

RUPTURA DEL REPOSO DE SEMILLAS DE *Petunia hybrida* CON TRATAMIENTOS DE ACIDO GIBERELICO Y ESTRATIFICACION ¹

Pablo González *
Enrique Villalobos **

ABSTRACT

Breaking seed dormancy in *Petunia hybrida* with gibberellic acid and pre-chilling treatments. The effectiveness of four AG₃ and five pre-chilling treatments in breaking seed dormancy in four cultivars of *Petunia hybrida* was evaluated, using ISTA procedures. The higher percentage of normal seedlings and the lower of abnormal seedlings were produced by treatments of 150 µg/ml of AG₃ and 15 days of pre-chilling at 0 to 5°C (a < 0,05). The AG₃ induced a larger number of abnormal seedlings than the pre-chilling treatments.

INTRODUCCION

La petunia (*Petunia hybrida*) es una especie ornamental de gran importancia económica. En los Estados Unidos esta especie ocupa el primer lugar en ventas de ornamentales para la decoración de exteriores (Sink, 1984). Para Costa Rica, la venta de semilla de petunia representa una fuente importante de divisas, ya que ésta es una de las principales especies de exportación de la Compañía Linda Vista S.A., reconocida empresa nacional en esta línea.

Las variedades comerciales de petunia se reúnen en dos grupos: a) Multiflora que produce flores cuyo diámetro oscila entre 5 y 8 cm; y b) Grandiflora, que produce flores con bordes irregulares que en algunos casos alcanzan, hasta 12 cm de diámetro (Nehrling, 1977).

El reposo que típicamente exhibe la semilla de petunia obliga a un período prolongado de alma-

namiento para alcanzar una germinación alta y uniforme. Se conoce relativamente poco de las causas del reposo en esta especie. Algunos autores (Jassey *et al.*, 1977, 1979) han llegado a la conclusión de que la germinación de la petunia está controlada por una compleja interacción en la que participan el embrión, el endosperma y la cubierta seminal. Jassey y Monin (1980) propusieron que el efecto promotor de la germinación que ejerce la cubierta de la semilla de petunia, una vez sobrepasado el período de reposo, podría deberse a la acción de una o más sustancias provenientes de la cubierta seminal. En presencia de algún tratamiento interruptor del reposo la producción de esas sustancias aumenta. Posteriormente, Jassey *et al.* (1982) encontraron que la semilla de una línea de petunia carente de reposo, contenía una diversidad de compuestos fenólicos y una concentración de fenilamidas neutras mayor que una línea con reposo, por lo que consideraron factible que estas sustancias promuevan la germinación en esta especie.

Knowlton y Sink (1975) encontraron pruebas de una interacción genotípica en la germinación de la semilla de petunia. La máxima germinación se observó en un genotipo heterocigota, mientras que en el progenitor homocigota recesivo (Multiflora) y en el progenitor homocigota dominante (Grandiflora), la germinación apenas alcanzó 78,4 y 46,9% de la germinación de la semilla híbrida, respectivamente.

1/ Recibido para publicación el 4 de marzo de 1987.

* Estación Experimental Fabio Baudrit Moreno, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. Alajuela, Costa Rica.

** CIGRAS, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

Algunos investigadores han llegado a la conclusión que el estado de reposo de la semilla de petunia puede interrumpirse con tratamientos de luz roja y que éstos pueden reemplazarse por la aplicación de ácido giberélico (Cathey, 1984; Jassey *et al.*, 1977; Ogawara y Ono, 1958). El papel del ácido giberélico (AG_3) en la interrupción del reposo de las semillas de varias especies es bien conocido (Mayer y Poljakoff-Mayber, 1963; Salisbury y Ross, 1978; Bewley y Black, 1982). Asimismo, la estratificación simula un cambio estacional de temperatura, ya que este procedimiento consiste en la exposición inicial de las semillas a una temperatura baja seguida de una temperatura adecuada para la germinación (Mayer y Poljakoff-Mayber, 1963). Este tratamiento promueve la disminución en la concentración de inhibidores y un aumento en la concentración endógena de "hormonas" que conllevan a la germinación (Bewley y Black, 1982).

En esta investigación se evaluó el efecto de varias dosis de AG_3 y de algunos tratamientos de estratificación (preenfriamiento) en la germinación y en la altura de las plántulas de cuatro cultivares de petunia. A su vez, se pretendió determinar alguna eventual interacción de los tratamientos inductores de la germinación con los cultivares de petunia.

MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se realizó en el laboratorio del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica.

Se usó semilla en estado de reposo de cuatro cultivares de petunia. Estas semillas fueron cosechadas entre cuatro y seis semanas antes de ser utilizadas en este estudio. Dos cultivares, 'Azure Sails' y 'Sugar Daddy' son híbridos cuyo progenitor masculino es del tipo Grandiflora y el femenino Multiflora. Los cultivares 'Red Cascade' y 'Blush Cascade' también son híbridos cuyo progenitor masculino es Multiflora y el femenino Grandiflora. La semilla se mantuvo a una temperatura de 18°C y a una humedad relativa de 20 a 22%, antes de la aplicación de los tratamientos.

Se usaron cinco tratamientos de ácido giberélico: 0, 50, 100, 150 y 200 $\mu\text{g/ml}$. Cada tratamiento se aplicó saturando el papel de germinación con la solución de ácido giberélico correspondiente. Los tratamientos de estratificación consistieron en colocar las semillas en bandejas con papel humede-

cido con agua destilada en una cámara con temperatura controlada (entre 0 y 5° C), por periodos de 0, 5, 10, 15, 20 y 25 días. Una vez aplicados los tratamientos las bandejas se trasladaron a una cámara de germinación por un período de 10 días. La temperatura de la cámara de germinación se mantuvo en condiciones alternas de 20° C por 16 h y a 30° C por 8 h, con 12 h a la luz y 12 h en oscuridad.

Por razones de orden práctico los tratamientos de ácido giberélico y de estratificación se analizaron en forma independiente. En ambos casos se usó un arreglo de parcelas divididas en un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. En cada repetición se usaron 100 semillas. Las parcelas grandes correspondieron a los tratamientos de ácido giberélico o estratificación. Las subparcelas correspondieron a los cultivares. Las pruebas de comparación de medias de tratamientos se hicieron mediante las pruebas de contrastes ortogonales. Se usó la prueba de "t" de Student para comparar los resultados de los dos experimentos. En ambos experimentos se evaluó el porcentaje de plántulas normales (% de germinación), el porcentaje de plántulas anormales; el porcentaje de semillas no germinadas y enfermas y la altura promedio de las plántulas. La evaluación de las variables se hizo de acuerdo con los procedimientos del ISTA (International Seed Testing Association, 1966).

RESULTADOS Y DISCUSION

El efecto positivo de los tratamientos con ácido giberélico o estratificación en la ruptura del reposo de semillas de *Petunia hybrida* se observa en los Cuadros 1 y 2. Otras investigaciones (Ogawara y Cao, 1958; Jassey *et al.*, 1977; Cathey, 1984) han demostrado que el ácido giberélico puede sustituir los requerimientos climáticos necesarios para inducir la germinación en esta especie.

Es necesario advertir que desde el punto de vista fisiológico, la eficacia de los tratamientos se visualiza al sumar el porcentaje de plántulas normales y anormales, pues así se obtiene el porcentaje total de semillas germinadas. Desde el punto de vista práctico, la valoración de los tratamientos con base en el número de plántulas normales que éste produzca siguiendo las indicaciones del ISTA 1966, es obviamente preferible al número total de semillas germinadas. El porcentaje de semillas no germinadas se omitió ya que este valor puede obte-

Cuadro 1. Porcentaje de plántulas normales, anormales y altura de la plántula de cuatro cultivares de *Petunia hybrida*, en respuesta a la aplicación de ácido giberélico (AG₃).

Dosis AG ₃ (µg/ml)	Cultivar	Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	Altura de plántulas (cm)
0	RC	46,9	27,2	1,09
	SD	70,1	18,3	1,03
	AS	30,9	18,8	1,02
	BC	39,5	7,9	1,04
	\bar{X}	46,8 a	18,1 a	1,05 a
50	RC	47,0	33,6	0,93
	SD	59,6	20,6	0,87
	AS	26,8	39,9	0,54
	BC	34,9	26,2	1,11
	\bar{X}	42,1 a	30,0 b	0,86 a
100	RC	52,9	36,8	1,10
	SD	59,8	27,0	1,12
	AS	50,0	44,7	1,21
	BC	84,9	5,7	1,13
	\bar{X}	61,9 b	28,6 a	1,14 c
150	RC	77,7	9,1	1,16
	SD	65,8	23,9	1,70
	AS	50,8	29,3	1,27
	BC	91,1	3,4	1,23
	\bar{X}	71,3 c	16,4 a	1,18 c
200	RC	65,4	23,0	1,09
	SD	64,4	18,7	1,07
	AS	27,0	44,3	0,82
	BC	86,4	7,7	1,10
	\bar{X}	60,8 b	23,4	1,02 b
Dosis AG ₃		**	*	**
Cultivar		**	**	**
Cultivar x Dosis AG ₃		**	**	**

* $\alpha < 0,05$; ** $\alpha < 0,01$;

RC = 'Red Cascade'; SD = 'Sugar Daddy'; AS = 'Azure Sails'; BC = 'Blush Cascade'.

Las letras distintas en cada columna señalan las diferencias ($\alpha < 0,05$) entre las medias de tratamientos de AG₃ para cada variable.

nerse al restar de 100 los porcentajes de plántulas normales y anormales. El porcentaje de semillas enfermas fue insignificante y se incluyó dentro del porcentaje de semillas no germinadas.

El aspecto genético y el porcentaje de germinación inicial variable (Cuadros 1 y 2) dificultan la interpretación de la interacción cultivar x tratamiento de ruptura de reposo que se detectó en los dos ex-

Cuadro 2. Porcentaje de plántulas normales, anormales y altura de la plántula de cuatro cultivares de *Pe-
tunia híbrida*, en respuesta a diferentes tratamientos de estratificación.

Tratamiento de estratificación (días)	Cultivar	Porcentaje		Altura de plántulas (cm)
		Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	
0	RC	46,9	27,2	1,09
	SD	70,1	18,3	1,03
	AS	30,9	18,8	1,02
	BC	39,5	7,9	1,04
	\bar{X}	46,8 a	18,1 a	1,05b
5	RC	62,0	27,8	1,08
	SD	62,9	17,3	0,91
	AS	32,2	25,2	1,05
	BC	74,7	8,0	0,74
	\bar{X}	57,9 b	19,6c	0,95 b
10	RC	64,3	21,5	0,83
	SD	69,8	17,2	0,87
	AS	42,9	12,8	1,06
	BC	89,0	4,5	0,71
	\bar{X}	66,5 c	14,0 a	0,87 a
15	RC	64,0	13,0	0,82
	SD	82,7	11,3	0,91
	AS	57,7	16,6	1,17
	BC	87,6	6,6	0,73
	\bar{X}	73,0 d	11,9 a	0,91 a
20	RC	61,3	27,1	0,80
	SD	66,8	17,7	0,93
	AS	42,9	24,7	1,45
	BC	82,8	6,7	0,89
	\bar{X}	63,5 c	19,1 bc	1,02 c
25	RC	64,5	17,9	0,86
	SD	58,5	15,8	0,97
	AS	46,8	18,4	1,13
	BC	76,9	7,5	0,93
	\bar{X}	61,5 c	14,9 ab	0,97 b
Período de estratificación (E)		**	**	**
Cultivares (C)		**	n.s.	**
C x E		**	n.s.	**

** $\alpha < 0,01$; n.s. = $\alpha > 0,05$.

RC= 'Red Cascade'; SD = 'Sugar Daddy'; AS = 'Azure Sails'; BC = 'Blush Cascade'.

Las letras distintas en las columnas de cada variable señalan las diferencias ($\alpha < 0,05$) entre medias de tratamientos de estratificación.

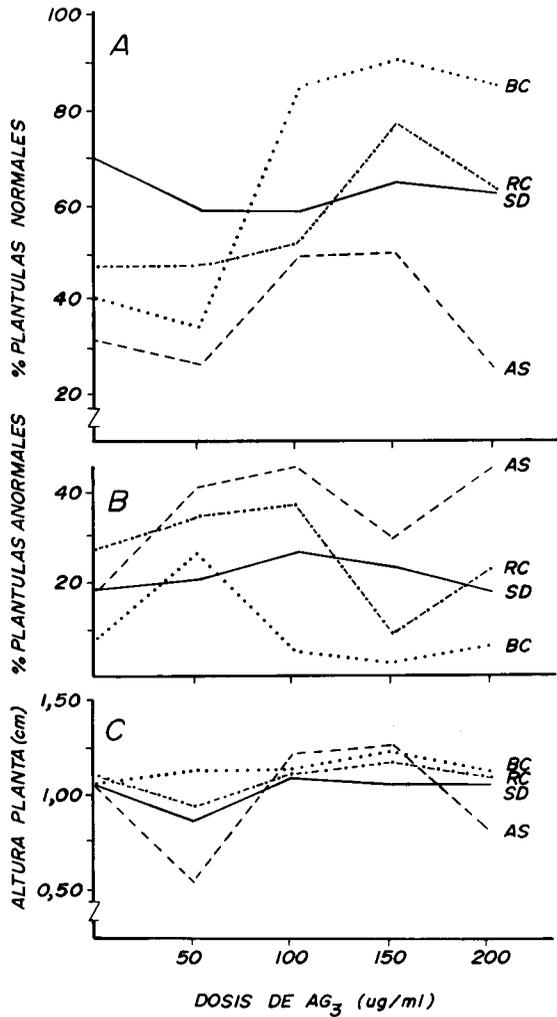


Fig. 1 Interacción de la dosis de AG_3 por cultivar de *Petunia híbrida* en el porcentaje de plántulas normales (A) y anormales (B) y en la altura de la plántula (C). RC= 'Red Cascade'; SD= 'Sugar Daddy'; AS= 'Azure Sails'; BC= 'Blush Cascade'

perimentos (Figuras 1 y 2). Es evidente que el cultivar 'Sugar Daddy' que mostró un porcentaje de germinación inicial de 88,4% (70,1 y 18,3% de plántulas normales y anormales, respectivamente) estaba sobrepasando el período natural de reposo. Consecuentemente, con excepción del tratamiento de 15 días de estratificación, ningún otro tratamiento logró superar el porcentaje inicial de plántulas normales producido por las semillas no tratadas de este

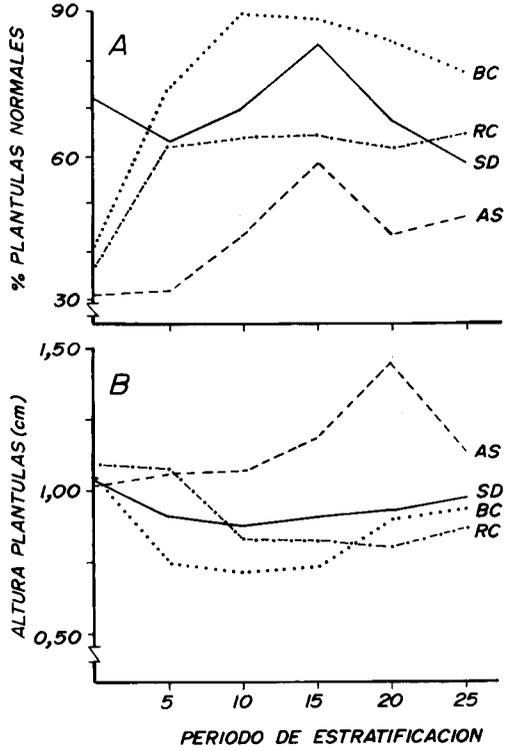


Fig. 2 Interacción del período de estratificación por cultivar de *Petunia híbrida* en el porcentaje de plántulas normales (A) y en la altura de las plántulas (B). RC= 'Red Cascade'; SD= 'Sugar Daddy'; AS= 'Azure Sails'; BC= 'Blush Cascade'

cultivar. En los demás cultivares (Figura 1), el tratamiento de la semilla con una dosis de 150 µg/ml de AG_3 produjo el mayor número de plántulas normales y el menor número de plántulas anormales ($\alpha < 0,05$), como se consigna en el Cuadro 1. La dosis de 150 y 200 µg/ml de AG_3 indujeron la mayor altura de las plántulas (Cuadro 1), debido al efecto de esta hormona en la elongación celular (Salisbury y Ross, 1978). En forma inesperada, la dosis de 50 µg/ml de AG_3 causó una disminución en la altura de las plántulas. Aparentemente, esta dosis fue lo suficientemente alta para inducir la germinación, pero no para estimular el desarrollo armónico de las plántulas.

El tratamiento de 15 días de estratificación originó el mayor porcentaje de plántulas normales ($\alpha < 0,05$) como se presenta en el Cuadro 2. Los tratamientos de preenfriamiento por más de 15 días

Cuadro 3. Comparación de la respuesta de la semilla de *Petunia híbrida* a los tratamientos de AG₃ y de estratificación mediante la prueba de "t" de Student.

Variable	Tratamiento		"t" Student
	AG ₃	Estratificación	
Altura de plántulas (cm)	1,05	0,96	2,90*
Plántulas normales (%)	56,58	61,57	1,54
Plántulas anormales (%)	23,27	16,16	3,64*

* ± 0,05

causaron una reducción en el número de plántulas normales, debido al deterioro de la semilla (10 y 7,3% de semillas muertas en los tratamientos de 20 y 25 días de preenfriamiento, respectivamente). Contrario a lo que ocurrió con los tratamientos de AG₃, los tratamientos de preenfriamiento tendieron a reducir el tamaño de las plántulas. El cultivar 'Azure Sails' fue una excepción, ya que con el tratamiento de 20 días de estratificación alcanzó una altura de plántula superior aún a aquella inducida por los tratamientos de AG₃ (Figura 2B). Sin embargo, el efecto del AG₃ y del preenfriamiento sobre la altura de las plántulas en ningún momento llegó a causar un debilitamiento notorio de los tallos en forma anormal o contraproducente para el establecimiento eventual de las plántulas en el campo.

Las diferencias entre los tratamientos de AG₃ y de estratificación solo fueron confirmados estadísticamente para la altura de las plántulas y el porcentaje de plántulas anormales (Cuadro 3). La similitud relativamente alta en la respuesta a ambos tipos de tratamientos no es sorprendente, ya que el preenfriamiento origina un aumento en el nivel endógeno de AG₃ que predispone a la semilla a germinar bajo condiciones favorables. Las aplicaciones de AG₃, sustituyen los requerimientos naturales de frío al penetrar las semillas (Salisbury y Ross, 1978).

El menor porcentaje de plántulas anormales causado por los tratamientos de preenfriamiento es la principal ventaja de este procedimiento sobre el AG₃. Además del menor riesgo, este procedimiento no es sofisticado ni costoso.

Aprovechando un remanente de semilla de tres cultivares, se confirmó la eficacia del tratamien-

to de 15 días de estratificación en condiciones de invernadero de la Compañía Linda Vista S. A. El porcentaje de emergencia (que naturalmente es menor que el porcentaje de germinación en condiciones controladas) osciló entre 68 y 73%, lo cual apoya la sugerencia de este procedimiento para uso comercial.

RESUMEN

Se estudió la eficacia de cuatro dosis de ácido giberélico y de cinco tratamientos de estratificación (preenfriamiento) en la ruptura del reposo de semillas de cuatro cultivares de *Petunia híbrida*, siguiendo los procedimientos del ISTA (International Seed Testing Association).

En promedio, los mayores porcentajes de plántulas normales y los menores de plántulas anormales se obtuvieron con los tratamientos de 150 µg/ml de AG₃ y 15 días de preenfriamiento a 0 - 5° C ($\alpha < 0,05$).

Los tratamientos de AG₃ produjeron un mayor número de plántulas anormales que los tratamientos de estratificación.

LITERATURA CITADA

- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. 1982. Physiology and biochemistry of seeds. In Relation to germination. Berlín, Alemania. Springer-Verlag. v. 2, 339 p.
- CATHEY, B.M. 1984. Seed physiology. In *Petunia*. Ed. by K.C. Sink, Berlín, Alemania, Springer-Verlang. p. 203-207.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 1966. International rules for seed testing. Proceedings of the International Seed Testing Association. 31(1). 152 p.
- JASSEY, Y.; MONIN, J. 1980. Etude de la germination des semences de *Petunia*: existence de correlations chimiques entre les teguments et l'embryon entouré de l'albumen. *Physiologie Vegetale* 18(4):617-630.
- JASSEY, Y., et al. 1977. Analyse préliminaire de la diversité des états dormants des graines dans quelques lignées de *Petunia*. *Comptes Rendus de L'Académie des Sciences. Serie D* 284:1797-180.
- JASSEY, Y., et al. 1979. Etude préliminaire des possibilités de germination chez les semences de *Petunia*. *Physiologie Vegetale* 17(1):27-43.
- JASSEY, Y., TANGUY, M.; MONIN, J. 1982. Comparaison de la teneur en phenolamides des graines dormantes ou

non dormantes de deux lignees de *Petunia*. *Physiologie Vegetale* 20(4):641-650.

KNOWLTON, L.L.; SINK, K.C. 1975. Influence of the multi-flora-grandiflora genotypes of *Petunia* on seed germination seedling growth, and elemental foliar composition. *Journal of the American Society of Horticultural Science* 100 (5):509-512.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. 1963. The germination of seeds. New York, Pergamon Press. 192 p.

NEHRLING, A. 1977. The picture book of annuals. New York, Arco Publishing. p. 102-107.

SALISBURY, F.; ROSS, C.W. 1978. *Plant physiology*. Belmont, California. Wadsworth Publishing. 422 p.

OGAWARA, K.; ONO, K. 1958. Effects of light on the germination of *Petunia hybrida* seed. *Journal Horticultural Association Japan*. 27:276-281.

SINK, K.C. 1984. Taxonomy. Anatomy and morphology. *In Petunia*. Ed. by K.C. Sink, Berlin. Alemania, Springer-Verlag. p. 3-20.