

ACONDICIONAMIENTO PRE-SIEMBRA: UNA OPCIÓN PARA INCREMENTAR LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.)

PRE-SOWING TREATMENTS: AN OPTION TO INCREASE GERMINATION OF HABANERO PEPPER SEEDS (*Capsicum chinense* Jacq.)

René Garruña-Hernández^{1,2,*}, Luis Latournerie-Moreno¹, Oscar Ayala-Garay³,
Jorge M. Santamaría², Luis Pinzón-López¹

¹Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán. Km. 16.3 Antigua carretera Mérida-Motul. ²Centro de Investigación Científica de Yucatán. Calle 43 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, México. ³Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km. 35.3 carretera México-Texcoco, Texcoco Estado de México. (renegh10@hotmail.com).

RESUMEN

Las semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) disminuyen su germinación después de periodos de almacenamiento superiores a los 100 d. Los tratamientos de acondicionamiento revigorizan, aceleran y uniforman la germinación de las semillas del género *Capsicum*. En este estudio se acondicionaron semillas de chile habanero durante 144 h con aireación constante en agua destilada y soluciones acuosas (tratamientos) de: KNO₃ al 3 %, polietilén glicol (PEG) a -0.5 MPa, ácido abscísico (ABA) a 10⁻⁵ M, y ácido giberélico (AG₃) a 400 ppm. Después del acondicionamiento las semillas germinaron en cajas petri y charolas (el testigo fue sembrado sin acondicionar). El diseño experimental fue completamente al azar, con los datos se realizó un ANDEVA y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los resultados mostraron que las semillas acondicionadas con ABA (13.22 % de semillas germinadas d⁻¹) aumentaron la velocidad de germinación con respecto al testigo (6.38 % de semillas germinadas d⁻¹) y todos los tratamientos de acondicionamiento aumentaron el porcentaje de germinación (%G), pero no todos mantuvieron ese aumento durante la emergencia. En el porcentaje de emergencia (%E) sólo los tratamientos con PEG y KNO₃ (osmóticos) fueron estadísticamente diferentes al testigo superándolo en 36 y 21 %. Los tratamientos osmóticos evitaron la protrusión durante el acondicionamiento y su %E fue similar al %G. El acondicionamiento de las semillas es óptimo si aumenta la germinación y la emergencia; por lo

ABSTRACT

Habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) seeds decrease their germination after storage periods exceeding 100 d. Pre-sowing treatments, reinvigorate, accelerate and uniform seed germination of the genus *Capsicum*. In this study habanero pepper seeds were pre-treated during 144 h with constant aeration in distilled water and aqueous solutions (treatments) of: KNO₃ at 3 %, polyethylene glycol (PEG) at -0.5 MPa, abscisic acid (ABA) at 10⁻⁵ M and gibberellic acid (GA₃) at 400 ppm. After pre-sowing treatments, seeds were germinated in petri dishes and trays (the control was sown without pre-treatment). The experimental design was a completely randomized, the data were used to perform ANOVA and means were compared using Tukey test ($p \leq 0.05$). Results showed that seeds treated with ABA (13.22 % of germinated seeds d⁻¹) increased germination rate compared with the control (6.38 % of germinated seeds d⁻¹) and all pre-sowing treatments increased the germination percentage (%G), but not all of them maintained that increase during emergence. In emergence percentage (%E) only PEG and KNO₃ treatments (osmotic) were statistically different from the control surpassing it at 36 and 21 %. Osmotic treatments avoided protrusion during the pre-sowing treatment and their %E was similar to %G. The pre-sowing treatment of seeds is optimal if germination and emergence is increased; therefore the pre-sowing treatment of habanero pepper seeds with KNO₃, PEG and ABA is more appropriate to increase seedling establishment.

*Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: julio, 2013. Aprobado: mayo, 2014.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 48: 413-423. 2014.

Key words: Abscisic acid, gibberellic acid, *Capsicum chinense*, emergence, potassium nitrate, polyethylene glycol.

tanto el acondicionamiento de las semillas de chile habanero con KNO₃, PEG y ABA es más adecuado para aumentar el establecimiento de las plántulas.

Palabras clave: Ácido abscísico, ácido giberélico, *Capsicum chinense*, emergencia, nitrato de potasio, polietilen glicol.

INTRODUCCIÓN

El interés por los factores (físicos, morfológicos, fisiológicos y moleculares) afectados durante la germinación de las semillas aumenta junto con el número de investigaciones en este campo (Powell, 2010). La mayoría de éstas se enfoca al incremento, la uniformidad de la germinación y la emergencia de la plántula.

El acondicionamiento de las semillas revigora acelera y uniforma la germinación en condiciones óptimas y adversas (Hacisalihoglu y Ross, 2010); sus efectos se conocen como revigorización y robustecimiento de semillas (Sánchez *et al.*, 2001). Esta técnica es usada para reducir el tiempo entre la imbibición y la emergencia de la plántula. Los métodos de acondicionamiento de semillas se agrupan en dos categorías esto depende si el suministro de agua es controlado o no (Taylor *et al.*, 1998). Las técnicas que controlan el suministro de agua a las semillas (acondicionamiento osmótico) usan soluciones osmóticas como polietilen glicol (PEG) y KNO₃ (Heydecker *et al.*, 1973); en los métodos que no controlan el agua ésta permanece disponible para las semillas (Artola *et al.*, 2010; Mavi *et al.*, 2010). Los reguladores de crecimiento usados en los tratamientos de acondicionamiento también aumentan y aceleran la germinación. Sosa-Coronel y Motes (1982) observaron que las semillas de *Capsicum annuum* en 400 ppm de ácido giberélico (AG₃) durante 144 h de incubación en oscuridad aumentaron la velocidad de emergencia y el crecimiento de plántulas. Watkins y Cantliffe (1983) aceleraron la tasa de germinación de las semillas al acondicionarlas con 500 ppm de AG₃.

En chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.), después de almacenar las semillas por más de tres meses, la velocidad y el porcentaje final de la germinación disminuye considerablemente (comunicación personal con productores de plántulas). Sin embargo, aunque la pérdida de viabilidad de las semillas es uno de los principales problemas en este cultivo, no hay estudios para resolverlo. En el presente estudio

INTRODUCTION

Interest for factors (physical, morphological, physiological and molecular) that are affected during seed germination has increased along with the number of investigations in this field (Powell, 2010). Most of these are focused in increasing germination uniformity and seedling emergence.

The conditioning treatment seeds invigorates, and accelerates and uniformes germination under optimal and adverse conditions (Hacisalihoglu and Ross, 2010); its effects are known as reinvigoration and strengthening of seeds (Sánchez *et al.*, 2001). This technique is used to reduce the time between imbibition and seedling emergence. The seed treatment methods fall into two categories that depend on whether the water supply is controlled or not (Taylor *et al.*, 1998). Techniques which control the supply of water to seeds (osmopriming) use osmotic solutions as polyethylene glycol (PEG) and KNO₃ (Heydecker *et al.*, 1973), and methods that do not control water supply are those where water is totally available for seeds (Artola *et al.*, 2010; Mavi *et al.*, 2010). Growth regulators used in pre-sowing seed treatments also increase and accelerate germination. Sosa-Coronel and Motes (1982) observed that *Capsicum annuum* seeds in 400 ppm of gibberellic acid (GA₃) during 144 h of incubation in darkness increased emergence rate and seedling growth. Watkins and Cantliffe (1983) accelerated the seed germination rate when treated with 500 ppm of GA₃.

In habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.), after storing seeds for periods longer than three months, the rate and final germination percentage decreases considerably (personal communication with producers of seedlings). However, despite the loss of viability of the seed, it is one of the main problems in this cultivar, there are no studies to resolve it. In the present study water (distilled water), osmotic (KNO₃, PEG) and hormonal (ABA, GA₃) treatment was evaluated with the objective of increasing and uniform seed germination and seedling emergence of habanero pepper.

MATERIALS AND METHODS

Habanero pepper seeds from a bag (1 Lb) sealed and packed in high vacuum (semillas Seminis, Zapopan, Mexico) were

se evaluó el acondicionamiento hídrico (agua destilada), osmótico (KNO_3 , PEG), y hormonal (ABA, AG_3) con el objetivo de aumentar y uniformar la germinación de semillas y la emergencia de las plántulas de chile habanero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de chile habanero provenientes de una bolsa (1 Lb) sellada y envasada con alto vacío (semillas Seminis, Zapopan, México) fueron almacenadas 10 meses a 22 °C, en la oscuridad y con 60 % de HR. La germinación de las semillas almacenadas (25 de ellas, con cuatro repeticiones) se evaluó cada 30 d en toallas de papel humectadas con agua destilada, en bolsas plásticas, en la oscuridad a 22 °C, y durante 20 d se contabilizó la germinación. La semilla se consideró germinada cuando se observó la protrusión radicular. La viabilidad de las semillas se evaluó con la prueba topográfica de cloruro 2, 3, 5 trifenil tetrazolio (Sigma-Aldrich) (Moreno, 1996).

Para los tratamientos de acondicionamiento se usaron probetas de 500 mL, cada una con 3 g de semillas (4 meses de edad) y 300 mL de solución acondicionadora y conectadas a una bomba Elite-799 (Hagen, Mansfield, EE.UU.) (capacidad 52.8 mL L⁻¹), para proveer aireación constante, por 144 h (tiempo seleccionado de resultados obtenidos en un estudio previo; datos no mostrados). Estos tratamientos se incubaron en oscuridad a 22±1 °C. Las soluciones (tratamientos experimentales) fueron: agua destilada (AD); KNO_3 (Sigma-Aldrich) al 3 %; polietilén glicol 8000 (PEG; Sigma-Aldrich) a -0.5 MPa; ácido abscísico (ABA; Sigma-Aldrich) 10⁻⁵ M; y ácido giberélico (AG_3 ; Giber-plus, Velsimex) en 400 ppm. Hubo tres repeticiones por solución acondicionadora. Para cuantificar las variables de la germinación, 25 semillas de cada tratamiento después de 144 h de acondicionamiento se colocaron en una caja petri (9 cm de diámetro con doble papel filtro Whatman, saturadas con 8 mL de agua destilada), con 12 repeticiones. Para calcular las variables de la emergencia, otra parte de las semillas acondicionadas (150 semillas por tratamiento) se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con sustrato peat-moss, a una profundidad de 5 mm. Además, en cajas petri y en charola, se sembraron semillas sin acondicionar como testigo. Durante 15 d se registró el número de semillas germinadas y durante 20 d el número de plántulas emergidas.

El porcentaje de germinación (%G) y el porcentaje de recuperación (%R) fueron calculados; este último con la ecuación (Zia y Khan, 2004):

$$\%R = (a - b) / (c - b) * 100$$

stored for 10 months at 22 °C in dark and with 60 % of HR. The germination of stored seeds (25 of them, with four replicates) was evaluated every 30 d in paper towels moistened with distilled water in plastic bags in dark at 22 °C, and for 20 days germination was recorded. The seed was considered germinated when root protrusion was observed. The seed viability was assessed with the topographical test of 2, 3, 5- triphenyl-tetrazolium-chloride (Sigma-Aldrich) (Moreno, 1996).

For pre-sowing treatments 500 mL test tubes were used, each with 3 g of seeds (4 months age) and 300 mL of treatment solution and connected to an Elite-799 pump (Hagen, Mansfield, USA) (52.8 capacity mL L⁻¹), to provide constant aeration for 144 h (time selected of results obtained in a previous study; data not shown). These treatments were incubated in dark at 22±1 °C. The solutions (experimental treatments) were: distilled water (DW); KNO_3 , (Sigma-Aldrich) at 3 %; polyethylene glycol 8000 (PEG, Sigma-Aldrich) at -0.5 MPa; abscisic acid (ABA, Sigma-Aldrich) 10⁻⁵ M; and gibberellic acid (AG_3 ; Giber-plus, Velsimex) at 400 ppm. Three replicates were established per treatment solution. To quantify the variables of germination, after 144 h of aeration in aqueous solution 25 seeds per treatment were placed in a petri dish (9 cm diameter with double Whatman filter paper, saturated with 8 mL of distilled water), with 12 replicates. To calculate the emergence variables, another part of the treated seeds (150 seeds per treatment) were sown in polystyrene trays with 200 cavities with peat-moss substrate, at a depth of 5 mm. Moreover, in petri dishes as in trays, non-treated seeds were sown as control. During 15 d the number of germinated seeds was recorded and for 20 d the number of emerged seedlings.

Germination percentage (%G) and recovery percentage (%R) were calculated, the latter with the following equation (Zia and Khan, 2004):

$$\%R = (a - b) / (c - b) * 100$$

where *a* is the total number of seeds germinated after treatment, *b* the total number of germinated seeds during treatments, and *c* is the total number of seeds.

Germination rates (TG) and recovery rates (TR) were calculated with the modified Timson index for germination rate (Khan and Ungar, 1984):

$$IT = \sum G / t$$

where *G* is the percentage of germinated seeds at intervals of 24 h and *t* is the total germination period.

donde a es el número total de semillas germinadas después del acondicionamiento, b el número total de semillas germinadas durante el acondicionamiento, y c es el número total de semillas.

Las tasas de germinación (TG) y recuperación (TR) se calcularon con el índice de Timson modificado para la velocidad de germinación (Khan y Ungar, 1984):

$$IT = \sum G / t$$

donde G es el porcentaje de semillas germinadas en intervalos de 24 h y t es el período total de germinación.

La escala de Timson calcula el porcentaje de semillas germinadas por lapso (24 h). Las mismas variables también fueron calculadas durante la emergencia de las plántulas. Además se evaluó el diámetro de tallo, la altura y la biomasa (masa seca) de las plántula a los 12, 19, 26 y 33 d después de la siembra, para calcular la tasa de crecimiento relativa (TCR) de acuerdo con Hunt *et al.* (2002).

Para medir la imbibición de las semillas, se pesaron 15 semillas sin acondicionar (tiempo 0; T0), se colocaron en una caja petri, se agregaron 8 mL de la solución acondicionadora respectiva (AD, KNO₃, PEG, ABA o AG₃), y las semillas se pesaron individualmente a las 12 (T1), 24 (T2), 36 (T3), 48 (T4), 60 (T5) y 72 (T6) h. Con la diferencia del peso entre los muestreos se calculó la imbibición con las unidades de peso transformadas a unidades de volumen (1 mg de peso aumentado = 1 μ L imbibido). El volumen parcial se obtuvo con la diferencia de los tiempos (*e.g.*, volumen parcial imbibido a las 12 h = T1 – T0, a las 24 h = T2 – T1), mientras que el volumen total imbibido se obtuvo sumando el valor de todos los tiempos (*e.g.*, volumen total imbibido = T1 + T2 + T3 + T4 + T5 + T6). Hubo tres repeticiones por tratamiento.

El diseño experimental fue completamente al azar; para ajustar la normalidad de los datos los porcentajes fueron transformados a su valor de arcoseno. Con los datos se realizó un ANDEVA y las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Estos análisis se realizaron en Statistica 7 (Statsoft, Tulsa, Ok, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La germinación de las semillas al inicio del estudio fue 95 %. Después de 4 y 8 meses la germinación disminuyó a 70 y 0 % (Figura 1). Estos resultados confirmaron la disminución acelerada de la viabilidad de las semillas con el tiempo de almacenamiento. El análisis de varianza mostró diferencias

Timson scale calculates the percentage of germinated seeds per period (24 h). The same variables were also calculated during the seedling emergence. In addition, stem diameter, height and biomass (dry mass) of seedlings at 12, 19, 26 and 33 d after sowing were evaluated, to calculate the relative growth rate (TCR) according to Hunt *et al.* (2002).

To measure seed imbibition, 15 untreated seeds were weighed (time 0, T0), placed in a petri dish, 8 mL of the respective aqueous solution were added (AD, KNO₃, PEG, ABA or GA₃), then seeds were individually weighed at 12 (T1), 24 (T2), 36 (T3), 48 (T4), 60 (T5) and 72 (T6) h. With the weight difference among samplings, imbibition was calculated with the weight units transformed to volume units (1 mg of increased weight = 1 μ L imbibed). The partial volume was obtained with the difference of times (*e.g.*, partial volume imbibed at 12 h = T1 – T0, at 24 h = T2 – T1), whereas the total volume imbibed was obtained by adding the value of all times (*e.g.*, total volume imbibed = T1 + T2 + T3 + T4 + T5 + T6). Three replicates per treatment were conducted.

The experimental design was completely random; to adjust the normality of the data percentages were transformed to their value of arc cosine. An ANOVA was carried out with the data and comparisons of means were performed using the Tukey test ($p \leq 0.05$). All analyzes were performed in Statistica 7 (StatSoft, Tulsa, Ok, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Seed germination at the beginning of the study was 95 %. After 4 and 8 months germination decreased to 70 and 0 % (Figure 1). These results confirmed the accelerated decline in seed viability with storage time. The analysis of variance showed significant differences, ($p \leq 0.001$) with the pre-sowing treatment on all evaluated variables.

Seeds treated with AD, ABA and GA₃ showed protrusion at the end of the 144 h of seed pre-treatment (30, 35 and 50 %, respectively), which show that these solutions accelerated germination although the seeds were not in petri dishes. In contrast, there was not protrusion with KNO₃ and PEG during the pre-sowing treatment, due to the fact that seed osmopriming maintains the availability of water in a sub-optimal level and if the germination process is started it is stopped at any stage.

The average %G of treated seeds was statistically higher than the control (81) (Figure 2A). The TG (as % of germinated seeds d⁻¹), of treated seeds

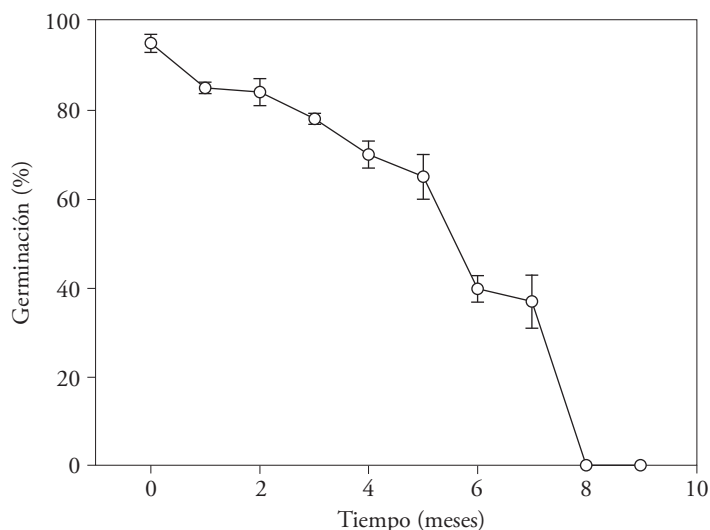


Figura 1. Pérdida de la germinación de semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) almacenadas en oscuridad, a 22 ± 1 °C y 60 % de humedad relativa, durante 10 meses. Los valores son media $\pm$ EE.

Figure 1. Loss of seed germination of Habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) stored in dark at 22 ± 1 °C and 60 % of relative humidity for 10 months. The values are mean $\pm$ SE.

significativas ($p \leq 0.001$) con el acondicionamiento en todas las variables evaluadas.

Las semillas tratadas con AD, ABA y AG_3 presentaron protrusión al concluir las 144 h del acondicionamiento (30, 35 y 50 %, respectivamente), es decir esas soluciones aceleraron la germinación aunque las semillas no estuvieran en las cajas petri. En contraste, con KNO_3 y PEG no hubo protrusión durante el acondicionamiento, debido a que el acondicionamiento osmótico de semillas mantiene la disponibilidad de agua en un nivel sub-óptimo y si el proceso germinativo se inicia es detenido en alguna de las etapas.

El %G promedio de las semillas acondicionadas fue estadísticamente superior al del testigo (81) (Figura 2A). La TG (como % de semillas germinadas d^{-1}), de las semillas acondicionadas con ABA (13.22), AD (11.23), AG_3 (10.29), KNO_3 (10.20) y PEG (8.20) fue mayor que la del testigo (6.38) (Figura 2B).

Las semillas tratadas con PEG y KNO_3 presentaron el %E de plántulas mayor (93 y 91), seguidas por las tratadas con ABA (86), AD (71) y AG_3 (70); los dos tratamientos últimos no fueron diferentes al testigo (72) (Figura 3A).

La TE de las plántulas después del acondicionamiento de las semillas con PEG y KNO_3 fue mayor (36 y 21 %) que la del testigo el cual no fue diferente a la TE de las tratadas con AD y AG_3 (Figura 3B). Así, es probable que la germinación durante el acondicionamiento en los tratamientos no osmóticos haya ocasionado algún daño mecánico en los tejidos radicales e inhibido su desarrollo en el sustrato, lo

with ABA (13.22), AD (11.23), AG_3 (10.29), (10.20) KNO_3 and PEG (8.20) was higher than the control (6.38) (Figure 2B).

Seeds treated with PEG and KNO_3 showed the higher %E of seedlings (93 and 91), they were followed by treated seeds with ABA (86), AD (71) and GA_3 (70); the last two treatments were not different to the control (72) (Figure 3A).

The TE of seedlings after pre-sowing treatment with PEG and KNO_3 was higher (36 and 21%) than the control which was not different to the TE of those treated with AD and GA_3 (Figure 3B). Thus, it is likely that germination during the pre-sowing treatment in non-osmotic treatments has caused some mechanical damage in root tissues and inhibited its development in the substrate, which was evaluated as falling of speed in the complete emergence or inhibition.

In %RG there were no significant differences among treatments with ABA (95), KNO_3 (94), PEG (93), and AD (90). The TRG of seeds was significantly different in all treatments; with ABA was the fastest (14 % d^{-1}) and that of AD (7 % d^{-1}) the slowest (Table 1). ABA is a germination inhibitor (Kucera *et al.*, 2005); in tobacco seeds the exogenous application of ABA (10^{-5} M) delayed induction of β -1,3 glucanase, enzyme associated with the rupture of the endosperm during germination (Leubner-Metzger *et al.*, 1996). However, the results of the present study show that ABA (10^{-5} M) accelerated the germination of habanero pepper seeds and seedling emergence, compared to the other treatments; in addition, it increased %G, because the maximum

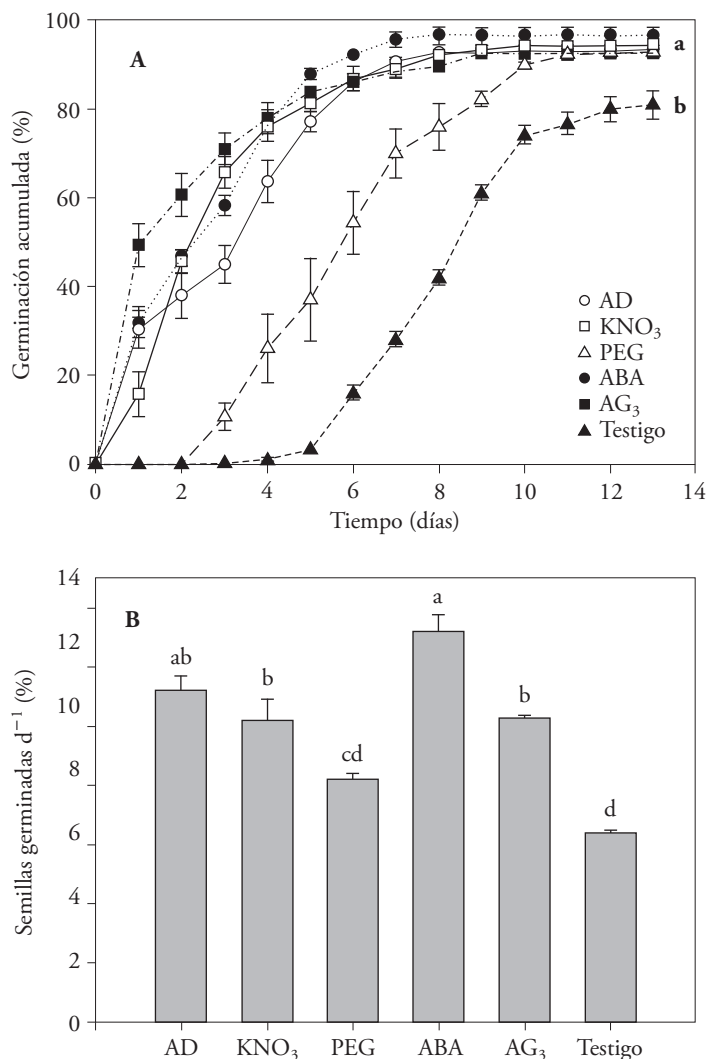


Figura 2. A) Porcentaje de germinación (%G) y B) tasa de germinación (% de semillas germinadas d⁻¹) de semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en cinco tratamientos de acondicionamiento; AD (○), KNO₃ (□), PEG (△), ABA (●), AG₃ (■), testigo (▲). Los valores presentados son media ± EE. Letras diferentes significan diferencias estadísticas (Tukey, p ≤ 0.05).

Figure 2. A) Germination percentage (%G) and B) germination rate (% of germinated seeds d⁻¹) of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) seeds in five pre-sowing treatments; AD (○), KNO₃ (□), PEG (△), ABA (●), AG₃ (■), control (▲). The values presented are mean ± SE. Different letters mean statistical differences (Tukey, p ≤ 0.05).

cual fue evaluado como caída de la velocidad en la emergencia o inhibición completa.

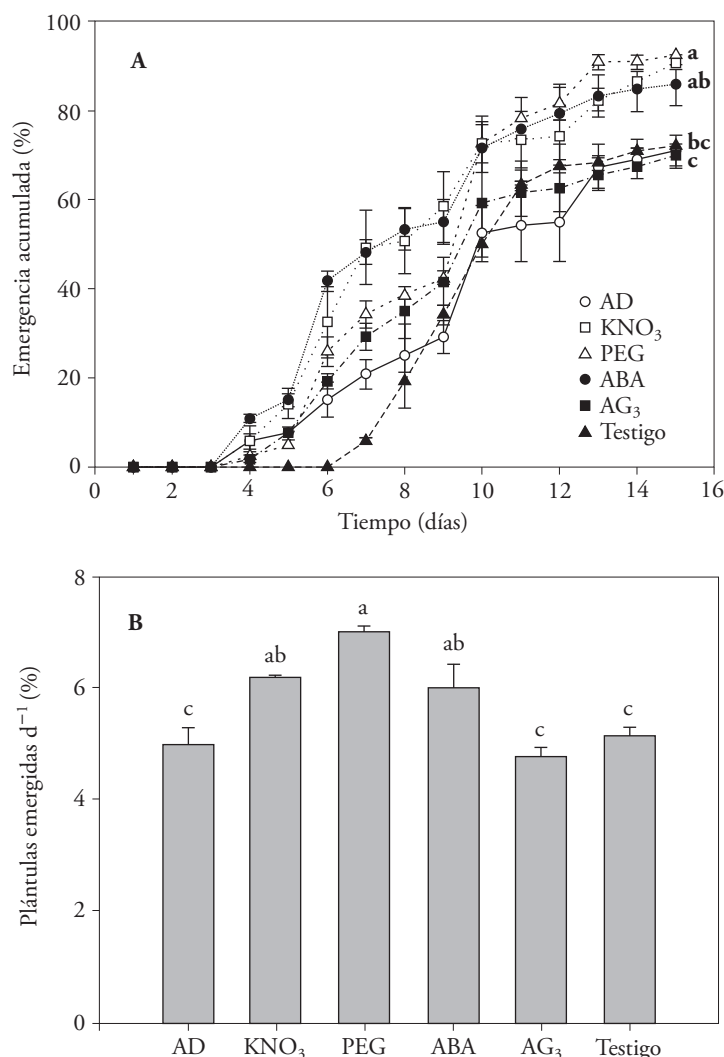
En %RG no hubo diferencias significativas entre los tratamientos con ABA, (95), KNO₃ (94), PEG (93) y AD (90). La TRG de las semillas fue significativamente diferente en todos los tratamientos; con ABA fue la más veloz (14 % d⁻¹) y la de AD (7 % d⁻¹) la más lenta (Cuadro 1). El ABA es un inhibidor de la germinación (Kucera *et al.*, 2005); en semillas de tabaco la aplicación exógena de ABA (10⁻⁵ M) retrasó la inducción de β -1,3 glucanasa, enzima relacionada con la ruptura del endospermo en la germinación (Leubner-Metzger *et al.*, 1996). Sin embargo, los resultados del presente estudio mostraron que el ABA (10⁻⁵ M) aceleró la germinación de semillas del chile habanero y la emergencia de las plántulas, respecto a los otros

was reached. These results agree with those of Finch-Savage and McQuistan (1989) since with a 10⁻⁴ M ABA solution they increased 62 % the germination of carrot seeds. These results indicate that it is likely that stimulation with exogenous ABA, enzymatic responses that precede germination are regulated differently among species. In this sense, Schopfer and Plachy (1984) suggested that the system which controls the water uptake and embryo germination cannot discriminate between the main effects of ABA and osmotic stress; if so, the effects of ABA will be similar to those of the osmotic agents and both strands of signal transduction will coincide at some common point that controls the water status of the embryo.

The highest %RE of emergence (92 and 91) corresponded to treated seeds with PEG and KNO₃

Figura 3. A) Porcentaje de emergencia (%E) y B) tasa de emergencia (% de plántulas emergidas d^{-1}) de semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en cinco tratamientos de acondicionamiento; AD (○), KNO_3 (□), PEG (△), ABA (●), AG_3 (■), testigo (▲). Los valores presentados son media $\pm$ EE. Letras diferentes significan diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$).

Figure 3. A) Emergence percentage (%E) and B) emergence rate (% of emerged seedling d^{-1}) of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) seeds in five pre-sowing treatments; AD (○), KNO_3 (□), PEG (△), ABA (●), AG_3 (■), control (▲). The values presented are mean $\pm$ SE. Different letters mean statistical differences (Tukey, $p \leq 0.05$).



tratamientos; además, aumentó el %G al máximo. Estos resultados coinciden con los de Finch-Savage y Mcquistan (1989), ya que con una solución de ABA 10^{-4} M ellos aumentaron 62 % la germinación de semillas de zanahoria. Estos resultados indican que es probable que la estimulación con el ABA exógeno las respuestas enzimáticas antes de la germinación se regulen de manera diferente entre las especies. En este sentido, Schopfer y Plachy (1984) sugirieron que el sistema que controla la absorción de agua y la germinación del embrión no puede discriminar entre los efectos principales del ABA y el estrés osmótico; de ser así, los efectos del ABA serán similares al de los agentes osmóticos y ambas cadenas de transducción de señales coincidirán en algún punto común que controla el estado hídrico del embrión.

osmotic solutions, and those treated with AG_3 showed the lowest value. The greatest TRE was for treated seeds in KNO_3 and ABA (7 % d^{-1} in both cases) and contrasted with the slowest, that of the treated seeds in AD and AG_3 (3 % d^{-1} in both cases) (Table 1). Seeds of the two osmotic treatments did not germinate during the pre-sowing treatment, but their %RE was higher, and despite not being the fastest seeds in germination they indeed were in emergence. The benefits of osmopriming in this study were consistent with those reported by other authors. Demir and Oztokat (2003) observed an 11 % increase in germination of melon seeds with KNO_3 , and Sundstrom and Edwards (1989) increased 45 % germination of *C. frutescens*. Yaklich and Orzolek (1977) increased 10 % of *C. annuum* emergence with PEG, and Sánchez *et al.* (1997) 19 % germination in cucumber.

Cuadro 1. Porcentaje (%R) y tasa de recuperación (TR) de la germinación de semillas y emergencia de las plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con y sin acondicionamiento.

Table 1. Percentage (%R) and recovery rate (TR) of seed germination and seedling emergence of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) with pre-sowing and without pre-sowing treatment.

Tratamiento	Germinación		Emergencia	
	%RG	TRG (% d ⁻¹)	%RE	TRE (% d ⁻¹)
AD	90±1.2 ab	7±0.1 e	58±5.1 bc	3±0.2 c
KNO ₃	94±0.6 a	12±0.1 b	91±1.6 a	7±0.1 a
PEG	93±1.5 ab	9±0.2 d	92±0.1 a	6±0.0 ab
ABA	95±2.7 a	14±0.3 a	79±6.8 a	7±0.6 a
AG ₃	86±1.3 b	11±0.2 c	39±5.8 c	3±0.4 c
Testigo	81±1.4 bc	9±0.3 d	76±0.6 ab	5±0.0 b

Los datos son medias ± EE. Valores con letras diferentes en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). AD: agua destilada; KNO₃: nitrato de potasio; PEG: polietilen glicol; ABA: ácido abscísico; AG₃: ácido giberélico. Data are means ± SE. Values with different letters in a column are statistically different (Tukey, $p \leq 0.05$). AD: distilled water; KNO₃: potassium nitrate; PEG: polyethylene glycol; ABA: abscisic acid; GA₃: gibberellic acid.

El %RE mayor de la emergencia (92 y 91) correspondió a las semillas acondicionadas con las soluciones osmóticas PEG y KNO₃, y las tratadas con AG₃ tuvieron el valor menor. La TRE mayor fue para las semillas acondicionadas en KNO₃ y ABA (7 % d⁻¹ en ambos casos) y contrastó con la más lenta, la de las semillas en AD y AG₃ (3 % d⁻¹ en ambos casos) (Cuadro 1). Las semillas de los dos tratamientos osmóticos no germinaron durante el acondicionamiento, pero su %RE fue más alto, y a pesar de no ser las más veloces en la germinación, sí lo fueron en la emergencia. Los beneficios del acondicionamiento osmótico en este estudio coincidieron con los reportados por otros autores. Demir y Oztokat (2003) observaron aumento de 11 % de la germinación de semillas de melón con KNO₃, y Sundstrom y Edwards (1989) aumentaron 45 % la germinación de *C. frutescens*. Yaklich y Orzolek (1977) aumentaron 10 % la emergencia de *C. annuum* con PEG, y Sánchez *et al.* (1997) 19 % la germinación en pepino.

En el volumen parcial imbibido a las 12, 36 y 60 h no hubo diferencias significativas, pero a las 24, 48 y 72 h sí las hubo. Así, la imbibición en los dos tratamientos con reguladores de crecimiento ABA (43.9 μ L) y AG₃ (44.7 μ L) a las 24 h fue superior al tratamiento con AD (34.6 μ L), a las 48 y 72 h (50.9 y 27 μ L, respectivamente); sólo las semillas en AG₃ mostraron diferencias

In the partial volume imbibed at 12, 36 and 60 h there were no significant differences, but at 24, 48 and 72 h there were differences. Thus, imbibition in the two treatments with growth regulators ABA (43.9 μ L) and AG₃ (44.7 μ L) at 24 h was higher than treatment with AD (34.6 μ L), at 48 and 72 h (50.9 and 27 μ L, respectively); only seeds in AG₃ showed significant differences compared to those in AD (43.2 and 16.1 μ L, respectively) (Figure 4A). This allows us to suggest that there are time periods in which cellular events have established rhythms of absorption and water use (Bewley, 1997). In the total volume imbibed during the experiment, there were differences starting from 24 h; it was the case of hormonal solutions that contrasted with the osmotic ones along with the water treatment (Figure 4B). This indicates that the type of treatment solution plays an important role in water uptake by seed, and consequently in the control of the protrusion.

In the TCR there were no significant differences in seedling height among treatments. However, both in stem diameter (53 %) and biomass (16 %), seedlings of the treatment with ABA were significantly higher than those of control (Table 2).

CONCLUSIONS

Habanero pepper seeds may present dormancy in relatively short periods of storage. Pre-sowing

significativas comparadas con las de AD (43.2 y 16.1 μL , respectivamente) (Figura 4A). Esto permite sugerir que hay lapsos en que los eventos celulares tienen ritmos establecidos de absorción y uso de agua (Bewley, 1997). En el volumen total imbibido durante el experimento, hubo diferencias desde las 24 h; fue el caso de las soluciones hormonales que contrastaron con las osmóticas, junto con el tratamiento hídrico (Figura 4B). Esto indica que el tipo de solución acondicionadora tiene una función importante en la toma de agua por la semilla y por tanto en el control de la protrusión.

En la TCR no hubo diferencias significativas en la altura de plántulas entre los tratamientos. Sin embargo, en el diámetro de tallo (53 %) y en la biomasa (16 %), las plántulas del tratamiento con ABA fueron significativamente superiores a las del testigo (Cuadro 2).

treatment broke dormancy, having thus positive impact on germination and increasing seed germination capacity. ABA accelerates germination and emergence. Osmotic solutions of KNO_3 and PEG prevent germination during the pre-sowing treatment causing an emergence increase. The treatment solutions KNO_3 , PEG and ABA are the most appropriate to obtain habanero pepper seedlings ready for transplant.

—End of the English version—

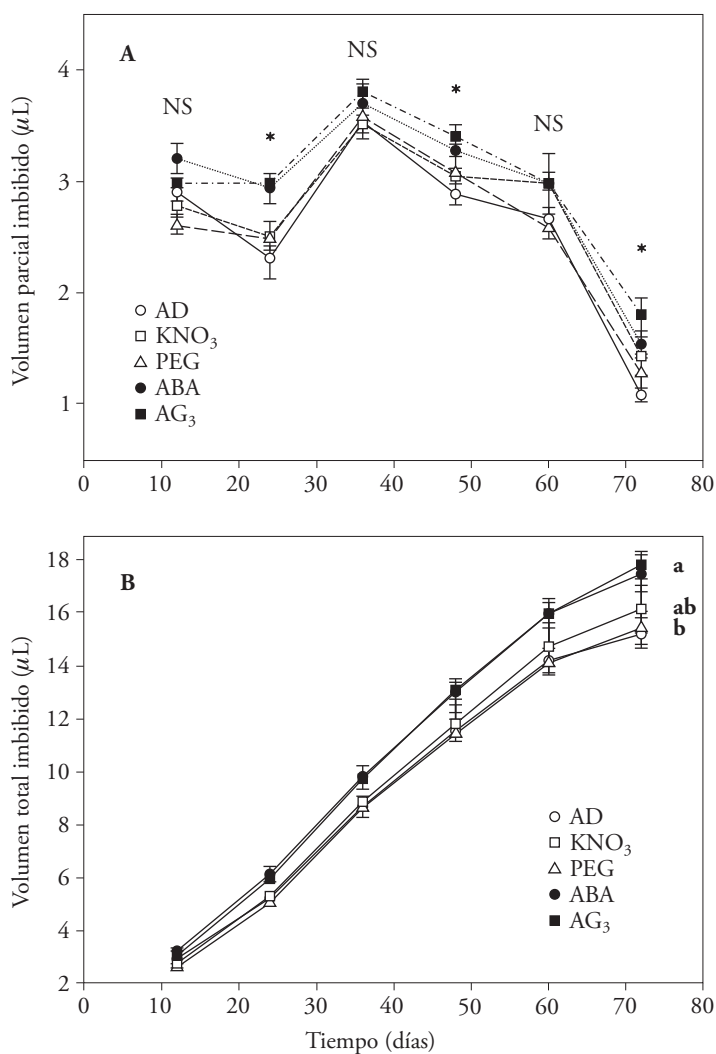


CONCLUSIONES

Las semillas de chile habanero pueden presentar latencia en periodos relativamente cortos de

Figura 4. A) Volumen parcial y B) volumen total imbibido por semilla de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) durante 72 h, en cinco tratamientos de acondicionamiento; AD ($\circ$), KNO_3 ($\square$), PEG ($\triangle$), ABA ($\bullet$), AG_3 ($\blacksquare$), testigo ($\blacktriangle$). Los datos presentados son media $\pm$ EE. Letras diferentes significan diferencias estadísticas (Tukey, $p \leq 0.05$); NS: no significancia, *: significativo ($p \leq 0.05$).

Figure 4. A) Partial volume and B) total volume imbibed by habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) seed for 72 h, in five pre-sowing treatments; AD ($\circ$), KNO_3 ($\square$), PEG ($\triangle$), ABA ($\bullet$), AG_3 ($\blacksquare$), control ($\blacktriangle$). Data presented are mean $\pm$ SE. Different letters mean statistical differences (Tukey, $p \leq 0.05$); NS: no significance, *: significant ($p \leq 0.05$).



almacenamiento. El acondicionamiento rompió la latencia, por lo que tiene impacto positivo en la germinación y aumenta su capacidad germinativa. El ABA acelera la germinación y la emergencia. Las soluciones osmóticas de KNO_3 y PEG impiden la germinación durante el acondicionamiento y causan aumento de la emergencia. Las soluciones acondicionadoras de KNO_3 , PEG y ABA son las más adecuadas para obtener plántulas de chile habanero listas para el trasplante.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada a René Garruña Hernández para realizar estudios de posgrado, a José Luis Sima y Roberth Us por su asistencia técnica, así como a los Editores y Árbitros anónimos por sus valiosas sugerencias sobre este artículo.

LITERATURA CITADA

- Artola, A., G. Carrillo-Castañeda, and G. de los Santos. 2010. Hydropriming: a strategy to increase *Lotus corniculatus* L. seed vigor. *Seed Sci. Technol.* 31: 455-463.
- Bewley, J. D. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066.
- Demir, I., and C. Oztokat. 2003. Effect of salt priming on germination and seedling growth at low temperatures in watermelon seeds during development. *Seed Sci. Technol.* 31: 765-770.
- Finch-Savage, W. E., and C. I. Mcquistan. 1989. The use of abscisic acid to synchronize carrot seed germination prior to fluid drilling. *Ann. Bot.* 63: 195-199.
- Hacisalihoglu, G., and Z. Ross. 2010. The influence of priming on germination and soil emergence of non-aged and aged annual ryegrass seeds. *Seed Sci. Technol.* 38: 214-217.
- Heydecker, W., J. Higgins, and R. L. Gulliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* 246: 42-44.
- Hunt, R., D. R. Causton, B. Shipley, and A. P. Askew. 2002. A modern tool for classical plant growth analysis. *Ann. Bot.* 90: 485-488.
- Khan, M. A., and I. A. Ungar. 1984. Effects of salinity and temperature on the germination and growth of *Arrisplex triangularis* Willd. *Am. J. Bot.* 71: 481-489.
- Kucera, B., M. C. Alan, and G. Leubner-Metzger. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci. Res.* 15: 281-307.
- Leubner-Metzger, G., C. Frundt, and F. Meins. 1996. Effects of gibberellins, darkness and osmotic on endosperm rupture and class I β -1,3-glucanase induction in tobacco seed germination. *Planta* 199: 282-288.
- Mavi, K., M. E. Light, I. Demir, V. Staden, and F. Yasar. 2010. Positive effect of smoke-derived butenolide priming on melon seedling emergence and growth. *New Zeal. J. Crop Hort.* 38: 147-155.
- Moreno M. E. 1996. Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. UNAM. México, 383 p.
- Powell, A. A. 2010. Morphological and physiological characteristics of seeds and their capacity to germinate and survive. *Ann. Bot.* 105: 975-976.
- Sánchez A. J., E. Calvo, R. Orta, y B. Muñoz. 1997. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación para semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.). *Act. Bot. Mex.* 38: 13-20.
- Sánchez A. J., R. Orta, y B. Muñoz. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agr. Cost.* 25: 67-92.
- Sosa-Coronel, J., and J. E. Motes. 1982. Effect of gibberellic acid and seed rates on pepper seed germination in aerated water columns. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 107: 290-295.

Cuadro 2. Tasa de crecimiento relativo de la biomasa, del diámetro del tallo y de la altura de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) a partir de semillas con y sin acondicionamiento.

Table 2. Relative growth rate of biomass, stem diameter and height of seedlings of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) seeds with pre-sowing and without pre-sowing treatments.

Tratamiento	Biomasa ($\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Altura ($\text{cm}^2 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	Diámetro de tallo ($\text{mm}^2 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$)
AD	2.62 ± 0.22 ab	1.45 ± 0.16	0.20 ± 0.03 ab
KNO_3	2.86 ± 0.31 ab	1.51 ± 0.23	0.22 ± 0.01 ab
PEG	2.74 ± 0.20 ab	1.44 ± 0.21	0.19 ± 0.03 ab
ABA	2.92 ± 0.31 a	1.47 ± 0.12	0.23 ± 0.02 a
AG_3	2.62 ± 0.28 ab	1.46 ± 0.17	0.16 ± 0.01 b
Testigo	2.51 ± 0.23 b	1.47 ± 0.20	0.15 ± 0.03 b

Valores con letras diferentes en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). AD: agua destilada; KNO_3 : nitrato de potasio; PEG: polietilen glicol; ABA: ácido abscísico; AG_3 : ácido giberélico. * Values with different letters in a column are statistically different (Tukey, $p \leq 0.05$). AD: distilled water; KNO_3 : potassium nitrate; PEG: polyethylene glycol; ABA: abscisic acid; GA_3 : gibberellic acid.

- Sundstrom, F. J., and R. L. Edwards. 1989. Pepper seed respiration, germination, and seedling development following seed. *Hortscience* 24: 343-345.
- Taylor, A. G., P. S. Allen, M. A. Bennett, K. J. Bradford, J. S. Burris, and M. K. Misra. 1998. Seed enhancements. *Seed Sci. Res.* 8: 245-256.
- Watkins, J. T., and D. J. Cantliffe. 1983. Hormonal control of pepper seed germination. *Hortscience* 18: 342-343.
- Yaklich, R. W., and M. D. Orzolek. 1977. Effect of polyethylene glycol 6000 on pepper seed. *Hortscience* 12: 263-264.
- Zia, S., and M. A. Khan. 2004. Effect of light, salinity, and temperature on seed germination of *Limonium stocksii*. *Can. J. Bot.* 82: 151-157.