

## Efecto de la luz y del ácido giberélico en la germinación *in vitro* de *Capsicum annuum* L. cv. 'Papri King'

Angel David Hernández Amasifuen<sup>1\*</sup>, Alexandra Jherina Pineda Lázaro<sup>1</sup>, Hermila Belba Díaz Pillasca<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. Av Mercedes Indacochea N° 609. Huacho. Huaura. Perú. CP 15135

\*Autor para correspondencia e-mail: [adhernandz@hotmail.com](mailto:adhernandz@hotmail.com)

### RESUMEN

En la zona costera de Perú la páprika (*Capsicum annuum* L.) es un cultivo de gran importancia, pero posee un elevado costo de producción debido a que las semillas se germinan en almácigos y se considera esta etapa como crucial. El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de la luz y del ácido giberélico en la germinación *in vitro* de semillas de páprika cv. 'Papri King'. Las semillas se desinfectaron con alcohol 70% por 1 min y luego hipoclorito de sodio (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0%) durante 10 minutos. Para la germinación se colocaron en medio de cultivo MS. Se conformaron tratamientos con la adición de ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) (0.25, 0.5, 1.0 mg l<sup>-1</sup>) y fotoperiodo de 16 horas luz u oscuridad. Se evaluó el porcentaje de contaminación y germinación en la primera y cuarta semana *in vitro* y se midió la altura de las plántulas (cm). Empleando soluciones de hipoclorito de sodio al 1.5% y 2% se logró desinfectar las semillas sin contaminación microbiana. La adición de ácido giberélico y el fotoperiodo de 16 h luz incrementaron la germinación de las semillas. Con 1 mg l<sup>-1</sup> de ácido giberélico y fotoperiodo de 16 horas luz, se logró el mayor porcentaje de germinación (97.8%).

Palabras clave: desinfección, medio de cultivo MS, P prika, semillas

## Effect of light and gibberellic acid on *in vitro* germination of *Capsicum annuum* L. cv. 'Papri King'

### ABSTRACT

In the coastal zone of Peru, paprika (*Capsicum annuum* L.) is a crop of great importance, but it has a high production cost because the seeds are germinated in seedlings and this stage is considered crucial. The objective of the present investigation was to determine the effect of light and gibberellic acid on the *in vitro* germination of paprika seeds cv. 'Papri King'. The seeds were disinfected with 70% alcohol for 1 min and then sodium hypochlorite (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0%) during 10 minutes. For germination it were placed in MS culture medium. Treatments were formed with the addition of gibberellic acid (AG<sub>3</sub>) (0.25, 0.5, 1.0 mg l<sup>-1</sup>) and photoperiod of 16 hours light or dark. The percentage of contamination and germination was evaluated *in vitro* in the first and fourth week and the height (cm) of the seedlings was measured. Using 1.5% and 2% sodium hypochlorite solutions, the seeds were disinfected without microbial contamination. The addition of gibberellic acid and the photoperiod of 16 h light increased the seeds germination. With 1 mg l<sup>-1</sup> gibberellic acid and photoperiod of 16 hours light, the highest germination percentage was achieved (97.8%).

Keywords: disinfection, MS culture medium, Paprika, seeds

### INTRODUCCIÓN

La páprika (*Capsicum annuum* L.) es una planta anual herbácea, perteneciente a la familia *Solanaceae*, y se le atribuye un

agradable sabor, además de poseer gran intensidad de olor y color. De esta manera, el cultivo de páprika es de gran importancia en la zona costera peruana, por su fácil adaptación al clima, lo cual se asocia también

a su calidad (Vilca, 2008; Alarco y Patiño, 2008; Herrera y Seclén, 2017).

En la actualidad Perú se encuentra entre los mayores productores y exportadores de especies del género *Capsicum* a nivel mundial, y se reafirma como el segundo mayor exportador de páprika (AgrodataPeru, 2019). Dentro del gran número de cultivares de páprika que tiene el país, en la costa central peruana se tiene preferencia por la variedad 'Papri King', debido a que posee frutos de hasta 20 cm de longitud con un excelente e intenso color rojo y paredes delgadas que permiten un secado más rápido y sencillo con altos rendimientos por hectárea (Alarco y Patiño, 2008; Valerio, 2016). También, cabe destacar que el costo de producción suele ser muy elevado debido a que las semillas se germinan en almácigos, y esta etapa se considera crucial por ser muy susceptible al ataque de agentes fitopatógenos, lo que conlleva a pérdidas elevadas de no tomarse precauciones (Arias, 2015; Romero, 2018; Hernández *et al.*, 2019).

Otro de los problemas que afecta la producción de páprika es la baja disponibilidad de semilla de calidad a bajos precios, lo cual incrementa los costos de producción y obliga a los productores a utilizar semilla de cultivos anteriores. Normalmente estas semillas han perdido su potencial de producción debido a que son el resultado de polinización cruzada que ocasiona una elevada heterosis en la descendencia (Pech *et al.*, 2010; Arias, 2015).

En la búsqueda de alternativas para la obtención de líneas puras y libres de agentes patógenos, la biotecnología vegetal ha brindado las herramientas con el cultivo de tejidos vegetales, lo que ha permitido un mayor porcentaje de germinación de semillas que suelen ser muy difíciles de germinar o poseen un porcentaje muy reducido en condiciones normales. Además de que estas plántulas se encuentran en un medio de cultivo especial que le proporciona todos los nutrientes que necesita, y como el establecimiento de cultivos *in vitro* es de manera aséptica, permite a las plántulas estar libre de cualquier microorganismo que pueda competir o perjudicarla (Sanatombi y Sharma, 2007).

En condiciones experimentales, la germinación varía según los diferentes parámetros físico-químicos (temperatura, humedad, luz y fitohormonas). El ácido giberélico ( $AG_3$ ) puede

romper la latencia de las semillas y frecuentemente reemplaza la necesidad de estímulos ambientales, tales como luz y temperatura (Hernández, 2004; Valerio, 2016).

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de la luz y del ácido giberélico en la germinación *in vitro* de semillas de páprika (*Capsicum annuum* L.) cv. 'Papri King'.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Escuela Profesional de Biología con mención en Biotecnología, ubicado en la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, Huacho, Lima, Perú.

### *Material vegetal*

Se colectaron las semillas de páprika cv. 'Papri King' de un vivero especializado en cultivo de *Capsicum* a partir de almácigos en la ciudad de Barranca, Lima, Perú. Las semillas fueron lavadas y luego separadas en grupos de 30, las cuales se colocaron en bolsas de gasa y de esta manera fueron trasladadas a la cámara de flujo laminar, donde se les realizó el proceso de desinfección.

### *Desinfección de semillas*

Las semillas fueron sumergidas en solución de alcohol al 70% (v/v) durante un minuto, luego fueron sometidas a cuatro diferentes tratamientos con variaciones en las concentraciones de hipoclorito de sodio (0.5, 1, 1.5 y 2% de NaClO) (v/v), durante 10 minutos en agitación constante. Posteriormente, se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril y finalmente se colocaron tres semillas por tubo de ensayo con medio de cultivo. Este procedimiento se realizó con el fin de establecer un protocolo de introducción de semillas de páprika cv. 'Papri King' a condiciones *in vitro*.

### *Medio de cultivo*

El medio de cultivo empleado consistió en las sales descritas por Murashige y Skoog (1962), con 25 g l<sup>-1</sup> de sacarosa, 7 g l<sup>-1</sup> de agar agar y 1 ml l<sup>-1</sup> de Tiamina, ajustado a un pH de 5.8. Luego se esterilizó en autoclave a una presión de 1.2 bar a 121 °C durante 20 minutos.

### *Establecimiento in vitro*

Se evaluaron ocho tratamientos con diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) y fotoperiodo (Tabla 1). Todos los tratamientos fueron colocados en una cámara de crecimiento a una temperatura constante de 25 °C, con 75% de humedad e intensidad lumínica de 1500 lux.

### *Diseño experimental, variables medidas y análisis estadístico*

El experimento fue desarrollado en un diseño completamente al azar con arreglo factorial (4x2) para estudiar los ocho tratamientos de los cuales se establecieron treinta repeticiones.

Las variables que se evaluaron fueron el número de semillas contaminadas y el número de semillas germinadas. Con estos valores se calculó el porcentaje de contaminación y el porcentaje de germinación después de una y cuatro semanas de cultivo. Además, se midió la altura (cm) de las plántulas a las 4 semanas de cultivo.

Los datos obtenidos fueron analizados con el paquete estadístico Agricolae del software R versión (3.6.1), mediante análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias (Tukey,  $p \leq 0.05$ ), previa comprobación de normalidad de los datos y homogeneidad de las varianzas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el proceso de desinfección de las semillas de páprika cv. 'Papri King' los mejores

resultados en la desinfección de las semillas se obtuvieron con los tratamientos 3 (1.5% NaOCl) y 4 (2% NaOCl) sin presencia de contaminantes microbianos ni daños por el desinfectante (Tabla 2). Estos resultados corroboraron la afirmación de Azofeita (2009), de que se puede lograr una buena desinfección del material vegetal utilizando alcohol al 70% y solución de hipoclorito de sodio. Además, no fue necesario el uso de tratamientos fuertes como adicionar fungicidas o cloruro de mercurio, lo cual fue descrito por Sanatombi y Sharma (2007) para la desinfección de semillas de *Capsicum chinense* Jacq. cv. 'Umorok'. Los tratamientos que presentaron contaminación fueron causados por hongos filamentosos.

Tanto la adición de ácido giberélico como el fotoperiodo de 16 h luz incrementaron la germinación *in vitro* de semillas de páprika, con los mayores valores cuando ambos factores se combinaron (tratamientos 4, 6 y 8) con diferencias significativas entre ellos (Tabla 3). Las semillas en el medio de cultivo MS con la máxima concentración ácido giberélico ensayada (1 mg l<sup>-1</sup>) que se encontraban con fotoperiodo de 16 horas luz fueron las que mostraron mayor porcentaje de germinación, desde la primera semana. A las 4 semanas del establecimiento *in vitro* se alcanzó 97.8% (Tabla 3, Figura 1 a y b). Estos resultados se acercaron a los obtenidos por Sanatombi y Sharma (2007), quienes lograron la germinación *in vitro* de *Capsicum chinense* Jacq. cv. 'Umorok' en total oscuridad. Mientras, Gutierrez-Rosati y Vega (2016), alcanzaron de 96 a 100% de germinación *in vitro* de semillas de 'ají mirasol' (*Capsicum baccatum* cv. 'Pendulum') cuando emplearon soluciones de hipoclorito

Tabla 1. Tratamientos para la germinación *in vitro* de páprika (*Capsicum annuum* L.) cv. 'Papri King'.

Tratamiento	Concentración de AG <sub>3</sub> (mg l <sup>-1</sup> )	Luz (horas)	Oscuridad (horas)
T1	0	0	24
T2	0	16	8
T3	0.25	0	24
T4	0.25	16	8
T5	0.5	0	24
T6	0.5	16	8
T7	1	0	24
T8	1	16	8

AG<sub>3</sub> = ácido Giberélico

de sodio al 2 y 5% en la desinfección y luego las mantuvieron con un fotoperiodo de 16 horas de luz. De tal manera, la luz tiene el efecto de promover el aumento en la concentración de sustancias promotoras de la germinación, siendo requerida en muchas especies (Moreno-Jiménez *et al.*, 2017). En este caso, en el tratamiento donde solo se aplicó fotoperiodo de 16 h luz (tratamiento 2) los resultados fueron superiores a cuando se empleó solo AG<sub>3</sub> (tratamientos 3, 5 y 7). Este regulador del crecimiento se encuentra muy implicado en el control y germinación de gran variedad de especies (Hernández, 2004; Fraile-Robayo *et al.*, 2012; Santacruz *et al.*, 2014; Rodríguez *et al.*, 2016).

Se tiene que resaltar que el alto porcentaje de germinación obtenido fue en solo cuatro semanas a diferencia de Gutierrez-Rosati y Vega (2016) que alcanzaron de 96 a 100% de germinación de ají mirasol, pero después de 10 semanas de la introducción *in vitro* de

las semillas. Por lo tanto, al emplear medio de cultivo MS con ácido giberélico y en fotoperiodo de 16 horas luz, no solo se logró obtener porcentajes altos de germinación, sino también en menor tiempo.

La altura de las plántulas fue mayor en los medios de cultivo en los cuales se adicionó ácido giberélico (Figura 2) y esto fue más notorio en las plántulas germinadas en oscuridad (Figura 1 c). Teniendo en cuenta que el ácido giberélico estimula la germinación *in vitro* de semillas (Rodríguez *et al.*, 2016), promueve la división celular y además la elongación de los entrenudos, las plántulas crecen rápidamente pero al encontrarse en completa oscuridad la plántula crece aún más por su búsqueda de una fuente de luz. En el proceso se puede apreciar que estas plántulas carecen de pigmentación total o parcial. Por ello, las características de las plantas en general fueron superiores en los tratamientos con fotoperiodo de 16 h luz (Figura 1 a y b).

Tabla 2. Efecto del hipoclorito de sodio en la desinfección de semillas de páprika (*Capsicum annuum* L.) cv. 'Papri King'.

Tratamiento	NaClO (%)	Contaminación microbiana (%)
1	0.5	35 a
2	1	12 b
3	1.5	0 c
4	2	0 c

Medias con letras distintas difieren significativamente según prueba de Tukey para  $p < 0.05$

Tabla 3. Efecto de diferentes concentraciones de AG<sub>3</sub> y fotoperiodo en la germinación *in vitro* de semillas de páprika (*Capsicum annuum* L.) cv. 'Papri King', a la primera y cuarta semana de cultivo.

Tratamiento	AG <sub>3</sub> (mg l <sup>-1</sup> )	Luz (h)	Germinación (%)	
			Primera semana	Cuarta semana
T1	0	0	0 e	51.1 d
T2	0	16	4.4 d	71.1 c
T3	0.25	0	4.4 d	53.3 d
T4	0.25	16	6.7 c	75.6 c
T5	0.5	0	6.7 c	53.3 d
T6	0.5	16	8.9 b	82.2 b
T7	1	0	6.7 c	55.6 d
T8	1	16	15.6 a	97.8 a

Medias con letras distintas por columnas difieren significativamente según prueba de Tukey para  $p < 0.05$



Figura 1. Plántulas de páprika (*Capsicum annuum* L.) cv. 'Papri King' originadas de semillas germinadas *in vitro* en medio de cultivo MS. a y b: con adición de ácido giberélico y fotoperiodo de 16 horas luz. c: oscuridad.

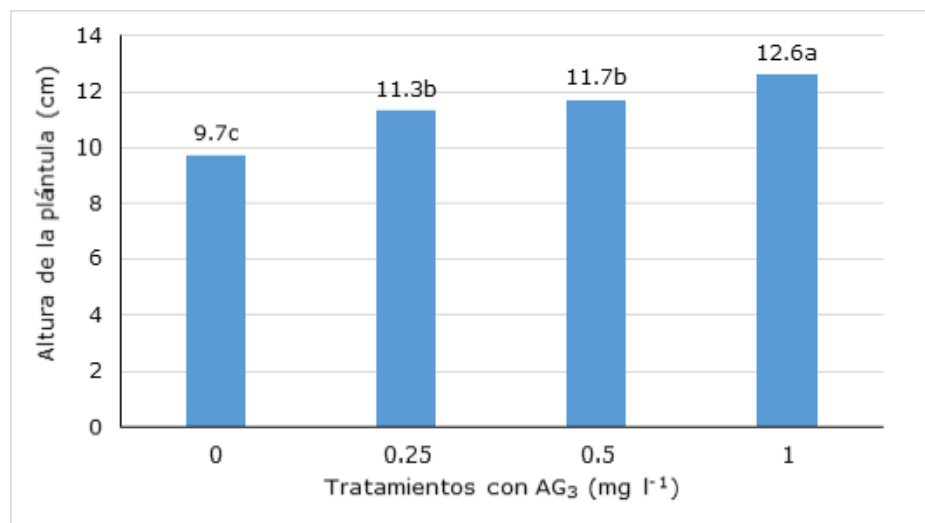


Figura 2. Efecto del AG<sub>3</sub> en la altura de plántulas de páprika cv 'Papri King'. Letras diferentes sobre barras indican diferencias significativas (Tukey  $\leq 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

La presente investigación demostró que la adición de ácido giberélico en el medio cultivo MS y fotoperiodo de 16 horas luz favorecen la germinación *in vitro* de semilla de páprika cv. 'Papri King'. Con fotoperiodo de 16 h y 1 mg l<sup>-1</sup> se puede obtener 97.8% de germinación en cuatro semanas.

### Conflicto de interés

Los autores no declaran conflictos de intereses.

## REFERENCIAS

AgrodataPer  (2019) Plan de desarrollo sostenible de las especies del género *Capsicum* 2018-2028. Disponible en: <https://www.agrodataperu.com/2019/01/paprika-entera-peru-exportacion-2018-diciembre.html>. Consultado 07/10/19

Alarco C, Patiño R (2008) Evaluación de calidad y rendimiento en la extracción y caracterización de oleoresina de aj  paprika (*Capsicum annuum* L.): Papriking y Sonora. Tesis de ingeniería, Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo, Perú

- Arias R (2015) Identificación, incidencia y ocurrencia poblacional de enfermedades encontradas en dos variedades de pimiento (*Capsicum annuum* L.) para agroexportación en la irrigación de Santa Rita de Sigwas durante los meses de octubre 2008 a mayo 2009. Tesis para Bachiller. Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa, Perú
- Azofeifa A (2009) Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes *in vitro*. *Agronomía mesoamericana* 20(1): 153-175
- Fraile-Robayo AL, Álvarez-Herrera JG, Deaquiz-Oyola YA (2012) Efecto de las giberelinas en la propagación de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) bajo diferentes sustratos enriquecidos con fertilizante. *Revista colombiana de ciencias hortícolas* 6(1): 41-54
- Gutierrez-Rosati A, Vega B (2016) Micropropagación *in vitro* de ají mirasol, *Capsicum baccatum* var. *Pendulum*. *The Biologist* 14(2): 171-181
- Hernández A, Pineda A, Noriega-Córdova H (2019) Aislamiento e identificación de *Fusarium oxysporum* obtenidos de zonas productoras de ají paprika *Capsicum annum* L. (*Solanaceae*) en el distrito de Barranca, Perú. *Arnaldoa* 26(2): 689-698; doi: 10.22497/arnaldoa.262.26211
- Hernández SV (2004) Efecto de la luz, temperatura y ácido giberélico sobre la germinación de semillas de poblaciones de chiles silvestres. Tesis de Ingeniería. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacan, Sinaloa, México
- Herrera O, Seclén M (2017) Formulación de un condimento utilizando ajíes paprika (*Capsicum annuum* L. var *longum*), amarillo (*Capsicum baccatum*) y rocoto (*Capsicum pubescens*). Tesis de ingeniería, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú
- Moreno-Jiménez AM, Loza-Cornejo S, Ortiz-Morales M (2017) Efecto de luz LED sobre semillas de *Capsicum annuum* L. var. *Serrano*. *Biotecnología Vegetal* 17(3): 145 -151
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology Plant* 15: 473-497
- Pech AM, Castañón G, Tun JM, Mendoza M, Mijangos J, Pérez A, Latournerie L (2010) Efectos heteróticos y aptitud combinatoria en poblaciones de chile dulce (*Capsicum annuum* L.). *Rev Fitotec Mex* 33(4): 353–360
- Rodríguez M, Hormazábal N, Araneda X, Tampe J, Lobos V, Castillo C (2016) Efectos del ácido giberélico, bencilaminopurina y fluridona en la germinación *in vitro* de *Ugni molinae* Turcz. (*Myrtaceae*). *Gayana. Botánica* 73(1): 77-84; doi: 10.4067/S0717-66432016000100010
- Romero V (2018) Eficiencia de *Trichoderma viride* como un biocontrolador para *Phytophthora capsici* en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Tesis de ingeniería, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú
- Sanatombi K, Sharma GJ (2007) Micropropagation of *Capsicum annuum* L. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 35: 57-64
- Santacruz F, Castañeda JJ, Gaspar AM, Núñez N, Mora A (2014) Rompimiento de la dormancia en semillas y propagación *in vitro* de *Cordia elaeagnoides* A. DC. *Revista mexicana de ciencias forestales* 5(25): 84-97
- Valerio R (2016) Efecto de la concentración de ácido giberélico en el crecimiento y rendimiento de tres cultivares de pimiento paprika (*Capsicum annuum* L.). Tesis de ingeniería, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú
- Vilca L (2008) Efecto biofertilizante de la endomicorriza *Glomus* spp. en plantas de ají páprika *Capsicum annuum* L. bajo condiciones de invernadero. Tesis de Biología, Universidad Nacional Jorge Basadre Ghohmann, Tacna, Perú

Recibido: 07-03-2019

Aceptado: 22-05-2019

Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC 4.0) <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> Está permitido su uso, distribución o reproducción citando la fuente original y autores.