

Efecto del precondicionamiento salino en semillas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) sobre la emergencia y crecimiento en la fase plantular

Effect of salt preconditioning on sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds on emergence and plantlet growth

G. García y R. Valera

Departamento de Ciencias Biológicas, Decanato de Agronomía, Núcleo Héctor Ochoa Zuleta, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Agronomía. Final Av. La Ribereña, redoma Agua Viva. Sector Tarabana, Estado Lara, Venezuela. AP 400.

Resumen

Se aplicó un tratamiento pregerminativo con NaCl en semillas de pimentón para evaluar el efecto de precondicionamiento al estrés salino en la emergencia y crecimiento juvenil. Se colocaron 100 semillas en NaCl a 50 mM (pretratadas) y 200 semillas en agua (no pretratadas) durante 24 horas, luego fueron secadas y sembradas en recipientes con sustrato; el grupo de semillas pretratadas y 100 no pretratadas, recibieron un riego interdiario con NaCl (50 mM) durante 20 días, y las 100 semillas restantes se regaron con agua (testigo). El tratamiento pregerminativo disminuyó el efecto adverso de la salinidad sobre el porcentaje de emergencia, la altura de planta y acumulación de biomasa seca en la fase juvenil, en comparación al grupo proveniente de semillas no pretratadas.

Palabras clave: salinidad, precondicionamiento, pimentón.

Abstract

A pre-germinative treatment with NaCl on sweet pepper seeds was used to evaluate the pre-conditioning effect to saline stress on emergence and juvenile growth. One hundred seeds were immersed in NaCl 50 mM (pre-treated) and 200 seeds in water (no treated) during 24 h, dried and potted. Pre-treated seed group and 100 seeds from no treated group were watered at one day interval with NaCl (50 mM) during 20 d while the rest of 100 seeds were watered just with water (control). Pre-germinative treatment diminished adverse effect of salinity on emergence percentage, plant height and dry biomass accumulation during juvenile phase, comparing to no pre-treated seed group.

Key words: salinity, pre-conditioning, sweet pepper.

Recibido el 22-11-2012 • Aceptado el 30-6-2014

Autor de correspondencia e-mail: grisalygarcia@ucla.edu.ve

Introducción

La salinidad es uno de los principales factores que limitan la producción agrícola a nivel mundial, dado que la mayoría de las plantas cultivadas son sensibles a las sales, las cuales provocan dos efectos adversos fundamentales: el efecto osmótico que generan en el medio de crecimiento, desencadenando una condición de déficit hídrico en la planta y el efecto iónico específico, que incluye la toxicidad iónica y los desbalances nutricionales (Bartels y Sunkan, 2005). Producto del desequilibrio metabólico originado por dichos efectos, podría ocurrir además el estrés oxidativo, el cual se inicia con la proliferación de especies reactivas de oxígeno, conocidos comúnmente como radicales libres (Munns y Tester, 2008).

Se ha encontrado que tratamientos pregerminativos sobre las semillas con diferentes tipos de sales, indujeron un efecto de precondicionamiento a la salinidad, cuando las plantas crecieron sometidas a dicho estrés (Killian y Villagra, 2005; Bakht *et al.*, 2011). Amzallag (2002) ha determinado que la pre-exposición a un nivel moderado de sales durante el período de latencia del embrión en la semilla, podría inducir el incremento de tolerancia al estrés salino en las fases sucesivas de crecimiento, mediante la activación de procesos relacionados con la capacidad de ajuste osmótico, con la absorción y selectividad de iones y/o con la respuesta antioxidante. Este efecto de precondicionamiento al estrés salino, fue observado por Sivritepe *et al.* (2005) en plantas de melón provenientes de semillas embebidas en una solución de NaCl, las cuales mostraron mejoras en

Introduction

Salinity is one of the main factors that limit agricultural production worldwide, since the majority of cultivated plants are sensitive to salts, which cause two adverse effects: the osmotic effect generated in the growth medium, triggering a condition of water shortage in the plant and the specific ion effect, which includes ion toxicity and nutritional imbalances (Bartels and Sunkan, 2005). Due to the metabolic imbalance caused by these effects, there could also be further oxidative stress, which begins with the proliferation of reactive oxygen species, commonly known as free radical (Munns and Tester, 2008).

It has been found that pretreatment on the seeds with different types of salts, induced a preconditioning effect to salinity when plants grew under such stress (Killian and Villagra, 2005; Bakht *et al.*, 2011). Amzallag (2002) has determined that the pre-exposure to a moderate level of salts during the latency period of the embryo in the seed, could induce the increase in tolerance to saline stress in the successive stages of growth, through the activation of processes related to osmotic adjustment capability, with the absorption and ion selectivity and/or with the antioxidant response. This preconditioning effect to salt stress, was observed by Sivritepe *et al.* (2005) in melon plants from seeds embedded in NaCl solution, which showed improvements in different variables of growth, stomatal conductivity and the accumulation of calcium and potassium, in comparison to plants from not salty seeds to be subjected to salinity conditions.

distintas variables de crecimiento, en la conductividad estomática y en la acumulación de calcio y potasio, en comparación a plantas procedentes de semillas no salinizadas al ser sometidas a condiciones de salinidad.

En plantas de maíz también se ha evidenciado un menor grado de sensibilidad a las sales, al aplicar un tratamiento pregerminativo con NaCl en las semillas, detectando mayor altura de planta, área foliar, biomasa fresca y seca en las plantas desarrolladas a partir de semillas tratadas, respecto a las plantas provenientes de semillas no salinizadas; estos resultados fueron relacionados con la mayor acumulación de prolina, ABA (ácido abscísico) y en la concentración de K⁺, en el primer grupo de plantas (Bakht *et al.*, 2011).

El pimentón es un cultivo de importancia hortícola en el estado Lara, específicamente en la región de Quíbor en donde se presentan problemas de salinidad, tanto en el suelo como en el agua de riego (Villafañe *et al.*, 1999), por lo que se requiere de prácticas de manejo que aminoren el efecto adverso de las sales sobre las plantas. Con base en los antecedentes antes mencionados, se evaluó el efecto de preacondicionamiento al estrés salino en semillas de pimentón (*Capsicum annuum* L.), mediante la aplicación de un tratamiento pregerminativo con NaCl, a fin de disminuir el grado de sensibilidad ante las sales de las plantas sometidas a condiciones de salinidad.

Materiales y métodos

Un grupo de 100 semillas de pimentón (var. Capistrano) fue colocado

In corn plants has also been evidenced a lower degree of sensitivity to the salts, when applying a pregerminative treatment with NaCl in the seeds, detecting higher plant height, leaf area, fresh and dried biomass in the plants developed from treated seeds, regarding the plants from not salty seeds; these results were related to a greater accumulation of proline, ABA (abscisic acid) and in the K concentration in the first group of plants (Bakht *et al.*, 2011).

The pepper is a crop of horticultural importance in Lara state, specifically at Quíbor where there are problems of salinity, both in the ground and in the irrigation water (Villafañe *et al.*, 1999), thus management practices are required to ease the adverse effect of salts in the plants. Because of the latter, the preconditioning effect to saline stress in sweet pepper seeds (*Capsicum annuum* L.) was evaluated, through the implementation of a pretreatment with NaCl, in order to decrease the degree of sensitivity to the salts of the plants subjected to salinity conditions.

Materials and methods

A group of 100 pepper seeds (var. Capistrano) was placed in Petri dishes with a NaCl solution at a concentration of 50 mm, with an electrical conductivity (EC) of approximately 5 dS.m⁻¹ for 24 hours (treated seeds) and 200 other seeds were placed in distilled water (non-seed pretreatment), after which were dried with absorbent paper and maintained for 48 hours at room temperature (25°C) and darkness. Subsequently, the group of 100 NaCl

en placas de Petri con una solución de NaCl a una concentración de 50 mM, con una conductividad eléctrica (CE) aproximada de 5 dS.m⁻¹ durante 24 horas (semillas pretratadas) y otras 200 semillas se colocaron en agua destilada (semillas no pretratadas), después de lo cual se secaron con papel absorbente y se mantuvieron por 48 horas a temperatura ambiente (25°C) y oscuridad. Posteriormente, el grupo de 100 semillas pretratadas con NaCl fue distribuido en cuatro repeticiones de 25 semillas y sembrado en recipientes de 20 x 10 x 4 cm, con perforaciones en su base y contenidos de un sustrato compuesto por arena y fibra de coco, aplicando un riego interdiario con una solución de NaCl (50 mM) durante 20 días bajo condiciones de umbráculo. Las semillas no pretratadas se separaron en dos grupos de 100 cada uno y fueron distribuidas y sembradas como se mencionó anteriormente; un grupo fue regado con solución salina y el otro grupo con agua destilada (testigo). Se estableció un diseño de parcelas divididas, determinando el porcentaje de emergencia de plántulas a los siete días y al finalizar los tratamientos (20 días) se midió la altura de planta, la biomasa fresca y seca. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de medias de Tukey al 5% mediante el programa Statistix 8.0.

Resultados y discusión

El porcentaje de emergencia de plántulas de pimentón fue mayor en el tratamiento testigo, respecto a los grupos sometidos a estrés salino; bajo estas condiciones de salinidad, se ob-

pre-treated seeds was distributed in four replicates of 25 seeds, and sown in 20 x 10 x 4 cm containers, with perforations at the base and contents of a substrate composed of sand and coconut fiber, irrigating every other day with a NaCl solution (50 mM) for 20 days under greenhouse conditions. Non-pretreated seeds were separated into two groups of 100 each and were distributed and planted as mentioned above; a group was irrigated with saline solution and the other group with distilled water (control). A split-plot design was established, determining the seedling emergence percentage within seven days, and at the end of the treatments (20 days) the heights of the plant, the fresh and dry biomass were measured. A variance analysis and a mean Tukey test 5% using the Statistix 8.0 program were performed.

Results and discussion

The seedling emergence percentage of pepper was higher in the control treatment, regarding the groups subjected to saline stress; under these salinity conditions it was seen that the seedling emergence of seed pretreatment with NaCl exceeded 16% of those not treated. The latter showed that even when the irrigation with saline solution affected the emergency phase of the pepper, this adverse effect was lower in the seeds that received the pregerminative treatment with NaCl (figure 1).

Similar results were observed by Amjad *et al.* (2007), when applying a pregerminative treatment with NaCl (170 mm) in pepper seeds and later, growing under saline conditions (7

servó que la emergencia de las plántulas a partir de semillas pretratadas con NaCl superó en un 16% a aquellas no pretratadas. Lo anterior evidenció que aun cuando el riego con solución salina afectó la fase de emergencia del pimentón, este efecto adverso fue menor en las semillas que recibieron el tratamiento pregerminativo con NaCl (figura 1).

Resultados similares observaron Amjad *et al.* (2007), cuando aplicaron un tratamiento pregerminativo con

dS.m⁻¹) showed higher emergency percentage than seeds without pre-treatment conditions. Unlike the above, Killian and Villagra (2005) found that the pre-incubation of carrot seeds in a KCl solution (540 mm) and NaCl (340 mm), had an adverse effect on it, which presented a lower emergency percentage when subjected to saline conditions (NaCl 50 mm and 100 mm) than the seeds not previously embedded in salts. The different results suggest the importance of

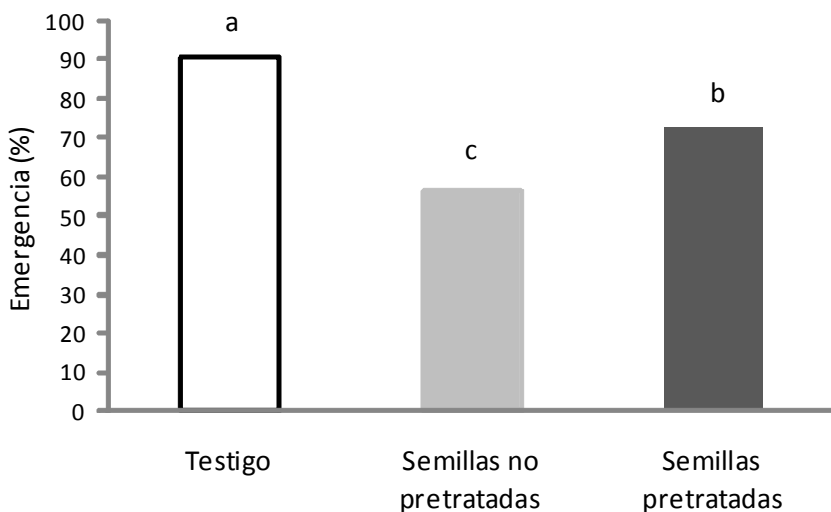


Figura 1. Porcentaje de emergencia de plántulas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) provenientes de semillas no pretratadas y regadas con agua destilada (testigo), semillas no pretratadas y regadas con NaCl y semillas pretratadas y regadas con NaCl. Letras distintas indicaron diferencias estadísticas entre tratamientos según Prueba de Tukey (P<0,05).

Figure 1. Seedling emergence percentage of pepper (*Capsicum annuum* L.) from non-pretreated seeds and watered with distilled water (control), non-pretreated seeds and irrigated with NaCl and treated seeds irrigated with NaCl. Different letters indicated statistical differences among treatments according to Tukey test (P<0.05).

NaCl (170 mM) en semillas de pimentón y posteriormente, al crecer bajo condiciones salinas ($7 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$) mostraron mayor porcentaje de emergencia que las semillas sin tratar previamente. A diferencia de lo anterior, Killian y Villagra (2005) encontraron que la incubación previa de semillas de zanahoria en una solución de KCl (540 mM) y NaCl (340 mM), produjo un efecto adverso en las mismas, las cuales presentaron un porcentaje de emergencia menor al ser sometidas a condiciones salinas (NaCl 50 mM y 100 mM) que las semillas no embebidas previamente en sales. Los diferentes resultados sugieren la importancia de evaluar el tipo de solución osmótica que se utiliza para estimular un efecto de precondicionamiento, su concentración, así como el tiempo del tratamiento pregerminativo.

La condición de estrés salino provocó la reducción en la altura de planta de ambos tratamientos respecto al testigo, aunque de manera más severa en aquellas plantas provenientes de semillas no salinizadas previamente, las cuales alcanzaron un 30% menos que el testigo, mientras que las plantas emergidas a partir de semillas salinizadas solo disminuyeron 10% (figura 2).

Amjad *et al.* (2007) observaron un efecto favorable del tratamiento salino pregerminativo en semillas de pimentón, reflejado en una mayor altura de planta que aquellas provenientes de semillas no tratadas, cuando éstas crecieron en condiciones salinas. De manera similar, las semillas de zanahoria (Killian y Villagra, 2005) y maíz (Bakht *et al.*, 2011) han respondido a este efecto de

evaluando el tipo de solución osmótica que se utiliza para estimular un efecto de precondicionamiento, su concentración, así como el tiempo de pregerminación.

The condition of saline stress led to a reduction in the plant height of both treatments compared to the control, though more severe in those plants from non salinized seeds, which reached 30% less than the control, while plants germinated from salinized seeds only decreased 10% (figure 2).

Amjad *et al.* (2007) observed a favorable effect of saline pregerminative treatment in pepper seeds, showed in a higher plant height than those from non-treated seed, when these grew in saline conditions. Similarly, carrot seeds (Killian and Villagra, 2005) and corn (Bakht *et al.*, 2011) have responded to this preconditioning saline effect, given that the plants have developed greater height when submitted to saline conditions, compared to plants derived from untreated seeds with salts previously.

The fresh biomass was affected by salt stress; the group previously treated with NaCl as the non-treated, presented approximately 60% less fresh biomass regarding the plants of the control treatment (figure 3). In terms of the dry biomass, differences were found between the plants from pre-conditioned and salt-free seeds; the first group only reduced 20% the dry biomass accumulation compared to the control, while the second group reduced 80%, showing a higher sensitivity degree (figure 4).

In relation to the fresh biomass, Amjad *et al.* (2007) found that under saline conditions, pepper plants derived

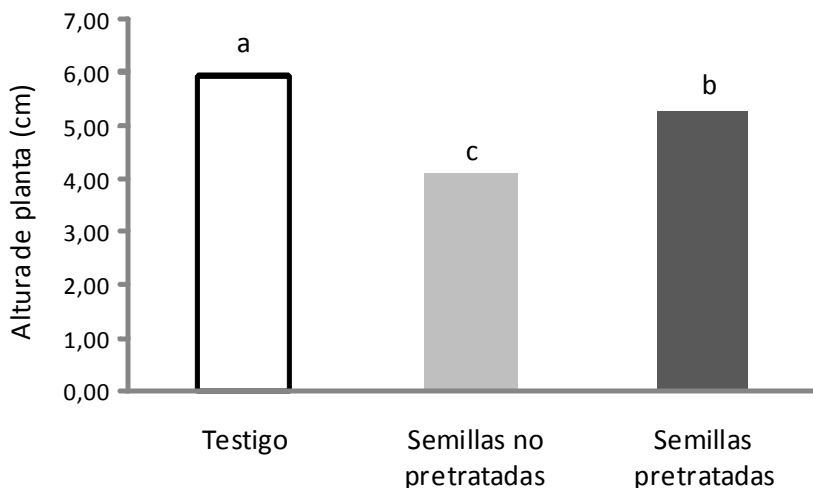


Figura 2. Altura de plantas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) provenientes de semillas no pretratadas y regadas con agua (testigo), semillas no pretratadas y regadas con NaCl y semillas pretratadas y regadas con NaCl. Letras distintas indicaron diferencias estadísticas entre tratamientos según Prueba de Tukey ($P<0,05$).

Figure 2. Plant height of pepper (*Capsicum annuum* L.) from non-pretreated seeds and irrigated with water (control), non-pretreated seeds and irrigated with NaCl and treated seeds and irrigated with NaCl. Different letters indicated statistical differences among treatments according to Tukey test ($P<0.05$).

preacondicionamiento salino, dado que las plantas han desarrollado mayor altura cuando se sometieron a condiciones salinas, en comparación a las plantas derivadas de semillas no tratadas con sales previamente.

La biomasa fresca fue afectada por el estrés salino; tanto el grupo tratado previamente con NaCl, como los no tratados, presentaron aproximadamente 60% menos de biomasa fresca respecto a las plantas del tratamiento testigo (figura 3). En cuanto a la biomasa seca, se detectaron diferencias

from not previously salinized seeds exceeded those treated with salts, while the dry biomass showed no differences between the two groups of plants. The biggest fresh biomass in the plants originated from seeds pretreated with salt, this might show the aptitude to accumulate major water content, possibly for the activation of osmotic adjustment mechanisms (Amzallag, 2002). Even when in this investigation this trend was not observed, it would be possible to see in case of extending saline stress. In corn plants, both the

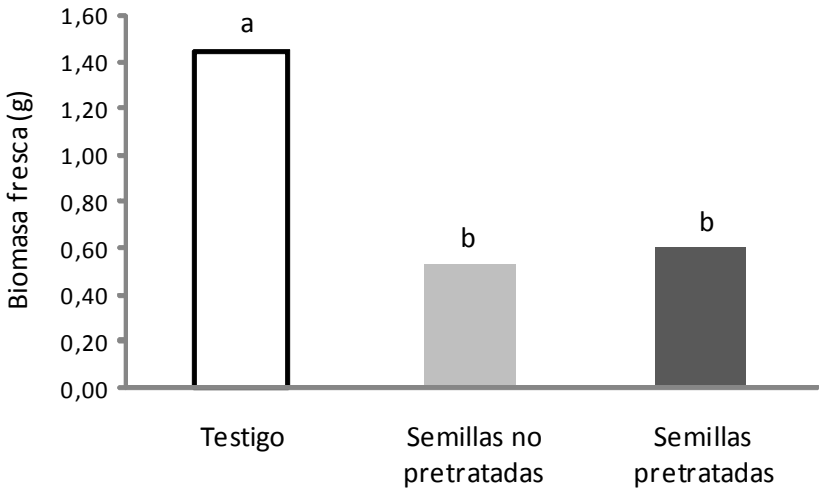


Figura 3. Biomasa fresca de plantas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) provenientes de semillas no pretratadas y regadas con agua (testigo), semillas no pretratadas y regadas con NaCl y semillas pretratadas y regadas con NaCl. Letras distintas indicaron diferencias estadísticas entre tratamientos según Prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Figure 3. Fresh biomass of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) from non-pretreated seeds and irrigated with water (control), non-pretreated seeds and irrigated with NaCl and treated seeds and irrigated with NaCl. Different letters indicated statistical differences among treatments according to Tukey test ($P < 0.05$).

entre las plantas provenientes de semillas preacondicionadas y no con sales; el primer grupo solo redujo en un 20% la acumulación de biomasa seca en comparación al testigo, mientras que el segundo grupo disminuyó en un 80%, mostrando mayor grado de sensibilidad (figura 4).

Con relación a la biomasa fresca, Amjad *et al.* (2007) encontraron que bajo condiciones salinas, las plantas de pimentón derivadas de semillas no salinizadas previamente, superaron a las que fueron tratadas con sales,

fresh and dry biomasses showed the seed preconditioning effect, reflected in a major accumulation of fresh and dry biomass, regarding plants developed from non-treated seeds with salt (Bakht *et al.*, 2011), showing a similar response to the one observed in pepper plants, at least in the latter variable.

Conclusions

Salinity affected seedling emergence and growth of the juvenile phase from pepper plants coming from

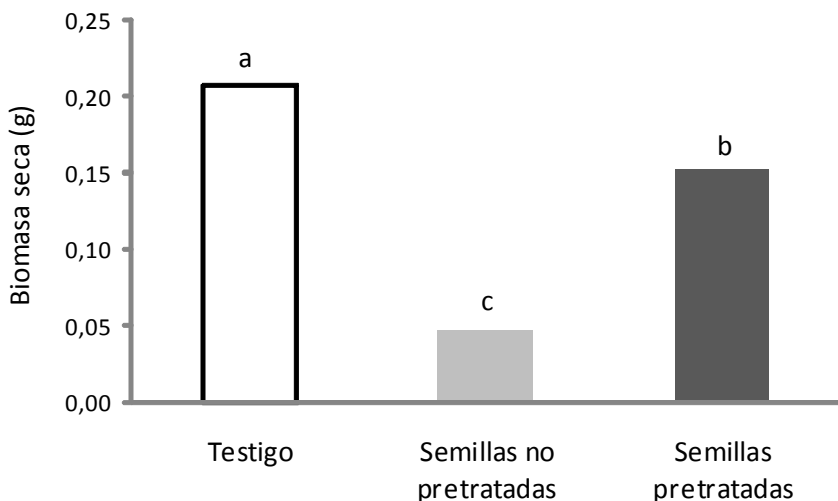


Figura 4. Biomasa seca de plantas de pimentón (*Capsicum annuum* L.) provenientes de semillas no pretratadas y regadas con agua (Testigo), semillas no pretratadas y regadas con NaCl y semillas pretratadas y regadas con NaCl. Letras distintas indicaron diferencias estadísticas entre tratamientos según Prueba de Tukey ($P<0,05$).

Figura 4. Dry biomass of pepper plants (*Capsicum annuum* L.) from non-pretreated seeds and irrigated with water (control), non-pretreated seeds and irrigated with NaCl and treated seeds and irrigated with NaCl. Different letters indicated statistical differences among treatments according to Tukey test ($P<0.05$).

mientras que la biomasa seca no mostró diferencias entre ambos grupos de plantas. La mayor biomasa fresca en las plantas provenientes de semillas pretratadas con sales, podría reflejar la capacidad de acumular mayor contenido hídrico, posiblemente por la activación de mecanismos de ajuste osmótico (Amzallag, 2002). Aun cuando en esta investigación no fue observada esa tendencia, sería posible evidenciarse en caso de prolongar por más tiempo el estrés salino. En plantas de maíz, tanto la biomasa fresca como la

seeds pretreated with NaCl. However, the pregerminative treatment with NaCl in seeds decreased the adverse salinity effect on the seedling emergence percentage, plant height and dry biomass accumulation in the juvenile stage, regarding the group coming from seeds previously untreated with NaCl.

End of english version

seca mostraron el efecto de preacondicionamiento de las semillas,

reflejado en una mayor acumulación de biomasa fresca y seca, respecto a las plantas desarrolladas a partir de semillas no pretratadas con sales (Bakht *et al.*, 2011), mostrando una respuesta similar a la observada en las plantas de pimentón, al menos en esta última variable.

Conclusiones

La salinidad afectó la emergencia de plántulas y el crecimiento de la fase juvenil de plantas de pimentón provenientes o no de semillas pretratadas con NaCl. Sin embargo, el tratamiento pregerminativo con NaCl en las semillas, disminuyó el efecto adverso de la salinidad sobre el porcentaje de emergencia de plántulas, la altura de planta y acumulación de biomasa seca en la fase juvenil, respecto al grupo proveniente de semillas no tratadas previamente con NaCl.

Literatura citada

Amjad, M., K. Ziaf, Q. Iqbal, I. Ahmad, M. Riaz y Z. Ahmad. 2007. Effect of seed priming on seed vigour and salt tolerance in hot pepper. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 44(3):408-416.

Amzallag, G. 2002. The adaptive potential of plant development: evidence from the response to salinity. pp. 291-312. En: *Salinity: Environment- Plant-Molecules*. A. Läuchli and U. Lüttge (Eds.). Kluwer Academia Publishers. Netherlands.

Bakht, J., M. Shafi, Y. Jamal y H. Sher. 2011. Response of maize (*Zea mays* L.) to seed priming with NaCl and salinity stress. *Spanish Journal of Agricultural Research* 9(1):252-261.

Bartels, D. y R. Sunkan. 2005. Drought and salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 24(1):23-58.

Killian, S. y A. Villagra. 2005. Efecto del preacondicionamiento osmótico sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de *Daucus carota* L. *Revista del CIZAS* 6(1 y 2):31-39.

Munns, R. y M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59:651-681.

Sivritepe, H., N. Sivritepe, A. Eri y E. Turhan. 2005. The effects of NaCl pre-treatments on salt tolerance of melons grown under long-term salinity. *Scientia Horticulturae* 106(4):568-581.

Villafañe, R., O. Abarca, M. Aspúrea, T. Ruíz y J. Dugarte. 1999. Distribución espacial de los suelos de Quíbor y su relación con las limitaciones del drenaje y la calidad de agua. *Bioagro* 11(2):43-50.