

## ESTUDIOS DE OSMOINICIACION DE SEMILLAS DE CEBOLLA DE BULBO (*Allium cepa* L.) \*

### Osmopriming studies in bulb onion seed (*Allium cepa* L.)

Harvey Arjona Díaz<sup>1</sup> Alfonso Guerrero Sánchez<sup>2</sup> César Orlando Prieto Medina<sup>2</sup>

#### RESUMEN

El presente trabajo se realizó durante el segundo semestre de 1996 y el primer semestre de 1997. Se dividió en dos etapas: la primera se realizó en los laboratorios de Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, en donde se establecieron los tratamientos de osmo-iniciación; la segunda se realizó en los invernaderos del Centro de Investigaciones y Asesorías Agroindustriales de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, en donde se establecieron los semilleros. En el ensayo se evaluaron 18 tratamientos de osmo-iniciación utilizando PEG (6000) y  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en semillas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.), con potenciales osmóticos de -0,5, -1,0 y -1,5 MPa, durante 5, 10 y 15 días de imbibición. El diseño utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial 2x3x3 y cuatro replicaciones. Se midieron las variables: 1) Porcentaje de germinación a los 5 días y a los 10 días, 2) porcentaje de emergencia a los 12 días, a los 17 días y a los 21 días, 3) Longitud de raíces, 4) Altura de planta, 5) Número de hojas, 6) Diámetro del bulbo, 7) Peso fresco y 8) Peso Seco. Se obtuvo mejor respuesta con el uso de

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  en los porcentajes de germinación, en los porcentajes de emergencia y en la longitud de raíces.

**Palabras claves:** Iniciación de semillas, germinación, Polietilenglicol, potencial osmótico, establecimiento de semillas.

#### SUMMARY

This trial was divided in two steps: the first step was conducted in the College of Agriculture, National University of Colombia, where the osmopriming treatment of onion seeds was conducted. The second step was carried out at the Research Center of the Jorge Tadeo Lozano University. Eighteen treatments of osmopriming were proved, by using PEG (6000) and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  with bulb onion seed (*Allium cepa* L.). Solutions with three osmotic potentials -0.5, -1.0 and -1.5 MPa were used and seeds were embeded for 5, 10 and 15 days. A Completely Randomized design with a factorial arrangement of 2x3x3 was used. The experiment was replicated four times. The variables measured were: 1) Percentage of germination 5 and 10 days after imbibition, 2) Percentage of emergence at 12, 17 and 21 days after seeding, 3) Root length, 4) Plant height, 5) Number of leaves, 6) Bulb diameter, 7) Fresh weight, and 8) Dry weight. Percentage of germination, percentage of emergence and root length were higher with  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

**Key words:** Seed initiation, germination, polyethylene glycol, osmotic potential, seed establishment.

\* Recibido en Octubre de 1998

1 Profesor Asociado e Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. A.A. 14490, Bogotá, Colombia.

2 Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Santafé de Bogotá, D.C.

## INTRODUCCION

El estado más vulnerable por el que atraviesa una planta es la germinación. Cuando es mayor el tiempo entre la germinación y la emergencia, mayor es la probabilidad de sucumbir. Para asegurar la supervivencia de la planta, la germinación de las semillas debe ser rápida y debe permitir que los procesos metabólicos posteriores puedan llevarse a cabo en forma normal (Barceló, 1987). La osmoindicación de semillas es una técnica que conduce a disminuir el tiempo de germinación mediante la imbibición de éstas en soluciones con diferentes solutos como sales inorgánicas, azúcares, y polietilenglicol (compuesto inerte de alto peso molecular), entre otros (Besnier, 1994). Debido al bajo peso de la semilla de cebolla, a la superficialidad y a la baja densidad de su sistema radical, así como a las hojas erectas y de poca cobertura, la cebolla no presenta condiciones favorables para competir con las malezas; siendo uno de los principales problemas que enfrenta el productor, ya que éstas reducen la producción y generan mayores costos en su control (Arjona, 1991). Una alternativa a este problema consiste en mejorar la calidad de competencia de esta especie, acortando el tiempo en semillero, incrementando la velocidad y los porcentajes de germinación y emergencia (Fuentes y Plaza, 1992). En el presente trabajo se evaluaron 18 tratamientos de osmoindicación de semillas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.), con polietilenglicol - PEG (6000) y dihidrogenofosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) y se determinaron el (los) tratamiento(s) que incidieron más favorablemente en la germinación de semillas y la emergencia de plántulas.

## MATERIALES Y METODOS

Este trabajo se realizó en dos etapas: La primera etapa, correspondiente a los tratamientos de osmoindicación, se llevó a cabo en los laboratorios de Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía - Santafé de Bogotá, D.C.. La segunda etapa, correspondiente al establecimiento del semillero, se llevó a cabo

en los invernaderos del Centro de Investigaciones y Asesorías Agroindustriales de la Universidad Jorge Tadeo Lozano a 2.600 msnm con una temperatura promedio de 20°C. Para el ensayo se utilizaron semillas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.) del híbrido Sweet Success que es más precoz y más tolerante que los Granex estándar. Para los tratamientos de osmoindicación se utilizaron soluciones de Polietilenglicol - PEG (6000) el cual es una condensación de polímero de óxido de etileno y agua, y dihidrogenofosfato de potasio -  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  el cual es una sal inorgánica.

En la etapa de laboratorio se utilizaron cajas plásticas de Petri de 90 mm de diámetro y papel de filtro. Se hicieron soluciones con potenciales osmóticos de -0,5, -1,0 y -1,5 MPa. En cada tratamiento de osmoindicación se imbibieron 50 semillas en 15 ml de solución con tiempos de imbibición de 5, 10 y 15 días. Como testigo se usaron semillas imbibidas en agua destilada. Terminados los tiempos de imbibición las semillas fueron enjuagadas con agua destilada hasta eliminar el exceso de producto y fueron secadas a temperatura ambiente. De las 50 semillas iniciales por tratamiento, 25 fueron almacenadas y las 25 restantes se utilizaron para realizar la prueba de germinación.

En la etapa de semillero se utilizaron bandejas plásticas de 0,60 m x 0,35 m, riego por microaspersión y sustrato, adicionalmente se usaron semillas sin tratamiento como testigo absoluto. El diseño utilizado fue completamente al azar con arreglo factorial 2x3x3 y cuatro replicaciones.

En el desarrollo del experimento se midieron las siguientes variables: 1) Porcentaje de germinación a los 5 días y a los 10 días. Se contó como semilla germinada aquella que emitió la radícula de la testa. Se anotó el número de semillas germinadas y se obtuvo el porcentaje. 2) Porcentaje de emergencia. Las plántulas que aparecieron en la superficie del suelo fueron consideradas como emergidas. Se contaron a los 12, a los 17 y a los 21 días y se determinaron los respectivos porcentajes, 3) Longitud de raíces: Comprendida desde la base del tallo hasta

los ápices de las raíces más largas. La longitud de raíces se expresó en milímetros (mm), 4) Altura de planta: Se midió desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja más larga. Se expresó en mm, 5) Número de hojas: Se registró el número promedio de hojas por planta/replicación que aparecieron en cada muestreo, 6) Diámetro del bulbo: El diámetro se midió con un calibrador (nonio), tomando la parte más prominente del bulbo expresando su medida en milímetros (mm), 7) Peso fresco: El conjunto de plántulas por tratamiento de cada muestreo se pesó sin sustrato para obtener el peso fresco. El peso fresco se expresó en gramos (g), 8) Peso Seco: El conjunto de plántulas pesadas en fresco, fue llevado a estufa a 85°C por 48 horas, para eliminar el contenido de agua. El peso seco se expresó en gramos (g).

## RESULTADOS Y DISCUSION

Las variables estudiadas se sometieron a Análisis de Varianza y los promedios obtenidos se compararon teniendo en cuenta los efectos principales: 1) producto, 2) potencial osmótico y 3) días de imbibición, y sus interacciones de primero y segundo orden. Por medio de contrastes ortogonales se hicieron evaluaciones de tendencia para

los potenciales osmóticos y los tiempos de imbibición. Las tendencias evaluadas fueron la lineal y la cuadrática.

### Porcentaje de germinación

A los 5 días el porcentaje de germinación es superior con el uso de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  frente al uso de PEG (6000) y frente al uso del agua destilada. El potencial osmótico de -1,0 MPa durante cinco días de imbibición de las semillas en  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dió el 87 % de germinación. Cabe resaltar que el testigo, en todos los casos, mostró mayor respuesta en el porcentaje de germinación que el PEG (6000), pero menor respuesta que la obtenida con  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . (Fig 1).

Frett *et al.* (1991), afirman que los cationes y los aniones de las sales podrían haber sido absorbidos diferencialmente forzando el efecto del ión específico sobre el efecto osmótico con lo cual los porcentajes de germinación fueron más altos con el uso de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  que con el uso de PEG (6000). Mexal *et al.* (1975), indican que los bajos porcentajes de germinación en semillas osmoinizadas con PEG se deben a la baja disponibilidad de oxígeno, mientras que Alvarado *et al.* (1988), concluyen que los bajos porcentajes de germinación se deben a

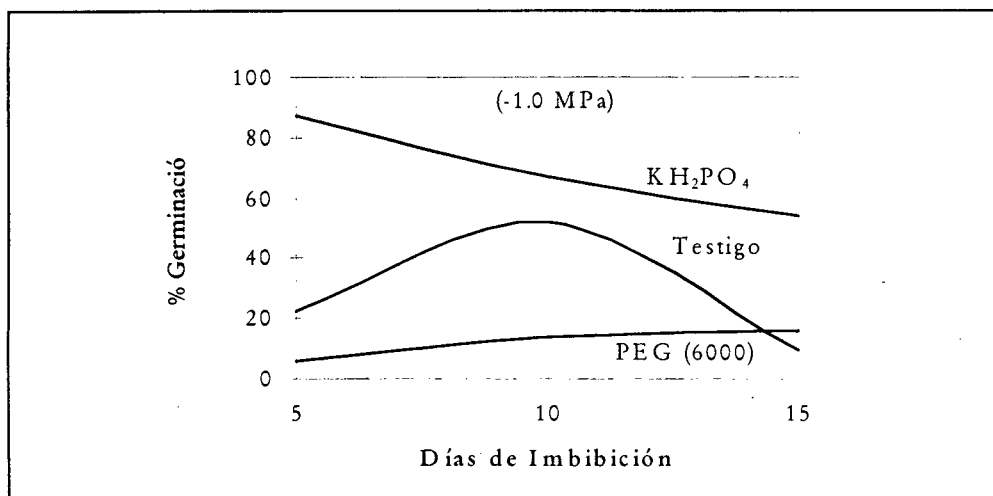


Figura 1. Porcentaje de germinación a los 5 días de semillas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.) osmoinizadas.

la baja hidratación de la semilla utilizando este producto. Gray *et al* (1991), concluyeron que el pericarpio de la semilla de cebolla (*Allium cepa* L.) es considerablemente más grueso que otras especies que osmoinizaron y esto podría ser una limitante para la difusión del oxígeno cuando se usa PEG (6000).

A los 10 días el porcentaje de germinación fue altamente significativo según la tendencia cuadrática siendo constante (87 %) cuando las semillas fueron imbibidas en  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a un potencial osmótico de -1,0 MPa durante cinco días. Con 10 días de imbibición en este producto se obtuvo también el 87 %. El PEG (6000) y el agua destilada presentaron porcentajes de germinación menores. (Fig.2).

Posiblemente la causa para que se presenten estos porcentajes con el uso del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , tiene que ver con la naturaleza del mismo. Debido a que el  $\text{K}^+$  por ser el catión más abundante en la solución utilizada para la osmoización, junto con la sal disociada ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), contribuyen a la disminución del potencial osmótico de la semilla haciendo que penetre el agua a los tejidos, facilitando de esta manera la imbibición, como la des-

cribe Clavijo (1994). Frett *et al.* (1991), sugieren que las moléculas de PEG (6000) no penetran los tejidos de las semillas, aún a pesar de su propiedad para reducir la tensión interfacial entre superficies. De acuerdo con lo propuesto por Heydecker y Coolbear (1977), el polietilenglicol de alto peso molecular (> 4000), puede reducir considerablemente la toma de oxígeno, ya que en estas condiciones, la solubilidad del oxígeno es del 50 % en el agua y la movilidad del mismo es únicamente del 10 %, disminuyendo la disponibilidad relativa al orden del 5%. Bujalski y Nienow (1991), sugieren que el pericarpio de las semillas de cebolla alcanza hasta 0,3 mm de grosor y que es mayor, comparado con el pericarpio de las semillas de otras especies osmoinizadas por ellos, lo cual constituye una limitante para la toma de oxígeno.

#### Porcentaje de emergencia

A los 12 días la tendencia lineal creciente muestra que el testigo absoluto (semillas sin tratamiento) responde en forma diferencial con un porcentaje de emergencia del 92 %, frente a las semillas osmoinizadas a los diferentes potenciales

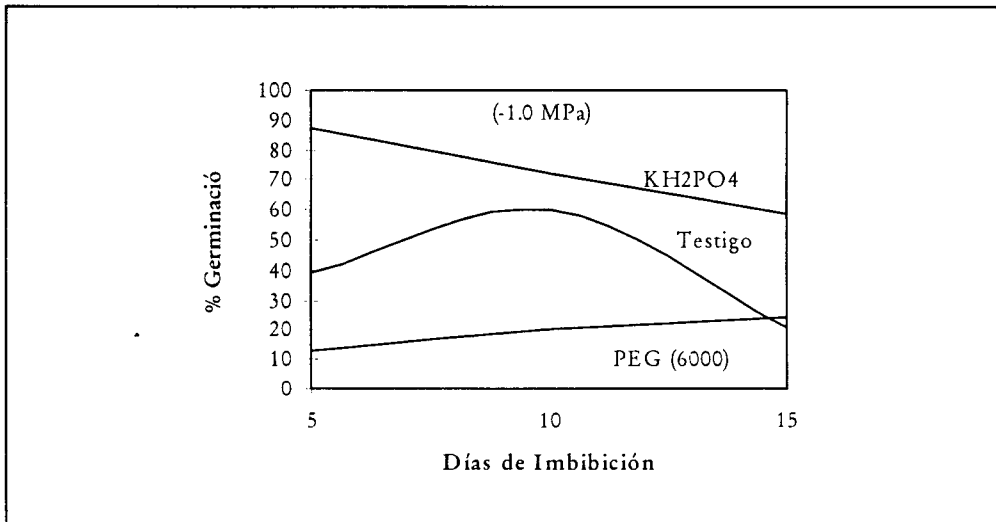


Figura 2. Porcentaje de germinación a los 10 días de semillas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.) con tratamientos de osmoización.

osmóticos tanto con los productos utilizados, como con el agua destilada siendo menores los porcentajes. (Figura 3).

Brocklehurst *et al.* (1987), al comparar el efecto del PEG, del glicerol y del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  encontraron que el PEG dió los resultados más consistentes en un amplio rango de especies, entre ellas la cebolla (*Allium cepa* L.); en tanto que el porcentaje de germinación y de emergencia usando  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  arrojó resultados marcadamente inferiores en puerro (*Allium porrum* L.) y apio (*Apium graveolens* L.). Saxena y Gita Singh (1987), encontraron que semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), de coliflor (*Brassica oleracea* var. *Botrytis*) y de otras especies vegetales al ser tratadas con PEG presentaron incrementos en la germinación y en la emergencia de plántulas comparadas con los testigos. Comparando los resultados del

porcentaje de emergencia a los 12 días entre los diferentes tratamientos de osmoindicación, se observa que las semillas de cebolla imbibidas en  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y en PEG (6000) tuvieron menor respuesta que las semillas imbibidas en agua destilada, probablemente porque los tratamientos incidieron en la viabilidad de las semillas o en la disponibilidad del oxígeno.

A los 17 días el porcentaje de emergencia de las semillas sin tratamiento de osmoindicación (testigo absoluto) presentaron los mayores porcentajes de emergencia, alcanzando el 94 %, en tanto que las semillas imbibidas en agua destilada (testigo relativo) presentaron una tendencia lineal decreciente con el tiempo de imbibición alcanzando la máxima respuesta de emergencia (81 %) con 10 días de imbibición. (Figura 4).

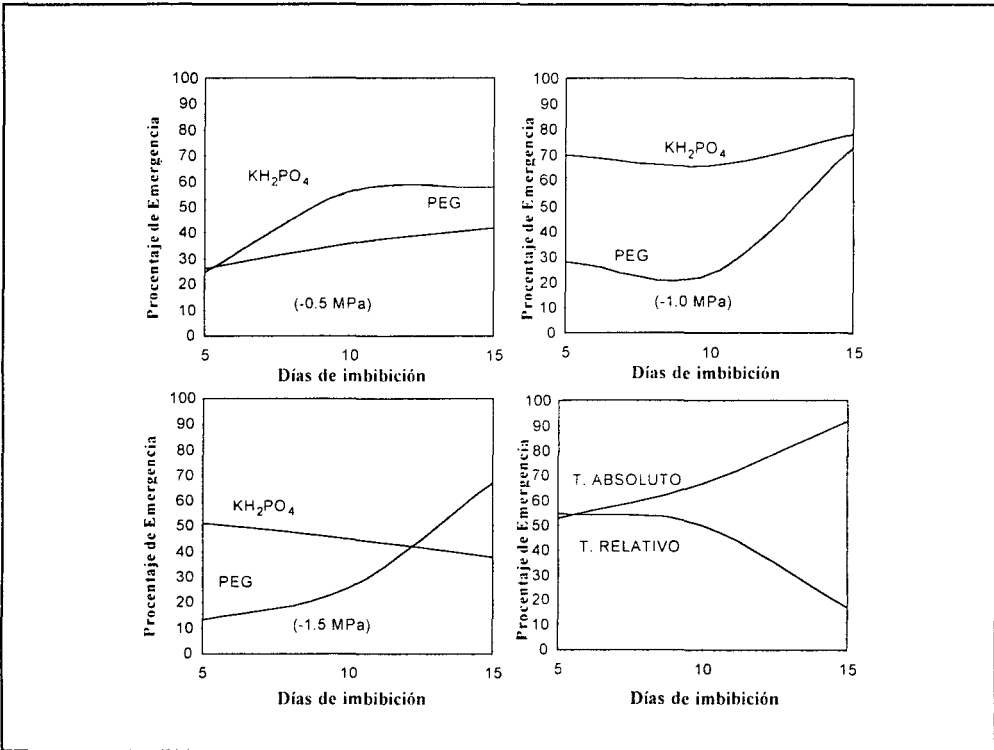


Figura 3. Tendencia del porcentaje de emergencia de plántulas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.) a los 12 días.

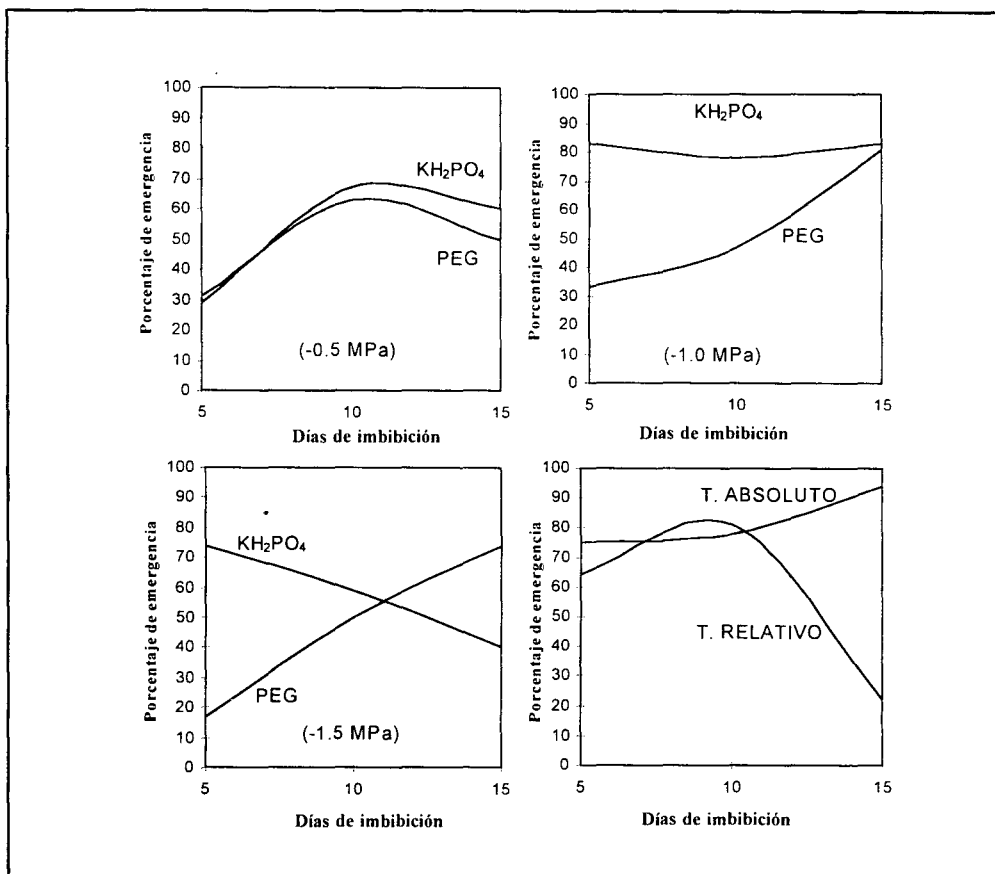


Figura 4. Tendencia del porcentaje de emergencia de plántulas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.) a los 17 días.

La evaluación del porcentaje de emergencia a los 17 días indica que no hay relación directa entre los porcentajes de germinación y los porcentajes de emergencia obtenidos con semillas osmoinizadas. Sin embargo existe relación entre los porcentajes de emergencia con el número de semillas sin tratamiento sembradas.

A los 21 días no se presentó incremento en el porcentaje de emergencia respecto a la evaluación realizada a los 17 días. (Figura 5).

Szafirowska *et al.* (1981), afirman que la ganancia en el tiempo y en el porcentaje de emergencia, así como la uniformidad en las plántulas de semillas de vegetales y flores osmoinizadas con PEG, es buena en condiciones de invernadero. Sin embargo

en el presente trabajo no se observaron estas características con dicho producto, aunque sí se observaron con el  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en el porcentaje de emergencia, siendo menor que en el testigo relativo y que en el testigo absoluto.

Finalmente, la evaluación realizada a los 21 días de emergencia indica que el testigo absoluto mostró mayores porcentajes de emergencia y mayor uniformidad en la población. Las semillas tratadas con  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , con PEG (6000) y con agua destilada fueron consistentes en los menores porcentajes de emergencia frente a los obtenidos con el testigo absoluto, en parte, por el posible deterioro de las semillas, la posible pérdida de viabilidad y la falta de oxígeno, ocurridos durante el experimento.

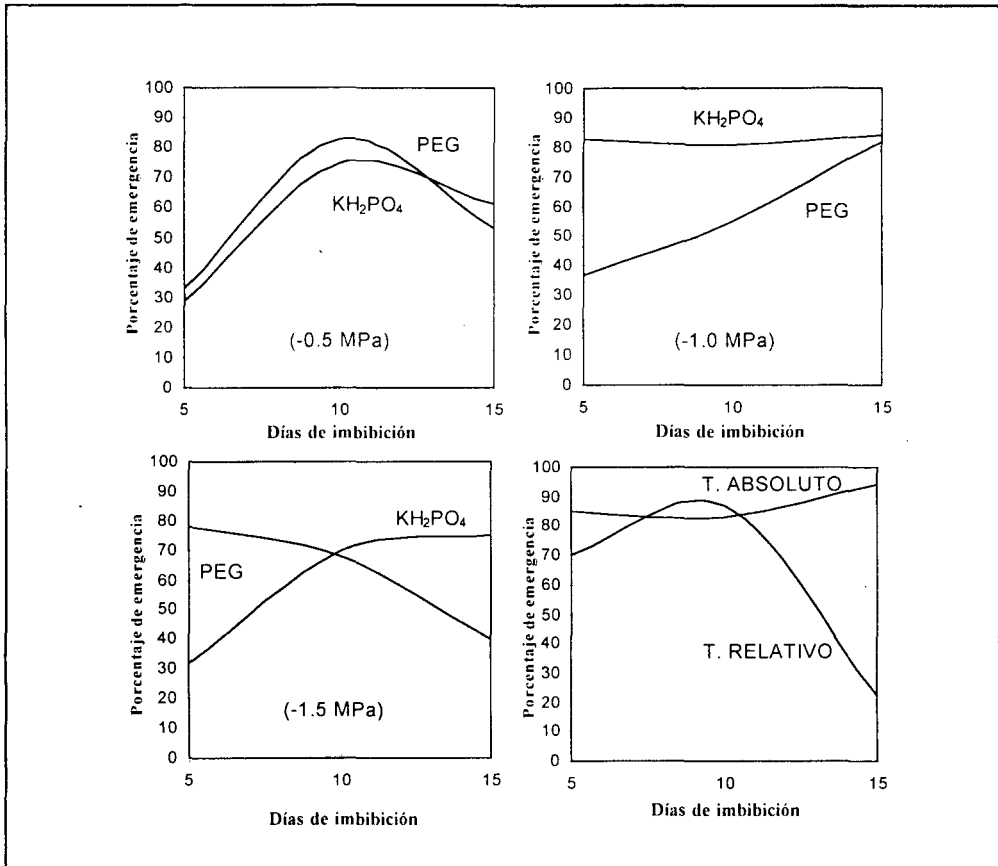


Figura 5. Tendencia del porcentaje de emergencia de plántulas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.), a los 21 días.

### Longitud de raíces

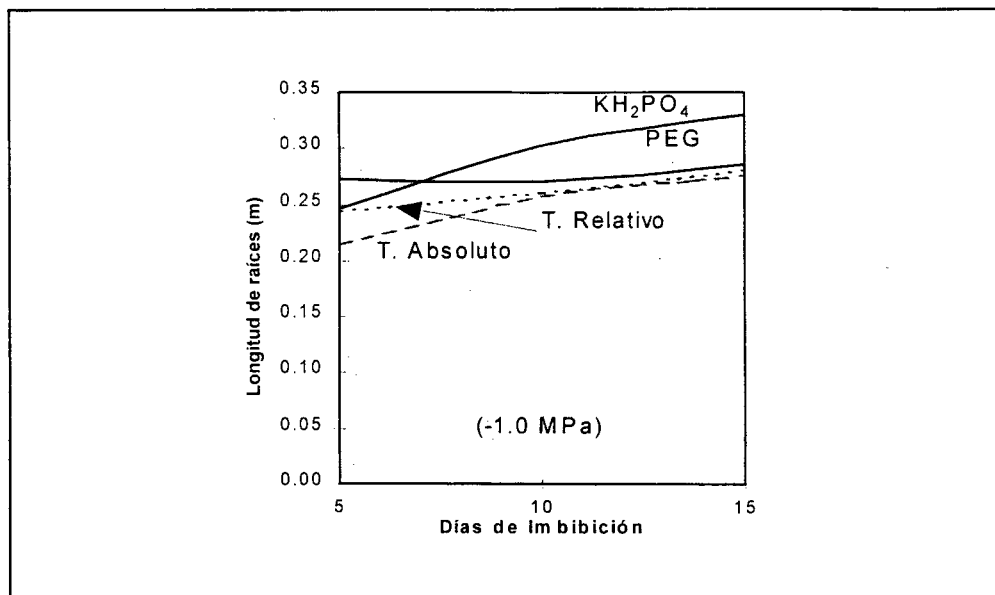
La tendencia lineal indica que imbibiendo semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) en KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> a un potencial osmótico de -1,0 MPa durante 15 días, se tiene un máximo de respuesta en la longitud de raíces (330 mm). Los testigos mostraron promedios inferiores o al menos similares al PEG (6000). (Figura 6).

Según lo expuesto por Frett *et al.* (1991), la absorción diferencial del K<sup>+</sup> y el H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, durante la imbibición de la semilla posiblemente sea la causa para que se presente una mayor respuesta en la longitud de raíces, porque se pudieron incrementar las reservas nutricionales con lo cual emergió más rápido la radícula y comenzó a explorar

el sustrato. La absorción de solutos del H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> unidos a iones como el potasio, es rápida cuando el pH se aproxima a 7,0 (Salisbury y Ross, 1994), ya que en el citosol la ionización del H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> se realiza a medias porque las cantidades de formas divalentes (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>) y formas monovalentes (HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) son casi iguales.

### Altura de planta

El análisis de varianza indica que no existen diferencias significativas entre los productos utilizados para la osmoindicación de las semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) y los testigos relativo y absoluto. El promedio de altura de planta se incrementó con los días de imbibición en todos los casos. La tendencia cuadrática muestra que con 5 días



**Figura 6.** Tendencia de la longitud de raíces de plántulas provenientes de semillas de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.) osmoinciadas.

de imbibición se presenta un máximo de respuesta con el  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a un potencial osmótico de  $-1,5$  MPa con  $248,3$  mm de altura. Los tratamientos de osmoinciación y los testigos, parecen no tener incidencia en la altura de planta.

### Número de hojas

El análisis de varianza indica que no hay diferencias significativas entre los tratamientos utilizados para la osmoinciación de las semillas ni entre los testigos absoluto y relativo.

### Diámetro del bulbo

Los días de imbibición mostraron alta significancia con la tendencia lineal creciente y un máximo de respuesta con 15 días de imbibición, pero entre productos no se presentaron diferencias significativas. El mayor diámetro se obtuvo con PEG (6000) a un potencial osmótico de  $-1,5$  MPa (81 mm), en tanto que el  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  presentó su máxima respuesta con  $-1,0$  MPa (79 mm). Los testigos relativo y absoluto fueron inferiores a los tratamientos. (Figura 7).

Probablemente no se encontraron diferencias en el promedio de bulbo con los tratamientos porque el comienzo de la formación de bulbo está caracterizado por una rápida elongación de las hojas debido a un ensanchamiento en la base de la vaina foliar (Brewster, 1977), y como se vió anteriormente no hubo diferencias significativas ni en la altura, ni en el número de hojas.

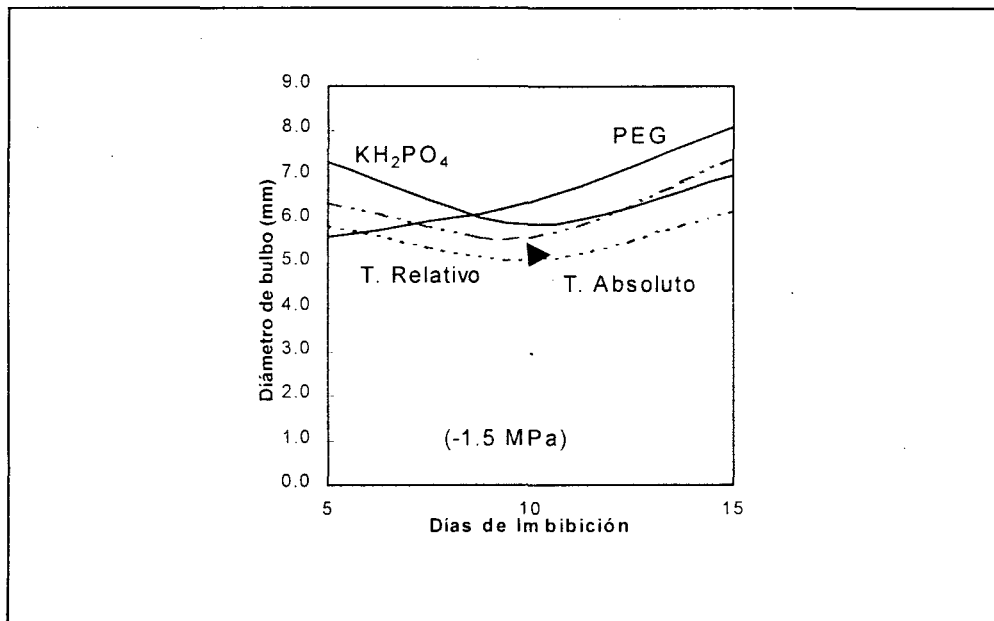
### Peso fresco

Los tratamientos de osmoinciación en las semillas de cebolla (*Allium cepa* L.) no presentaron diferencias significativas con el uso de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , ni con PEG (6000), según lo muestra el análisis de varianza. Se presentaron diferencias significativas entre días de imbibición con un máximo de respuesta en el peso fresco (4,07 g) con 5 días de imbibición de las semillas. Los promedios de peso fresco fueron inferiores con el uso de ambos productos frente a los testigos.

### Peso seco

El análisis de varianza indica que no hay diferencias entre los productos utilizados para la osmoinciación de las semillas.





**Figura 7.** Tendencia del promedio de diámetro de bulbo de plantas de cebolla (*Allium cepa* L.)

Se presentaron diferencias altamente significativas solamente entre los tiempos de imbibición. La tendencia lineal significativa muestra que con 5 días de imbibición de las semillas, el promedio de peso seco es mayor con el uso de ambos productos a un potencial osmótico de -1,5 MPa con 0,38 g ( $KH_2PO_4$ ) y 0,39 (PEG 6000). El peso seco máximo obtenido con el testigo absoluto fue de 0.31 g, mientras que el testigo relativo arrojó 0.23 g con 15 días de imbibición. En este experimento no se encontró una relación directa entre el peso seco y los tratamientos de osmo-iniciación debido a que las condiciones nutricionales fueron homogéneas, lo que lleva a pensar que la osmo-iniciación no favorece la toma y translocación de nutrientes del sustrato.

## BIBLIOGRAFIA

**ALVARADO, A. D. AND K. J. BRADFORD.** 1988. Priming and storage of tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds. I. Effects of storage temperature on germination rate and viability. *Seed Sci. & Technol.* 16: 601 - 612.

**ARJONA, H.E.** 1991. El cultivo de cebolla de bulbo (*Allium cepa* L.). Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. Bogotá. (Mimeografiado).

**BARCELO C. J.** 1987. Fisiología Vegetal. Pirámide. Madrid, España.

**BESNIER R., FERNANDO.** 1989. Semillas. Biología y Tecnología. Mundi - Prensa. Madrid, España.

**BREWSTER, J. L.** 1977. The physiology of the onion. *Horticultural abstracts.* 47: (17 - 112).

**BROCKLEHURST, P. A.; J. DEARMAN; R.L.K., DREW.** 1987. Recent development in osmotic treatment of vegetable seeds. *Acta Horticulturae.* 215: 193 - 200.

**BUJALSKI, W.; A. W. NIENOW.** 1991. Large scale osmotic priming of onion seeds: a comparison of different strategies for oxygenation. In: *Scientia Horticulturae.* 46: 13 - 23.

**CLAVIJO, P.J.** 1994. Metabolismo de los nutrientes en las plantas. En: Fertilidad de Suelos. Diagnóstico y Control. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Bogotá.

**FRETT, J.J.; W.G. PILL; D.C. MORNEAU.** 1991. A comparison of priming agents for tomato and asparagus seeds. Hort Science 26 (9): 1158 - 1159.

**FUENTES, C. L. Y G. A. PLAZA.** 1992. Una aproximación al manejo de malezas en cultivos hortícolas de clima frío. En: Primer Curso Nacional de Hortalizas de Clima Frío. Conferencias. Instituto Colombiano Agropecuario. Subgerencia de Investigación. División Producción de cultivos. Sección Nacional de Hortalizas. Centro de Investigación Tibaitatá. Mosquera (Cundinamarca).

**GRAY, D.; R.L.K. DREW; W. BUJALSKI AND A. W. NIENOW.** 1991. Comparison of polyethylene glycol polymers betaine and L- proline for priming vegetable seeds. Seed Sci. & Technol. 19: 581 - 590.

**HEYDECKER, W. AND P. COOLBEAR.** 1977. Seed treatments for improved performance - survey an attempted prognosis. In: Seed Science and Technology. 5:353 - 425.

**MEXAL, J.; J.T. FISHER, J. OSTERYOUNG AND P. C. P. REID.** 1975. Oxygen availability in polyethylene glycol solutions and its implications in plant water relations. Plant Physiol. 55: 20 - 24.

**SALISBURY, F. B. Y C. W. ROSS.** 1994. Fisiología Vegetal. Iberoamericana. 1994.

**SAXENA, O.P.; GITA SINGH.** 1987. Osmotic priming studies in some vegetable seeds. Acta Horticulturae. 215: 201 - 207.

**SZAFIROWSKA, A; A. A., KHAN; N. H. PECK.** 1981. Osmoconditioning of carrot seeds to improve seedling establishment and yield in cold soli. Agronomy Journal. 73:845 - 848.