

Evaluación en el laboratorio de la germinación y el vigor en semilla de china sultani (*Impatiens wallerana*) sometida a envejecimiento acelerado

Jorge Herrera*
Adina Li*
Juan C. Cerdas**

Resumen

Se separaron semillas F₁ de los híbridos comerciales Super Elfin White y Dazzler Violet de china sultani (*Impatiens wallerana*) de acuerdo con su tamaño en cuatro y tres grupos respectivamente. Se usaron tamices de entre 1 y 2 mm de diámetro. Las semillas se sometieron a un tratamiento de envejecimiento acelerado a 35°C y 100% de humedad relativa por períodos de 0, 24, 48 y 72 horas. Posteriormente se almacenaron en una incubadora a 20°C por 5 y 21 días. Las pruebas de germinación se realizaron en una cámara a 30°C y 98% de humedad relativa. Las evaluaciones se hicieron 3, 7 y 14 días después de los tratamientos. Los resultados mostraron que aun bajo condiciones de laboratorio, en SEW los porcentajes más altos y las plantas más vigorosas se obtuvieron con la semilla de mayor tamaño.

No se encontró respuesta en la germinación de la semilla envejecida de DV, pero las plántulas fueron significativamente más pequeñas y de menor peso. También se detectó que existe una relación directa entre el período de envejecimiento acelerado y la germinabilidad, ya que los valores se redujeron conforme se aumentó el período de exposición. Ambos híbridos respondieron en forma similar al período de almacenamiento, los valores menores se obtuvieron con el mayor período de 21 días. Sin embargo, la interacción entre el envejecimiento acelerado y el período de almacenamiento mostró que la semilla envejecida de SEW es más sensible al almacenamiento que DV.

Introducción

Las compañías productoras de semillas realizan pruebas que determinan la calidad de los lotes antes de su venta. Normalmente, estas evaluaciones se

* Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

** Compañía Linda Vista Ltda., Dulce Nombre, Cartago, Costa Rica.

llevan a cabo siguiendo las reglas para análisis de semillas de la International Seed Testing Association (ISTA, 1976) y de la Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1983), que se han encargado de desarrollar metodologías para los análisis de laboratorio en muchas especies de interés agrícola. Sin embargo, en muchas ocasiones los criterios comerciales de normalidad de las plántulas difieren de los parámetros establecidos por dichas organizaciones.

Comúnmente, la evaluación de la calidad se circunscribe a pruebas de germinación (*Manual para evaluación de plántulas*, 1980), sin embargo, debido al interés de las compañías, durante los últimos años se han desarrollado metodologías para complementar dichas pruebas con evaluaciones del vigor de la semilla, ya que es esta variable la que permite diagnosticar la velocidad de establecimiento de la plantación. El concepto de vigor se ha discutido frecuentemente y existen varias definiciones, aunque la mayoría de las mismas consideran que se debe asociar con la capacidad de la plántula para soportar ambientes desfavorables (*Seed Vigor Testing Handbook*, 1983). Debido a esto, si dos lotes de semilla con diferente grado de vigor presentan porcentajes similares de germinación, no se observarán grandes diferencias en el desarrollo de ambas plantaciones, mientras las condiciones ambientales sean favorables (AOSA, 1983).

Son muchos los factores que determinan el vigor de la semilla, aunque los principales son: 1) constitución genética, 2) ambiente y nutrición de la planta madre, 3) estado de madurez a la cosecha, 4) tamaño, peso o gravedad específica, 5) integridad mecánica, 6) deterioro y envejecimiento y 7) la presencia de organismos patógenos.

Las pruebas de vigor pueden ser direc-

tas o indirectas. Las directas son aquellas en que las condiciones desfavorables esperadas en el campo se reproducen en el laboratorio y se evalúan los porcentajes y las tasas de emergencia de las plántulas (prueba en frío, envejecimiento acelerado). En las indirectas se evalúan características de las semillas que, se ha probado, están correlacionadas con el comportamiento en el campo (respiración, pruebas de conductividad).

La semilla de esta especie, por ser de tamaño pequeño, es muy fácilmente afectada por ambientes desfavorables, ya que las estructuras de almacenamiento no sirven de amortiguador a condiciones tales como alta temperatura o alta humedad relativa.

La utilización de pruebas de envejecimiento acelerado, en las cuales las semillas se someten por períodos cortos a condiciones desfavorables, tales como 40-45°C de temperatura y cerca de 100% de humedad relativa, permiten determinar, en algunas especies como el maíz y el algodón, el vigor de la semilla y la sensibilidad al deterioro (Delouche, 1981; Egli, D.B., 1994). Esta prueba se basa en que las semillas más vigorosas toleran mejor las condiciones adversas y que por lo tanto tienen una mayor capacidad de producir plántulas normales en la prueba de germinación (AOSA, 1983).

El efecto de someter la semilla a una condición tan desfavorable permitiría determinar la capacidad de respuesta de diferentes genotipos a condiciones ambientales difíciles. Asimismo, la evaluación en el laboratorio permite cuantificar el vigor de la semilla con un alto grado de exactitud, que no existe en condiciones de invernadero, ya que la exposición al ambiente puede enmascarar el estado fisiológico. Sin embargo, este tipo de trabajos también

pueden suponer un inconveniente, ya que como lo demostraron Herrera y Alizaga (1996), las necesidades de temperatura en esta especie difieren con la variedad en un amplio ámbito, por lo que algunos genotipos pueden resultar más favorecidos que otros.

El objetivo de este trabajo fue evaluar en el laboratorio el efecto de diferentes períodos de envejecimiento acelerado y de lapsos cortos de almacenamiento sobre la calidad de semilla de china (*Impatiens wallerana*) separada en diferentes tamaños.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en las instalaciones del Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica. Se utilizó semilla de los híbridos comerciales (F₁) Super Elfin White (SEW) y Dazzler Violet (DV) de la empresa Linda Vista S.A. Una vez seca y limpia se separó en diferentes tamaños. La variedad SEW se separó en cuatro tamaños (A, B, C y D de menor a mayor), mientras que la variedad DV se separó en tres tamaños (X, Y y Z de menor a mayor), utilizando tamices con diámetros comprendidos entre 1 y 2 mm. La magnitud de las semillas es particular de cada lote, ya que algunos de ellos presentan mayor uniformidad que otros, aun dentro de un mismo híbrido, por lo que se juzgó conveniente no indicar medidas exactas que puedan asociar una calidad determinada con un tamaño específico de la semilla.

La semilla se sometió a cuatro períodos de envejecimiento acelerado: 0, 24, 48 y 72 horas a 35°C y 100% de humedad relativa. Luego se almacenó por 5 y 21 días en una incubadora a 20°C. Para su almacenamiento, la semilla se colocó en bolsitas de tela, las cuales a su vez se introdujeron en

bolsas de polietileno de 0,04 mm de espesor.

Para evaluar la viabilidad y el vigor, la semilla se colocó sobre papel de germinación Anchor y se introdujo en una cámara de germinación a 30°C y 98% de humedad relativa. Se evaluó el porcentaje de germinación a los 3, 7 y 14 días, la longitud y el peso de las plántulas a los siete días.

Se utilizaron cuatro repeticiones de 100 semillas para cada tratamiento. Los datos se analizaron como un diseño irrestricto al azar con un arreglo factorial 4x4x2 en el caso de SEW y un 4x3x2 con DV. La separación de medias se hizo por medio de la prueba de Tukey.

Resultados

Se encontraron diferencias significativas ($\alpha > 0,01$) debidas al tamaño de la semilla (Figura 1). La variedad SEW mostró un desarrollo más rápido de la germinación que la variedad DV y valores finales mayores. En SEW la evaluación tres días después de iniciada la prueba mostró que la semilla de menor tamaño (tamiz A), germinó en menor proporción que la de otros tamaños, entre los cuales no hubo diferencias significativas. En la segunda evaluación, a los siete días, las diferencias se incrementaron, ya que si bien la semilla de menor tamaño de nuevo tuvo la menor germinación, la de tamaño B ocupó una posición intermedia significativamente diferente de los tamaños mayores, entre las que no hubo diferencias. Finalmente, a los 14 días el porcentaje más alto de germinación se obtuvo con la semilla de tamaño D, que fue estadísticamente diferente de todas las demás, aunque no hubo diferencias entre los tamaños A y B o B y C. En el híbrido DV los resultados fueron menos marcados, ya que no se

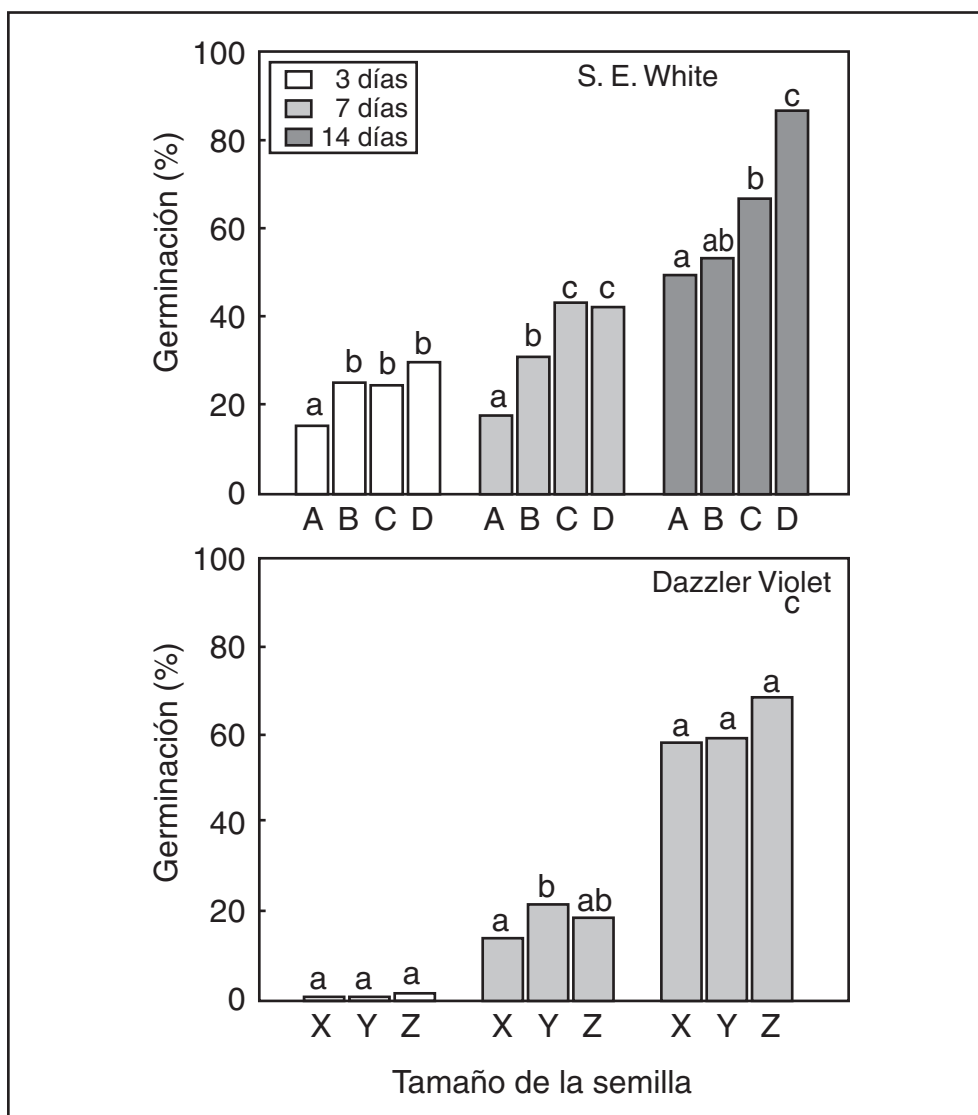


Fig. 1

Efecto del tamaño de la semilla sobre el porcentaje de germinación en dos híbridos de china, 3, 7 y 14 días después de iniciada la prueba.

encontraron diferencias significativas en la primera ni en la última evaluación, tan sólo en la segunda hubo diferencias significativas entre los tamices de X y Y, aunque ninguno resultó diferente de Z.

El tiempo de envejecimiento acelerado resultó ser un factor importante sobre la viabilidad de las semillas (Figura 2). En ambas variedades, conforme se incrementó el tiempo de exposición, disminuyó el número de semillas germinadas.

En SEW, tres días después de iniciada la germinación, la semilla sometida a 72 horas de envejecimiento acelerado aún no había germinado, mientras que la de 48 horas había alcanzado únicamente el 6% de semillas germinadas. Los mayores valores y estadísticamente diferentes ($\alpha > 0,01$) a los anteriores fueron los tratamientos de 0 y 24 horas de envejecimiento. La misma tendencia se observó en las siguientes dos evaluaciones. En DV, tres días después de iniciada la prueba no

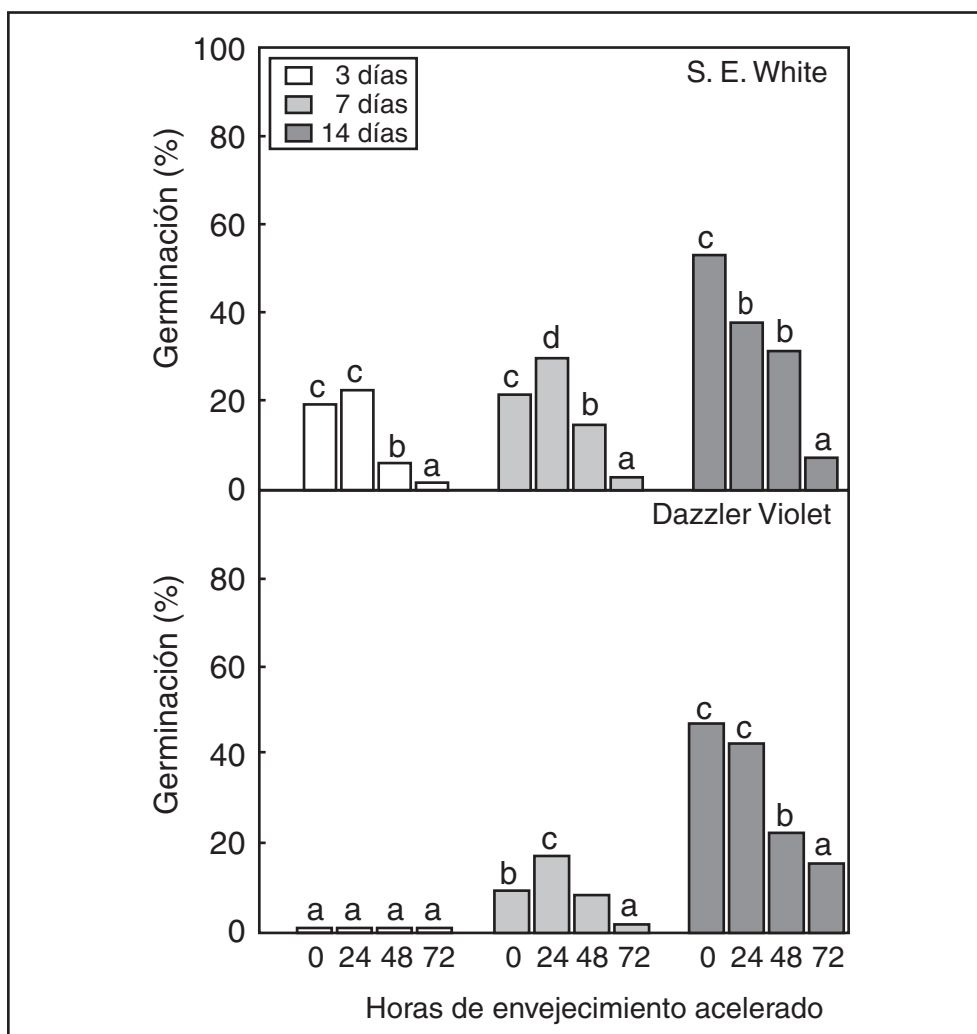


Fig. 2

Efecto del tiempo de envejecimiento acelerado en dos híbridos de china, 3, 7 y 14 días después de iniciada la prueba de germinación.

había germinado ninguno de los tratamientos, después de 14 días, el testigo y el tratamiento de 24 horas de envejecimiento mostraron los mayores valores de germinación ($\alpha > 0,01$), significativamente diferentes de los obtenidos con 48 y 72 horas, entre los cuales hubo diferencias significativas.

La germinación de las semillas disminuyó significativamente ($\alpha > 0,01$) conforme aumentó el tiempo de almacenamiento en ambas variedades (Figura 3), aunque la velocidad de germinación fue menor en DV.

La altura y el peso seco de las plántulas de utilizaron como criterio del vigor de la semilla (Figura 4) y se encontró que ambas variables fueron significativamente afectadas por el tamaño de la semilla ($\alpha > 0,01$). El híbrido DV disminuyó drásticamente su tamaño y su peso conforme se redujo el tamaño de la semilla, obteniéndose plantas significativamente mayores y más pesadas con la semilla de mayor volumen (tamiz Z). Por su parte, en la variedad SEW, tanto la altura como el peso fueron mayores con la semilla de

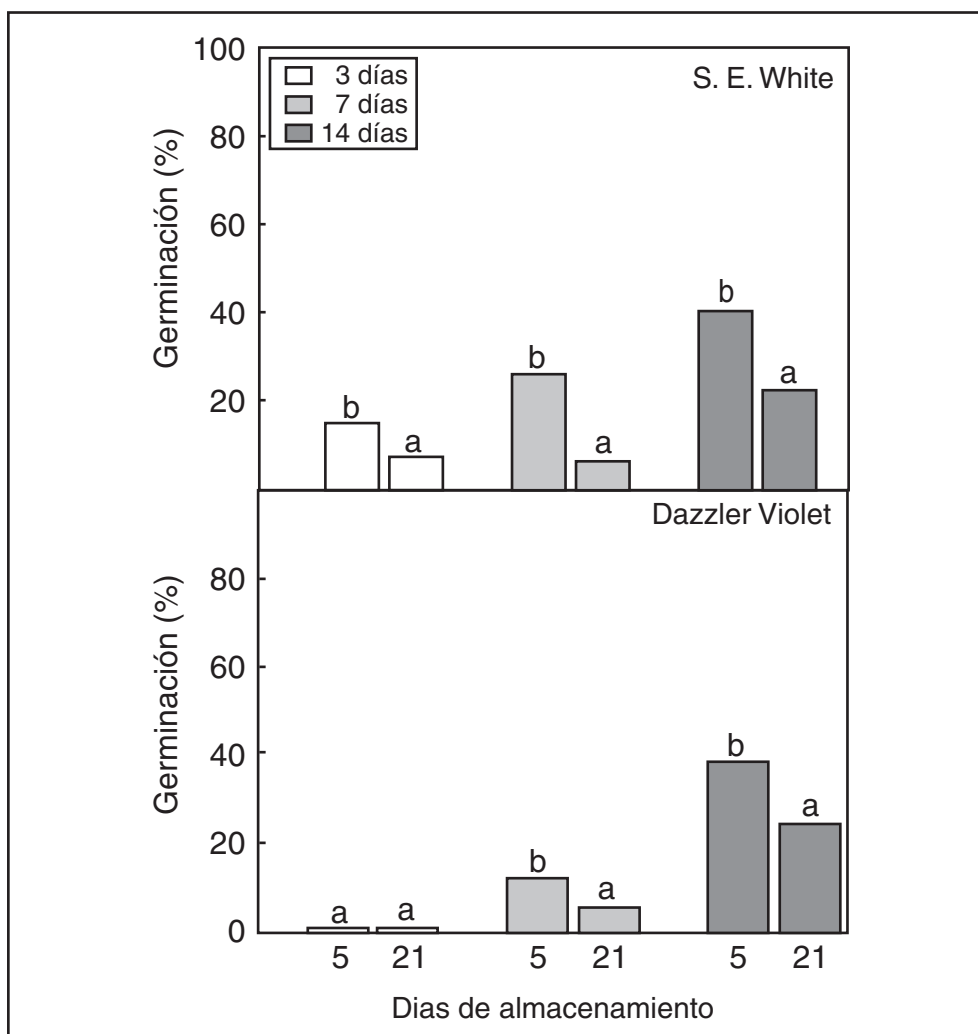


Fig. 3

Efecto de dos períodos de almacenamiento sobre la germinación en dos híbridos de china, 3, 7 y 14 días después de iniciada la prueba

mayor tamaño (tamices C y D), significativamente menores fueron los valores obtenidos con el tamiz A, mientras que la semilla de tamaño B obtuvo valores intermedios y significativamente diferentes.

De particular interés resultó la interacción entre los tratamientos de envejecimiento acelerado y los períodos de almacenamiento ($\alpha > 0,01$). En el híbrido SEW hubo una drástica disminución de la germinación conforme aumentó el tiempo de almacenamiento

(Figura 5). En DV, la germinación también se redujo conforme aumentó el tiempo del almacenamiento, pero la disminución fue menos pronunciada.

Discusión

Efecto del tamaño de la semilla

La semilla necesita energía para su germinación. Después de la absorción de agua, muchas cadenas largas de macromoléculas se hidrolizan a for-

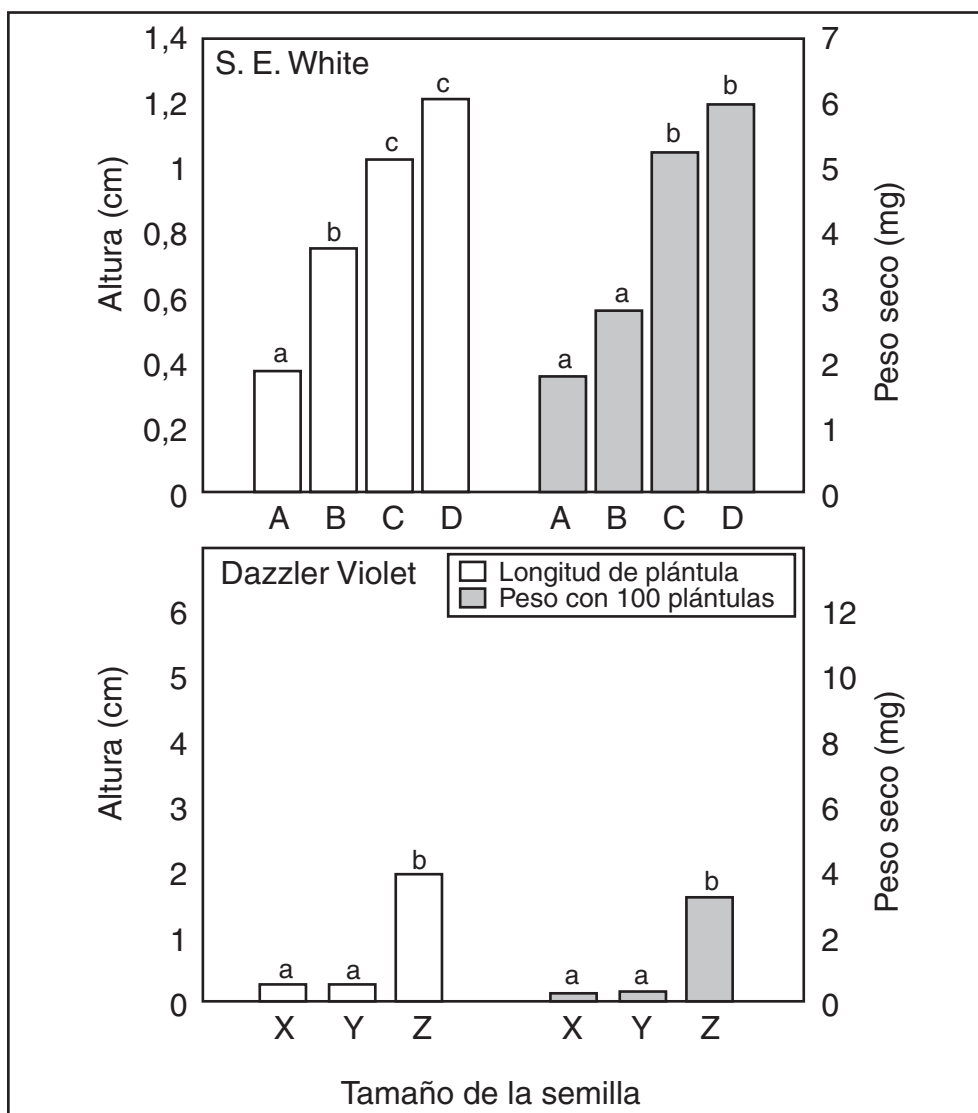


Fig. 4
Efecto del tamaño de la semilla sobre la altura y el peso seco en dos híbridos de china, 14 días después de iniciada la prueba

mas más sencillas, se traslocan e incorporan a los procesos bioquímicos productores de energía. El peso de los cotiledones disminuye a través del proceso de germinación conforme los compuestos son hidrolizados y trasladados inicialmente al hipocótilo y posteriormente a la radícula y al epicótilo (McDonald, 1994). Lo anterior es una indicación del importante efecto que tiene el tamaño de la semilla en relación con el vigor, por cuanto una semi-

lla de mayor tamaño representa un mayor acúmulo de sustancias de reserva, las cuales resultan fundamentales, especialmente cuando las condiciones ambientales durante la germinación no resultan favorables.

En este experimento se demostró que el tamaño de la semilla tiene un fuerte efecto sobre la germinación en china, de lo cual se deduce que para el consumidor resulta favorable la adquisición de semillas de mayor tamaño; sin em-

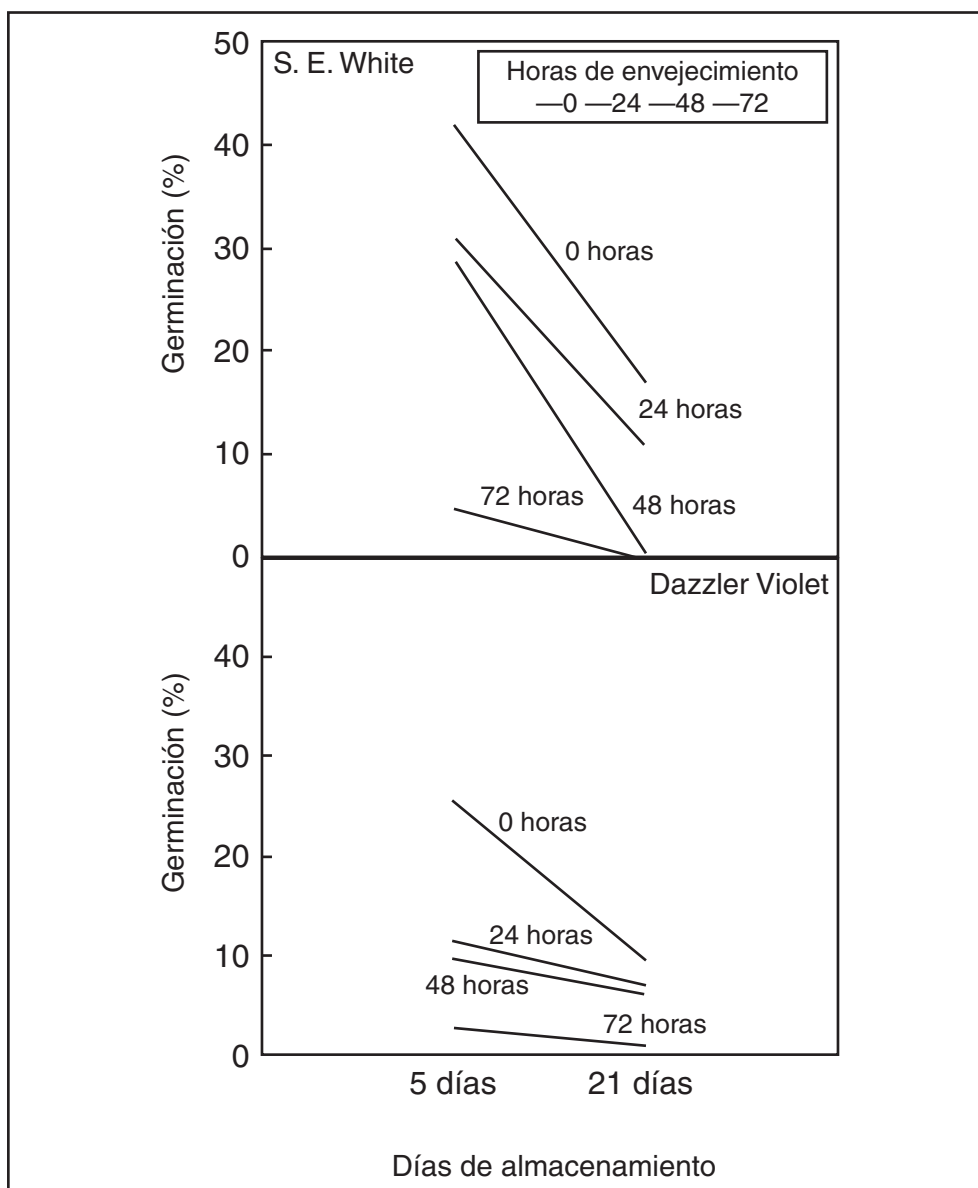


Fig. 5

Interacción entre el tamaño de la semilla y el período de almacenamiento sobre el porcentaje de plántulas normales en dos híbridos de china.

bargo, esto no es fácil de conseguir, ya que hay una gran falta de uniformidad entre lotes y aun dentro de ellos, debido a la dependencia de la semilla de las condiciones ambientales durante el desarrollo y a su posición en la planta (Dornbos *et al.*, 1989).

A pesar de que las plántulas se mantuvieron durante el período de germinación bajo condiciones controladas de

luz, temperatura, humedad y sustrato, hubo un fuerte efecto en la altura y el peso seco debido al tamaño de las semillas, lo cual posiblemente sería más notorio bajo condiciones ambientales naturales. Sin embargo, los resultados difirieron de los del primer experimento (Li *et al.*, 1997) por cuanto en dicho trabajo los porcentajes de germinación fueron mayores en DV que en SEW. Un aspecto que se debe resaltar es que

los materiales genéticos tuvieron una respuesta diferencial; así, el híbrido SEW mostró diferencias mayores en esas variables que DV. Restaurar el vigor de la semilla ha sido un punto de gran interés; sin embargo, el único sistema que hasta la fecha ha dado algún resultado ha sido la inmersión de la semilla en sustancias con presión osmótica controlada, para inducir una germinación lenta al limitar la hidratación, de manera que los procesos de reparación se activen y los daños de la semilla se vean disminuidos una vez que la germinación se inicie (Bewley y Black, 1994).

En términos generales, el tamaño de la semilla y la uniformidad de los lotes debe ser un criterio por considerar al realizar una prueba de germinación en semilla de china, ya que, como se observó, los valores se ven fuertemente afectados por estas variables. Asimismo, los criterios de normalidad deben ser cuidadosamente determinados para cada híbrido, ya que el desarrollo de las plántulas es propio de la variedad. Sin embargo, resulta importante que el desarrollo en el laboratorio puede ser diferente del que se manifiesta en el campo, como se observó en el experimento anterior (Li *et al.*, 1997), en el cual, las plántulas del híbrido DV tuvieron un mayor desarrollo y mayor grado de homogeneidad que SEW a nivel de almácigo. Aunque no se pueda asegurar con certeza la causa de esto, una razón posible sería las diferencias que existen en las temperaturas óptimas de germinación de los híbridos de china, como lo demostraron Herrera y Alizaga (1996).

Efecto del período de almacenamiento

Las condiciones de almacenamiento son el factor limitante que determinará

en última instancia la longevidad de la semilla. Sin embargo, los valores finales están estrechamente ligados con las características genéticas de la especie e incluso de la variedad. En este experimento ambos híbridos respondieron de manera semejante a los períodos de almacenamiento. Resultó notorio que estos materiales son muy sensibles al almacenamiento y que tiempos prolongados disminuyen rápidamente su viabilidad, máxime considerando que se utilizó una temperatura relativamente moderada (20°C).

Los valores obtenidos en ambos híbridos fueron muy similares, lo que contrasta con los resultados obtenidos en almácigo (Li *et al.*, 1997), en los cuales la variedad DV obtuvo valores mayores de germinación que SEW. También, los valores totales en ambos experimentos variaron, siendo menores en el laboratorio. De nuevo, no hay una explicación definitiva para este comportamiento, aunque el factor temperatura posiblemente se encuentre entre los causantes.

La respuesta diferencial de ambos híbridos al período de almacenamiento se corroboró con los resultados de la interacción de esta variable con el período de envejecimiento acelerado (Figura 5), ya que se observa una disminución de la germinación más fuerte en el híbrido SEW conforme se aumentó el tiempo de almacenamiento, mientras que en DV la respuesta resultó considerablemente más leve. Esto demuestra que en esta especie cada variedad debe analizarse por separado, para determinar su capacidad de sobrevivencia y como ésta se relaciona con el vigor de la semilla.

Efecto del envejecimiento acelerado

El proceso de envejecimiento acelerado permitió determinar el efecto de la edad de la semilla sobre la viabilidad y el vigor en una manera rápida y eficiente; sin embargo, como señalan Bewley y Black (1994), muy probablemente existan diferencias con respecto al almacenamiento a largo plazo, especialmente debido a que la hidratación de las semillas después del envejecimiento acelerado y de un período de envejecimiento natural son muy diferentes.

Contrario a lo encontrado por Li *et al.* (1997) a nivel de invernadero, en el laboratorio la respuesta al envejecimiento acelerado de ambos híbridos fue muy similar. Esto puede atribuirse a que las condiciones en el laboratorio son las ideales para el desarrollo de la plántula, mientras que en el invernadero existe una mayor influencia de la temperatura y de la humedad. Sin embargo, su interacción con el período de almacenamiento siguió un comportamiento muy similar.

Bibliografía

- Association of Official Seed Analysts. 1983. *Seed vigor testing handbook Contribution N° 3*. The Handbook of Seed Testing. 88 p.
- Bewley, J.D.; Black, M. 1994. *Seeds: Physiology of development and germination*. 2 ed. Plenum Press, New York. 445 p.
- Delouche, J.C. 1981. *Harvest and post-harvest factors affecting the quality of cotton planting seed and quality evaluation*. Proceedings of the Beltwide Cotton Producers Research Conference. 289-305.
- Dornbos, D.L.; Mullen, R.E.; Silbes, R.M., 1989. *Drought stress effects during seed fill on soybean seed germination and vigor*. Crop Science 29:476-480.
- Egli, D.B. 1994. *Seed Growth and Development*. In Physiology and Determination of Crop Yield. Ed. by K.J. Boote; J.M. Bennett; T.R. Sinclair; G.M. Paulsen. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin. pp. 127-148.
- Herrera, J.; Alizaga, R. 1996. *Efecto de la temperatura sobre la germinación y diferenciación de cinco cultivares de china*. Tecnología en Marcha 12(3):99-106.
- International Seed Testing Association. 1976. *Reglas internacionales para ensayos de semillas*. España, Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. 148 p.
- Li, A.; Herrera, J.; Barboza, R. 1996. *Efecto del envejecimiento acelerado sobre la germinación y el vigor de la semilla de china sultani (Impatiens wallerana)*. I. Evaluación almácigo. Agronomía Costarricense 20(2):173-180.
- Manual para Evaluación de plántulas en análisis de germinación*, 1980. Madrid, Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero. 130 p.
- McDonald, M.B. 1994. *Seed Germination and Seedling Establishment*, In Physiology and Determination of Crop Yield. De. By K.J. Boote; J. Bennett; T.R. Sinclair; G.M. Paulsen. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin. pp. 37-60.
- Seed Vigor Testing Handbook*. 1983. s.l. Association of Official Seed Analysts. 88 p. (Contribution N° 32).