresando en porcentaje el número de semillas germinadas a los 6 días posteriores al inicio del experimento con relación al número total de semillas germinadas.

Posteriormente se evaluó el efecto de diferentes concentraciones (0,001; 0,05; 0,1 y 0,5 mg/L) del mejor tratamiento (triacontanol) sobre las variables: porcentaje de germinación, altura de las plántulas (cm), longitud del hipocótilo (LH) (cm), longitud de la radícula (LR) (cm) y la relación LH/LR. Se utilizaron 100 semillas/placa y se analizaron cuatro réplicas por tratamiento.

En todos los casos los datos fueron evaluados mediante un ANOVA de clasificación simple y efecto fijo, y las diferencias significativas detectadas mediante la prueba de rangos múltiples de Neuman-Keuls al 5 % según el paquete estadístico STATITCF Versión 4.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en los porcentajes de germinación y plántulas normales a los diez días posteriores al tratamiento variaron grandemente ante la aplicación de los diferentes reguladores empleados. En la Tabla II se muestran los resultados obtenidos para cada tratamiento, donde es posible observar que excepto las variantes donde se emplearon AG_3 , KIN, AIA y TRIA, el resto de los reguladores no estimularon los porcentajes de germinación de semillas por encima del 60 % ni se obtuvieron plántulas normales, lo cual indica el efecto negativo de éstos sobre la germinación de las semillas, si se tiene en cuenta que con el control se obtuvo un 65,5 % de germinación.

El incremento en la incidencia de la germinación anormal está asociado con la declinación de los porcentajes de germinación, sobre todo en características como el geotropismo negativo y el cese del crecimiento de la radícula (Yamaguchi *et al.*, 1982), los cuales se encuentran entre los principales tipos de anomalías presentes en los tratamientos estudiados (Tabla III).

Al analizar las plántulas obtenidas no parece existir relación alguna entre el tipo de anomalía y el regulador del crecimiento adicionado, resultando que los mayores porcentajes de anomalías presentes corresponden a las características: tallos no desarrollados (34,35 %), raíz hendida o deforme (28,17 %) y raíz ausente

(15,98 %). El estudio de los cambios fenotípicos de las plántulas obtenidas es un aspecto de suma importancia sobre todo cuando se desea mantener la integridad de las especies conservadas (Wu *et al.*, 1998).

En la tabla IV se muestran los resultados obtenidos al analizar otras variables en el caso de los tratamientos con mejores resultados. En cuanto a la precocidad en la germinación, a pesar de no haber realizado un análisis estadístico, se observó un estímulo en el inicio de la misma con la combinación de AG_3 - KIN (89,2 %) y AG_3 (89 %) solamente, lo cual parece indicar que el ácido giberélico por sí solo provoca un efecto estimulante sobre la germinación.

Esta respuesta puede ser debida al papel que juega este regulador en la iniciación de la germinación, al inducir la síntesis de α -amilasa necesaria para obtener el suministro de energía requerida para este proceso y estimular la división celular (Van Overbeek, 1970).

Sin embargo, la aplicación de AG_3 no estimuló con respecto al control los porcentajes de germinación al final del período de evaluación (10 días), lo que puede atribuirse a que una germinación prematura resulta en muchos casos en alteraciones metabólicas (Mumford y Brett, 1982), que conllevan a una pérdida de la capacidad de germinación normal.

El papel de los reguladores del crecimiento sobre la germinación ha sido estudiado con anterioridad. Así se ha descrito la efectividad del AIA, a bajas concentraciones (10^{-4} mg/L), en la estimulación de la germinación de semillas de frijol cuando se aplicó en combinación con la zeatina (10^{-3} mg/L) (Yamaguchi *et al.*, 1982).

Por otra parte, la estimulación de la germinación por el ABA, a una concentración de 1 y 3 mg/L, fue demostrada en semillas de arroz (Yamaguchi *et al.*, 1982); sin embargo, Doijode (1995) planteó que no estimula la germinación de las semillas de mango después de cuatro semanas mantenidas bajo dos condiciones de almacenamiento (5 °C y temperatura ambiente).

Esta descrito que la aplicación de AG_3 incrementa los porcentajes de germinación en semillas de lechuga (Khan, 1969), y los porcentajes de germinación y crecimiento de las plántulas de tabaco (Yamaguchi y Nakatani, 1983).

Los mayores porcentajes de germinación (77,5 %) se obtienen con la aplicación del triacontanol, los cuales difieren significativamente del resto incluyendo el tratamiento utilizado como control. Este valor alcanzado en la germinación representa un incremento del 18,3 % con relación al control.

TABLA II

Efecto de diferentes reguladores del crecimiento sobre la germinación y la obtención de plántulas normales de semillas de cebolla cv. 'Caribe- 71'.

REGULADORES (0,1 mg/L)	GERMINACION (%)	PLANTULAS NORMALES
Control	65,5	69,46
AG ₃	65,0	75,19
AG ₃ -KIN	64,5	74,60
AG ₃ -BAP	21,0	0
ANA	13,0	0
ANA-KIN	15,0	0
ANA-BAP	7,0	0
KIN	63,0	68,99
BAP	31,0	0
ABA	51,0	0
ABA-KIN	46,0	0
ABA-BAP	6,0	0
AIA	61,5	66,66
AIA-KIN	51,0	0
AIA-BAP	20,0	0
TRIA	77,5	80,00

TABLA III

Tipo y frecuencia de las principales anomalías obtenidas en las plántulas germinadas con la aplicación de diferentes reguladores del crecimiento.

SISTEMA RADICULAR	SISTEMA APICAL
·Raíz hendida o deforme (28,17%)	·No desarrollado (34,35%)
·Raíz ausente (15,98%)	·Formando un lazo o espiral (3,1%)
·Geotropismo negativo (4,42%)	·Sin rodilla definida (2,38%)

TABLA IV

Resultados obtenidos en la germinación de semillas de cebolla cv. 'Caribe-71' con la utilización de diferentes reguladores del crecimiento. (Letras iguales no difieren entre sí $p=0,05$).

TRATAMIENTO	PRECOCIDAD (%)	GERMINACION (%)	ALTURA DE PLANTULAS (cm)	PLANTULAS NORMALES (%)
Control	81,5	65,5 b	<u>4,02</u> NS	69,46 NS
AG ₃	89,0	64,5 b	3,12 NS	75,19 NS
AG ₃ - KIN	<u>89,2</u>	64,5 b	3,58 NS	74,60 NS
KIN	83,3	63 b	3,65 NS	68,99 NS
AIA	83,7	61,5 b	3,95 NS	66,66 NS
TRIA	74,9	<u>77,5</u> a	3,95 NS	<u>80,00</u> NS
CV		6,5%	27,63%	14,02%

En cuanto a la altura de las plántulas no se encontraron diferencias significativas entre los resultados obtenidos al aplicar los diversos reguladores del crecimiento; sin embargo, a pesar de no existir diferencias entre ellos se observó un ligero aumento en la altura de las plántulas (4,02 cm) con el control sin reguladores del crecimiento.

Similares resultados se obtuvieron al analizar el porcentaje de plántulas normales, donde no se encontraron diferencias significativas entre las respuestas obtenidas, pero en este caso los mayores valores (80 %) se correspondieron con la aplicación del triacontanol.

El triacontanol (TRIA) es un alcohol primario de 30 átomos de carbono (PM 438 g), que fue aislado y caracterizado por primera vez por Chibnall *et al.* (1933); sin embargo, sus propiedades como hormona del crecimiento vegetal no fueron apreciadas hasta los trabajos de Ries y Houtz (1983), los cuales plantearon que el TRIA ha inducido muchas respuestas del crecimiento en plantas con una rapidez no mostrada por ninguna otra hormona o regulador del crecimiento vegetal.

Existen trabajos contradictorios sobre el efecto del TRIA sobre la germinación de las semillas, así se ha planteado que no tiene efecto sobre la germinación o el crecimiento inicial de muchas especies después de tratadas sus

semillas (Hoagland, 1980), pero también por otra parte esta descrito su efecto estimulante para incrementar los rangos de germinación en semillas de algodón (Zerong *et al.*, 1981).

En investigaciones realizadas con el cultivo de tejidos de algunas especies tratadas con TRIA, se ha demostrado un incremento del crecimiento y peso seco de los callos debido a un incremento en la división celular (Hangarter *et al.*, 1978).

Las propiedades del TRIA como regulador del crecimiento han sido demostradas por numerosos autores (Bouwkamp y McArdle, 1980; Ries *et al.*, 1978) y actualmente se considera como un regulador del crecimiento con actividad auxínica (SIGMA, 1991).

Este estímulo en la germinación obtenido con la aplicación de TRIA nos permitió seleccionarlo para realizar un estudio del comportamiento de diferentes indicadores de la germinación y la calidad y vigor de las plántulas obtenidas después de tratar las semillas con diferentes concentraciones de esta fitohormona.

En la tabla V se muestra los resultados obtenidos con la aplicación de diferentes concentraciones de TRIA. Los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron con la aplicación de 0,1 mg/L (77,5 %), el cual difiere significativamente del resto.

TABLA V

Efecto de diferentes concentraciones de Triacontanol sobre la germinación de las semillas de cebolla cv. 'Caribe-71'. (Letras iguales no difieren significativamente entre sí $p = 0,005$).

TRIA (mg/L)	GERMINACION (%)	ALTURA (cm)	LONGITUD HIPOCOTILO	LONGITUD RADICULA	DLH / LR
0 (control)	65,5 b	5,15 ab	2,59 NS	2,56 a	1,06 b
0,001	46,5 c	6,02 a	3,35 NS	2,67 a	1,51 b
0,05	63,5 b	4,25 ab	2,72 NS	1,53 ab	2,89 a
0,1	77,5 a	4,62 ab	2,76 NS	1,86 ab	1,72 b
0,5	61,0 b	3,52 b	2,47 NS	1,05 b	3,15 a
CV	31,5%	37,1%	33,0%	51,0%	61,8%

En el caso de la altura de las plantas el tratamiento con 0,001 mg/L de TRIA mostró los mayores valores (6,02 cm) difiriendo significativamente del resto.

En cuanto a la longitud del hipocótilo de las plántulas obtenidas no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, correspondiendo los mayores valores (3,35 cm) con la aplicación de la concentración más baja de TRIA (0,001 mg/L) utilizada.

Al analizar la longitud de la radícula, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos. Los mayores valores fueron obtenidos con el control y 0,001 mg/L de TRIA (2,56 y 2,67 cm respectivamente), los cuales no difieren significativamente entre sí.

La relación LH/ LR fue significativamente superior en los tratamientos donde se aplicó TRIA a concentraciones de 0,05 y 0,5 mg/L, no existiendo diferencias significativas entre estas. La longitud del hipocótilo y la radícula están entre los factores que contribuyen al vigor de las plántulas obtenidas en estudios de germinación (Ellis *et al.*, 1995).

El efecto del Triacontanol ya ha sido descrito con anterioridad, así se ha planteado que su aplicación foliar o a las semillas, a una concentración de 0,1 mg/L, produce un incremento del 12 y 31 % respectivamente en los rendimientos en trigo (Chen *et al.*, 1980) y algodón (Sheng, 1981).

CONCLUSIONES

-La aplicación de triacontanol puede ser empleada para aumentar los porcentajes de germinación de semillas de cebolla cv. 'Caribe-71' después de un período de almacenamiento prolongado.

-Entre los tratamientos seleccionados no se encontraron diferencias en la altura de las plántulas y el porcentaje de plántulas normales.

-El triacontanol (TRIA), a una concentración de 0,1 mg/L, resultó más efectivo que el resto de los reguladores para estimular la germinación, mostrando los valores más altos de porcentaje de germinación (77,5 %) y de plántulas normales (80 %).

RECOMENDACIONES

-Analizar el comportamiento de las variables estudiadas variando las concentraciones de cada uno de los reguladores del crecimiento empleados.

-Realizar un estudio de la estabilidad genética de las plántulas obtenidas con la aplicación de las diferentes fitohormonas.

-Estudiar el efecto de estos reguladores en semillas de otras hortalizas y especies conservadas en Bancos de Germoplasma.

BIBLIOGRAFÍA

- Alexander MP and Doijode SD. 1995. Electromagnetic field, a novel tool to increase germination and seedling vigour of conserved onion (*Allium cepa* L.) and rice (*Oryza sativa* L.) seeds with low viability. Plant Genetic Resources Newsletter 104: 1- 5.
- Bouwkamp JC and McArdle RN. 1980. Effects of triacontanol on sweet potatoes. HortScience 15: 69.
- Branca F. 1995. Studies on some wild Brassicaceae species utilizable as vegetables in the Mediterranean

- areas. Plant Genetic Resources Newsletter 104: 6- 9.
- Capote A. 1993. Estudio del comportamiento *in vitro* de cultivares cubanos de cebolla (*Allium cepa* L.). Tesis presentada en Opción al grado Científico de Doctor en Ciencias Biológicas. 97 p.
- Chen MZ, Kuo CH, Dau S and Sau TL. 1980. Physiological effects of 1- triacontanol on winter wheat. Rpt. Science and Technology, PRC 12: 1- 3.
- Chibnall AC, Williams EF, Latner AL and Pipes SH. 1933. The isolation of n- triacontanol from lucerne wax. Biochem. J. 27: 1885- 1888.
- Doijode SD. 1995. Short- term conservation of mango seeds. Plant Genetic Resources Newsletter 104: 24- 25.
- Ellis RH, Hong TD and Roberts EH. 1995. Survival and vigour of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds stored at low and very-low moisture contents. Ann. Bot, 76: 521- 534.
- Gautheret RJ. 1942. Manuel technique de culture des tissus végétaux. Préface du Docteur Alexis Carrel. Masson, Paris, 170 p.
- Hangarter R, Ries SK and Carlson P. 1978. Effects of triacontanol on plant cell cultures *in vitro*. Plant Physiol. 61: 855- 857.
- Hoagland RE. 1980. Effects of triacontanol on seed germination and early growth. Bot. Gaz. 141: 53- 55.
- Khan AA. 1969. Dependence of gibberelic acid- induced dark germination of lettuce seed on RNA synthesis. Planta 72: 284- 286.
- Manual para evaluación de plántulas en análisis de germinación .1980. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. Estación de ensayo de semillas. Carretera de la Coruña, Km 7 500, Madrid- 35, 130 p.
- Mumford PM and Brett AC. 1982. Conservation of cacao seeds. Trop. Agric. 59: 306- 310.
- Ries SK, Richman TL and Wert VF. 1978. Growth and yield of crop treated with triacontanol. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 103: 361- 364.
- Ries S and Houtz R. 1983. Triacontanol as a plant growth regulator. HortScience 18(5): 654- 662.
- Sheng SG. 1981. 1- Triacontanol treatment of cotton. Chin, Agr. Tech. Comm. 4: 20.
- SIGMA. 1991. Cell Culture Catalogue, 310 p.
- Van Overbeek J. 1970. The control of plant growth. In: WH Freeman and Co. Plant Agriculture. Edit. Scientific American, San Francisco, 42 pp.
- Walters C, Kameswarw N and Hu X. 1998. Optimizing seed water content to improve longevity in *ex situ* genebanks. Seed Science Research 8(1): 15-22.
- Wu XM, Wu NF, Quian XZ, Li RG, Huang FH and Zhu L. 1998. Phenotypic and genotypic changes in rapeseed after 18 years of storage and regeneration. Seed Science Research 8(1): 55-64.
- Yamaguchi T and Nakatani M. 1983. Promotion of growth in aged tobacco seeds by pre- treatment with gibberellic acid. Ann. Bot. 51: 157- 159.
- Yamaguchi T, Wakizuka T, Okui K and Ohta E. 1982. Promotion of germination in aged rice and bean seeds *in vitro*. Proc. 5th Intl. Cong. Plant Tissue and Cell Culture. Plant Tissue Culture 785- 786.
- Zerong Z, Jingxing C, Xufeng Y, Changtao Q, Daoli D and Yonggen Q. 1981. Stimulation of highly pure 1- triacontanol on the physiological function of cotton seedlings. Scientia Agr. Sinica 2: 27- 30.

Recibido: 1 de junio de 1999.

Direcc. de los autores: Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT), Calle 1 esq. 2, Santiago de las Vegas, Boyeros. CP.17200, Ciudad de La Habana, Cuba.