

## Effect of time of application and amounts of mammalian sex hormone progesterone and gibberellic acid on the growth of *Zinnia elegans*

## Efecto del momento de aplicación y de las cantidades de progesterona de mamíferos y ácido giberélico sobre el crecimiento de *Zinnia elegans*

Shahram Sedaghatthoor\*, Parisa Zakibakhsh-Mohammadi

Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Guilan, C. P. 416793, ISLAMIC REPUBLIC OF IRAN.

\*Corresponding author: sedaghatthoor@yahoo.com, tel. +98 911 339 09 46.

### Abstract

The use of animal sex hormones in plants does not have a long history, but the presence of these hormones in plants has been proven. The aim of the research was to investigate the effects of gibberellic acid and progesterone on growth and development of *Zinnia elegans* flower in a factorial experiment based on a completely randomized design with three factors considering three replications. The first factor included application times (pre-sowing, four-leaf stage and two months after sowing), the second factor was progesterone rates (0, 5 and 10 mg·L<sup>-1</sup>) and three gibberellic acid rates (0, 100, and 200 mg·L<sup>-1</sup>). The measured traits were dry weight and fresh weight of aerial organ and root, number of nodes, number of flowers, number of buds, number of branches and leaves, the distance from the crown to the first leaf, the distance from the crown to the first branch, plant height, chlorophyll a, b and total chlorophyll and leaf area. Results showed that the highest fresh weight of aerial organ and root, maximum number of nodes, flower number, bud number, branch number, the highest plant height and the highest content of chlorophyll a occurred two months after planting. Overall, 10 mg·L<sup>-1</sup> progesterone had the best effects on the traits. The maximum leaf area was obtained by applying 5 mg·L<sup>-1</sup> two months after sowing.

**Keywords:** aerial organ, leaf area index, GA, ornamental plant.

### Resumen

El uso de hormonas sexuales de animales en plantas no tiene una larga trayectoria, pero se ha demostrado la presencia de estas hormonas en plantas. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del ácido giberélico y la progesterona en el crecimiento y desarrollo de flores de *Zinnia elegans*. Se estableció un experimento factorial con base en un diseño completamente al azar con tres factores y tres repeticiones. El primer factor fue el momento de aplicación (antes de la siembra, etapa de cuatro hojas y dos meses después de la siembra), y el segundo y tercer factor incluyeron la dosis de progesterona (0, 5 y 10 mg·L<sup>-1</sup>) y ácido giberélico (0, 100 y 200 mg·L<sup>-1</sup>), respectivamente. Las variables evaluadas fueron peso seco y peso fresco del órgano aéreo y la raíz, número de nudos, flores, brotes, ramas y hojas, distancia de la copa a la primera hoja, distancia de la copa a la primera rama, altura de la planta, clorofila a, b y total, y área foliar. Los resultados mostraron que el mayor peso fresco del órgano aéreo y la raíz, el número máximo de nudos, el número de flores, el número de brotes, el número de ramas, la mayor altura de la planta y el mayor contenido de clorofila a se obtuvieron dos meses después de la siembra. En general, 10 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona presentó los mejores efectos en las características evaluadas. El área foliar máxima se obtuvo al aplicar 5 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona dos meses después de la siembra.

**Palabras clave:** órgano aéreo, índice de área foliar, AG, planta ornamental.



## Introduction

*Zinnia elegans* is an ornamental plant that can be used in landscape design as it is attractive due to its great diversity of colors and duration of flowering (Esmaeili, Rouhi, Shiran, & Mohamadkhani, 2014). It is sensitive to low temperature and is cultivated after the frost season ends. *Z. elegans* is a drought- and salinity-resistant cut flower and its seed propagation is very easy (Shiravand, 2011).

As a plant growth regulator, gibberellic acid (GA) plays various roles including induction of internode growth in plants, replacement of cold period in biennial plants for flower induction (Wittwer & Bukovac, 1958), starch hydrolysis, germination and breaking of seed dormancy in some plant species (Takahashi, Phinney, & MacMillan, 1991).

A study on the effect of 0, 10, 25 and 50 mg·L<sup>-1</sup> GA on *Aquilegia* spp. concluded that GA influenced the number of flowering branches so that the highest number of flowers (1.8) was obtained with the treatment of 10 mg·L<sup>-1</sup> and the lowest number (0.4) was observed in the treatment of 50 mg·L<sup>-1</sup>. The control produced, on average, one flower. Khangholi (2001) reports that GA sprayed at rates of 5-25 mg·L<sup>-1</sup> increased the number of carnation flowers; in addition, in *Limonium sinuatum*, which requires vernalization and long days for flowering, the author found an accelerated flowering rate when exposed to 12 h day length and moderate temperature and sprayed with GA (Khangholi, 2001). On the other hand, Saffari, Khalighi, Lesani, Babalar, and Obermaier (2004) assessed the effect of 50 mg·L<sup>-1</sup> GA on *Rosa damascena* Mill., observing that this rate significantly affected plant height (77.5 cm vs. 69.2 cm in the control treatment) and reduced flower yield, mean flowering period and essential oil production (Saffari, Khalighi, Lesani, Babalar, & Obermaier, 2004).

Progesterone is one of the sex steroid hormones in mammals belonging to the compounds with a firm carbon skeleton. Numerous studies have shown the presence of mammalian steroids in plants (Simons & Grinwich, 1989), and progesterone has been detected in over 80 % of studied species. It has been reported that the effect of mammalian sex hormones on callus induction includes the generation of epinasty, and an increase in sugar and proteins, reproductive growth and flowering, flower number, the ratio of female to male flowers, pollination, and fertilization (Janeczko & Skoczowski, 2005).

The known plant steroids have various physiological and morphological impacts including cell division, cell and stem elongation, photomorphogenesis (Gendron & Wang, 2007; Shekari, Ebrahimzadeh, & Esmaeilzadeh, 2005), ethylene production, and activation of stress

## Introducción

*Zinnia elegans* es una planta ornamental que se puede utilizar en el diseño de paisajes, ya que resulta atractiva por su gran diversidad de colores y duración de floración (Esmaeili, Rouhi, Shiran, & Mohamadkhani, 2014). Es sensible a las bajas temperaturas, por lo que se cultiva una vez finalizada la temporada de heladas. *Z. elegans* es una flor resistente a la sequía y a la salinidad, y se propaga fácilmente (Shiravand, 2011).

Como regulador de crecimiento de las plantas, el ácido giberélico (AG) juega diferentes papeles, incluyendo la inducción del crecimiento internodio, el reemplazo del período frío en las plantas bienales para la inducción de la floración (Wittwer & Bukovac, 1958), la hidrólisis del almidón, la germinación y, en algunas plantas, la ruptura de latencia de las semillas (Takahashi, Phinney, & MacMillan, 1991).

Se ha evaluado el efecto de 0, 10, 25 y 50 mg·L<sup>-1</sup> de AG en *Aquilegia* spp. y se observó que el AG influyó en el número de flores por rama, de manera que el mayor número de flores (1.8) se logró con el tratamiento de 10 mg·L<sup>-1</sup> y el menor número (0.4) se obtuvo con 50 mg·L<sup>-1</sup>. El tratamiento control produjo, en promedio, una flor por rama. Khangholi (2001) menciona que de 5 a 25 mg·L<sup>-1</sup> de AG rociado aumentó el número de flores de clavel; además, en *Limonium sinuatum*, que requiere vernalización y días largos para la floración, encontró una tasa de floración acelerada cuando la expuso 12 h al día a temperatura moderada y la roció con AG. Mientras que Saffari, Khalighi, Lesani, Babalar, y Obermaier (2004) evaluaron el efecto de 50 mg·L<sup>-1</sup> de AG en *Rosa damascena* Mill. y observaron que esta concentración afectó significativamente la altura de la planta (77.5 cm vs 69.2 cm en el tratamiento control), redujo el rendimiento de las flores, el período medio de floración y la producción de aceite esencial.

Por otro lado, la progesterona es una de las hormonas esteroides sexuales de los mamíferos que pertenece a los compuestos con esqueleto de carbono firme. Varios estudios han demostrado la presencia de este tipo de hormonas en plantas (Simons & Grinwich, 1989), y se ha detectado progesterona en más de 80 % de las especies estudiadas. Se ha reportado que el efecto de las hormonas sexuales de los mamíferos en la inducción de callosidades incluye la generación de epinastia, y aumento de azúcares, proteínas, crecimiento, floración, número de flores, proporción de flores femeninas y masculinas, polinización y fertilización (Janeczko & Skoczowski, 2005).

Los esteroides vegetales conocidos muestran impactos fisiológicos y morfológicos, como división celular, elongación de células y tallos, fotomorfogénesis (Gendron & Wang, 2007; Shekari, Ebrahimzadeh, &

responses (Mandava, Sasse, & Yopp, 1981). Therefore, the aim of the research was to assess the effects of gibberellic acid and mammalian progesterone on the growth and development of *Z. elegans* flowers.

## Materials and methods

### Experimental design

A factorial experiment was arranged in a randomized complete block design with three factors and three replications. The first factor was hormone treatment time (before sowing, four-leaf stage and two months after sowing), the second factor was the progesterone hormone rate (no progesterone, 5 mg·L<sup>-1</sup> and 10 mg·L<sup>-1</sup>), and the third factor was gibberellic acid (GA) (no GA, 100 mg·L<sup>-1</sup> and 200 mg·L<sup>-1</sup>). The experiment was carried out with *Zinnia elegans* variety Dreamland seeds in a greenhouse in Astaneh-ye Ashrafiyeh, Iran, located at 37° 16' 8.39" LN and 49° 56' 55.47" LE.

The solutions were prepared in the laboratory on March 15, 2016. Then, 54 seeds were soaked in the predetermined hormones and 108 seeds in distilled water for 24 h. After soaking for one day, all 162 seeds were sown in a greenhouse according to the plot map on March 16. The second stage spraying was carried out 22 days later, i.e. when plants were at four-leaf stage. The third stage spraying was carried out on all flower plants two months after sowing.

### Morphological traits

The distance from the last leaf to the flower, from the crown to the first leaf, from the crown to the first branch and plant height were measured. The number of nodes, branches, flowers, shoots and leaves were obtained in the greenhouse. To obtain the dry weight, the shoots and roots were dried in an oven at 105 °C for 24 hours. Leaf area was determined according to the formula reported by Palaniswamy and Gómez (1974) (Equation 1), for which the length and width of all leaves of the plant were measured in four stages (April 21, May 10, May 18 and June 13).

$$\text{Leaf area} = K \times (L \times W) \quad (1)$$

where *W* is maximum leaf width, *L* is leaf length and the adjustment factor *K* is equal to 0.74.

### Chlorophyll content

Chlorophyll a, b and total chlorophyll were measured using the method described by Mazumdar and Majumder (2003); first, 50 g of the plant fresh sample were weighed and poured into a porcelain mortar. Then, 20 mL 80 % acetone were added, after which the mixture was ground and filtrated. The remaining

Esmaeilzadeh, 2005), producción de etileno y activación de respuestas al estrés (Mandava, Sasse, & Yopp, 1981). Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del ácido giberélico y la progesterona de mamíferos en el crecimiento y desarrollo de flores de *Z. elegans*.

## Materiales y métodos

### Diseño experimental

Se estableció un experimento factorial mediante un diseño de bloques completos al azar con tres factores y tres repeticiones. El primer factor fue el momento de aplicación del tratamiento hormonal (antes de la siembra, etapa de cuatro hojas y dos meses después de la siembra), el segundo factor fue la concentración de la hormona progesterona (sin progesterona, 5 mg·L<sup>-1</sup> y 10 mg·L<sup>-1</sup>), y el tercer factor fue la concentración de ácido giberélico (AG) (sin AG, 100 mg·L<sup>-1</sup> y 200 mg·L<sup>-1</sup>). El experimento se llevó a cabo con semillas de *Zinnia elegans* variedad Dreamland en un invernadero de Astaneh-ye Ashrafiyeh, Irán, ubicado a los 37° 16' 8.39" de latitud norte y 49° 56' 55.47" de longitud este.

Para la primera etapa, las soluciones de las hormonas se prepararon en un laboratorio el 15 de marzo de 2016, en las que se remojaron, durante 24 h, 54 semillas (dependiendo del tratamiento) y 108 semillas se remojaron únicamente en agua destilada. Al siguiente día, las 162 semillas se sembraron en un invernadero. La segunda etapa se llevó a cabo 22 días después de la siembra; es decir, cuando las plantas presentaban cuatro hojas. La tercera etapa se realizó en todas las plantas dos meses después de la siembra.

### Características morfológicas

Se midió la distancia de la última hoja a la flor, de la copa a la primera hoja, de la copa a la primera rama y la altura de la planta. Por su parte, el número de nudos, ramas, flores, brotes y hojas se obtuvieron en el invernadero. Para obtener el peso seco, los brotes y las raíces se secaron en un horno a 105 °C durante 24 h. El área foliar se determinó de acuerdo con lo reportado por Palaniswamy y Gómez (1974) (Ecuación 1), para lo cual se midió en cuatro etapas (21 de abril, 10 de mayo, 18 de mayo y 13 de junio) el largo y ancho de todas las hojas de la planta.

$$\text{Área foliar} = K \times (L \times A) \quad (1)$$

donde *A* es el ancho máximo de la hoja, *L* es el largo de la hoja y *K* es el factor de ajuste (0.74).

### Contenido de clorofila

La clorofila a, b y total se obtuvieron con el método de Mazumdar y Majumder (2003); para ello se pesaron

extract was placed in a container. A part of the extract was poured into a cuvette and the absorption was read separately at 660 nm for chlorophyll a and at 643 nm for chlorophyll b by spectrophotometer (PD-303, Apel, Japan). Then, the quantities of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll were expressed in  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  fresh weight:

$$\text{Chlorophyll a} = 9.93(A_{660}) - 0.777(A_{643})$$

$$(2) \quad \text{Clorofila a} = 9.93(A_{660}) - 0.777(A_{643})$$

$$\text{Chlorophyll b} = 17.6(A_{643}) - 2.81(A_{660})$$

$$(3) \quad \text{Clorofila b} = 17.6(A_{643}) - 2.81(A_{660})$$

$$\text{Total chlorophyll} = 7.12(A_{660}) + 16.8(A_{643})$$

$$(4) \quad \text{Clorofila total} = 7.12(A_{660}) + 16.8(A_{643})$$

### Statistical Analysis

The results were examined by means of an analysis of variance and Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ) using the MSTATC software package.

### Results and discussion

#### Morphological traits

The analysis of variance (Table 1) shows that treatment time is the only factor that has a significant and highly significant effect ( $P \leq 0.05$  and  $P \leq 0.01$ , respectively) on all variables evaluated. Additionally, all study factors and their interaction had a significant effect ( $P \leq 0.05$ ) on chlorophyll a and b production. For the most part, the factors studied did not have a significant effect on the variables analyzed.

50 g de muestra fresca de la planta y se colocaron en un mortero de porcelana junto con 20 mL de acetona al 80 %, para triturlarla y posteriormente filtrarla. Se midió la absorbancia del extracto a 660 nm (clorofila a) y a 643 nm (clorofila b) mediante un espectrofotómetro (PD-303, Apel, Japón). Las cantidades de clorofila se expresaron en  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso fresco:

### Análisis estadístico

Los resultados se examinaron mediante un análisis de varianza, y una comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) por medio del paquete MSTATC.

### Resultados y discusión

#### Características morfológicas

De acuerdo con el análisis de varianza (Cuadro 1), se puede observar que el momento de aplicación de los tratamientos es el único factor que tiene un efecto significativo y altamente significativo ( $P \leq 0.05$  y  $P \leq 0.01$ , respectivamente) en todas las variables evaluadas. Adicionalmente, todos los factores de estudio y su interacción tuvieron un efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) en la producción de clorofila a y b. En su

**Table 1. Analysis of variance of the effect of the evaluated factors on the studied traits of *Zinnia elegans*.**

**Cuadro 1. Análisis de varianza del efecto de los factores evaluados sobre los rasgos estudiados en *Zinnia elegans*.**

SV <sup>1</sup> / FV <sup>1</sup>	DF/ GL	SFW/ PFB	SDW/ PSB	RFW/ PFR	RDW/ PSR	Node no./ Núm. nudos	Leaf no./ Núm. hojas	Plant height/ Altura planta	Chlorophyll b/ Clorofila b	Chlorophyll a/ Clorofila a
R	2	0.40 <sup>ns</sup>	0.32*	1.43**	0.41**	0.13 <sup>ns</sup>	130.7 <sup>ns</sup>	285.35 <sup>ns</sup>	0.004*	0.004*
T	2	8.61**	2.17**	1.86*	0.29**	3.22**	9010.1*	16913.3*	1.61*	2.59*
P	2	0.30 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	0.33*	0.07 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	132.1 <sup>ns</sup>	790.8 <sup>ns</sup>	0.08*	3.98*
GA/AG	2	0.61 <sup>ns</sup>	0.29*	0.50*	0.15*	0.13 <sup>ns</sup>	932.3 <sup>ns</sup>	321.9 <sup>ns</sup>	0.009*	0.94*
T x P	2	0.27 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	449.5 <sup>ns</sup>	452.9 <sup>ns</sup>	0.80*	3.61*
T x GA/ T x AG	2	0.27 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	438.6 <sup>ns</sup>	268.1 <sup>ns</sup>	0.28*	2.32*
GA x P AG x P	2	0.28 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.14 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	621.9 <sup>ns</sup>	210.1 <sup>ns</sup>	0.78*	7.50*
T x GA x P/ T x AG x P	8	0.09 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	64.6 <sup>ns</sup>	307.8 <sup>ns</sup>	1.03*	3.86*
Error	52	0.31	0.1	6.79	2.42	5.67	451.6	450.1	0.0003	0.0003
CV (%)	-	27.5	21.7	24.47	19.18	21.24	29	27	1.66	0.88

<sup>1</sup>SV = source of variation; df = degrees of freedom; SFW = shoot fresh weight; SDW = shoot dry weight; RFW = root fresh weight; RDW = root dry weight; R = Replication; T = hormone treatment time; P = progesterone hormone; GA = gibberellic acid; CV = coefficient of variation. \* and \*\* =  $P \leq 0.05$  y  $P \leq 0.01$ , respectively, ns = not significant.

<sup>1</sup>FV = fuentes de variación; GL = grados de libertad; PFB = peso fresco del brote; PSB = peso seco del brote; PFR = peso fresco de la raíz; PSR = peso seco de la raíz; R = replicación; T = tiempo de tratamiento hormonal; P = hormona progesterona; AG = ácido giberélico; CV = coeficiente de variación. \* y \*\* =  $P \leq 0.05$  y  $P \leq 0.01$ , respectivamente, ns = no significativo.



**Table 1. Analysis of variance of the effect of the evaluated factors on the studied traits of *Zinnia elegans*. (cont.)****Cuadro 1. Análisis de varianza del efecto de los factores evaluados sobre los rasgos estudiados en *Zinnia elegans*. (cont.)**

SV <sup>1</sup> / FV <sup>1</sup>	DF/ GL	Total chlorophyll/ Clorofila total	CLD/ DCH	DBD/ DCR	Branch no./ Núm. de ramas	Flower no./ Núm. de flores	Bud no./ Núm. de brotes	LFD/ DHF	Leaf area/ Área foliar (cm <sup>2</sup> )
R	2	0.08 ns	0.18 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.21 <sup>ns</sup>	149.1 <sup>ns</sup>
T	2	6.20*	0.52**	2.71**	2.67**	0.40**	0.26*	2.73*	5762.1**
P	2	5.74*	0.02 <sup>ns</sup>	0.56**	0.06 <sup>ns</sup>	0.05*	0.05 <sup>ns</sup>	0.28 <sup>ns</sup>	101.6 <sup>ns</sup>
GA	2	1.51*	0.07 <sup>ns</sup>	0.21 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	759.9**
T x P	2	7.99*	0.04 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	371.1**
T x GA/ T x AG	2	3.08*	0.01 <sup>ns</sup>	0.20*	0.10 <sup>ns</sup>	0.007*	0.06 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	293.2**
GA x P	2	12.1*	0.05 <sup>ns</sup>	0.11 <sup>ns</sup>	0.09 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	0.10 <sup>ns</sup>	333.9**
T x GA x P/ T x GA x P	8	9.00*	0.01 <sup>ns</sup>	0.16**	0.02 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	93.7 <sup>ns</sup>
Error	52	0.11	2.42	5.91	4.43	0.7	2.43	6.25	204.6
CV (%)	-	11.05	18.1	22.74	19.9	11.11	20.08	22.61	31

<sup>1</sup>SV = source of variation; df = degrees of freedom; CLD = Crown-first leaf distance; CBD = Crown-first branch distance; LFD = Last leaf-flower distance; R = Replication; T = hormone treatment time; P = progesterone hormone; GA = gibberellic acid; CV = coefficient of variation. \* and \*\* =  $P \leq 0.05$  y  $P \leq 0.01$ , respectively, ns = not significant.

<sup>1</sup>FV = fuentes de variación; GL = grados de libertad; PFB = peso fresco del brote; PSB = peso seco del brote; PFR = peso fresco de la raíz; PSR = peso seco de la raíz; R = replicación; T = tiempo de tratamiento hormonal; P = hormona progesterona; AG = ácido giberélico; CV = coeficiente de variación. \* y \*\* =  $P \leq 0.05$  y  $P \leq 0.01$ , respectivamente, ns = no significativo.

The treatment with hormone application two months after sowing showed the highest shoot fresh weight; however, it did not differ statistically ( $P \leq 0.05$ ) from some progesterone treatments (0 and 10 mg·L<sup>-1</sup>), while the application of hormones before sowing and in the four-leaf phase had the lowest shoot fresh weight. On the other hand, the highest root fresh weight was obtained with 10 mg·L<sup>-1</sup> progesterone, as well as with 0 and 100 mg·L<sup>-1</sup> GA; the rest of the treatments were statistically similar (Table 2). As for shoot dry weight, the application, two months after sowing, of 10 mg·L<sup>-1</sup> and 0 mg·L<sup>-1</sup> GA produced the highest and statistically similar value (7.07 and 6.63 g, respectively) (Table 2).

Accuracy in the mean comparison of GA treatments revealed that no GA treatment had the highest shoot dry weight; in fact, of the treatments with this hormone, the 200 mg·L<sup>-1</sup> rate had the lowest value for this variable, although this same treatment produced the highest root dry weight (Table 2). GA affects plant growth and development through influencing stem length, germination, the transition from vegetative to reproductive phase, internode spacing and the number of internodes and leaves (Arun, Ashok, & Rengasamy, 2000; Khoskhoy, Shibani, Rouhani, & Tafazzoli, 2010; Shekari et al., 2005).

The application of 1 ppb (part per billion) epi-brassinolide improved root growth of pea by 25-256 % (Singh, Nakamura, & Ota, 1993). It was found that the highest number of nodes was related to plants treated

mayoría, los factores estudiados no tuvieron un efecto significativo sobre las variables analizadas.

El tratamiento con la aplicación de hormonas dos meses después de la siembra mostró el valor más alto de peso fresco de los brotes; sin embargo, no difirió estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) de algunos tratamientos con progesterona (0 y 10 mg·L<sup>-1</sup>), mientras que la aplicación de hormonas antes de la siembra y en la fase de cuatro hojas tuvo el menor peso fresco de los brotes. Por su parte, el mayor peso fresco de raíz se obtuvo con 10 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona, así como con 0 y 100 mg·L<sup>-1</sup> de AG; el resto de los tratamientos fueron estadísticamente similares (Cuadro 2). En cuanto al peso seco de brote, la aplicación, dos meses después de la siembra, de 10 mg·L<sup>-1</sup> y 0 mg·L<sup>-1</sup> de AG produjeron el valor más alto y estadísticamente similar (7.07 y 6.63 g, respectivamente) (Cuadro 2).

La precisión en la comparación de medias de los tratamientos con AG reveló que ninguno tuvo el mayor peso seco de brote, de hecho, de los tratamientos con esta hormona el de 200 mg·L<sup>-1</sup> presentó el menor valor en esta variable, aunque este mismo tratamientos produjo el mayor peso seco de raíz (Cuadro 2). El AG afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas al influir en la longitud del tallo, la germinación, la transición de la fase vegetativa a la reproductiva, el espacio entrenudos, y el número de entrenudos y de hojas (Arun, Ashok, & Rengasamy, 2000; Khoskhoy, Shibani, Rouhani, & Tafazzoli, 2010; Shekari et al., 2005).

**Table 2. Mean comparisons for the effect of the factors on the studied traits of *Zinnia elegans*.**  
**Cuadro 2. Comparación de medias del efecto de los factores en los rasgos estudiados de *Zinnia elegans*.**

Treatments/ Tratamientos	SFW <sup>1</sup> (g)/ PFB <sup>1</sup> (g)	SDW (g)/ PSB (g)	RFW (g)/ PFR (g)	RDW (g)/ PSR (g)	Node no./ Núm. nudos	LFD (cm)/ DHF (cm)	CLD (cm)/ DCH (cm)	CBD (cm)/ DCR (cm)	Branch no./ Núm. ramas	Flower no./ Núm. flores	Bud no./ Núm. brotes	Plant height (cm)/ Altura de planta (cm)	Leaf no./ Núm. hojas	Chlorophyll (mg·g <sup>-1</sup> FW)/ Clorofila (mg·g <sup>-1</sup> PF)		
														a	b	Total
Before sowing/ Antes de la siembra	12.43 c <sup>2</sup>	2.88 c	4.34 b	1.32 b	3.22 b	3.82 c	0.81 c	2.76 c	2.41 c	0.37 c	0.70 b	19.38 c	17.37 c	1.78 c	1.05 b	2.77 b
Four-leaf stage/ Fase de cuatro hojas	12.43 c	2.88 c	4.34 b	1.32 b	3.22 b	3.82 c	0.81 c	2.76 c	2.41 c	0.37 c	0.70 b	19.38 c	17.37 c	1.78 c	1.0 b	2.77 b
Two months after sowing/ Dos meses después de la siembra	35.62 a	7.07 a	4.34 b	2.98 a	9.37 a	12.16 a	1.63 b	8.00 b	7.51 a	1.26 a	1.41 a	66.02 a	51.28 a	2.35 a	1.02 c	2.75 b
0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone/ 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	24.26 b	4.61 c	5.70 b	2.44 a	6.89 b	9.87 a	1.72 a	5.48 b	5.11 b	0.70 b	1.30 a	42.70 c	36.78 b	1.71 c	0.82 c	2.60 c
5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone/ 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	27.17 a	5.47 b	5.89 b	1.40 b	6.70 b	6.22 b	1.51 a	4.75 b	5.55 ab	0.78 b	0.92 b	47.65 b	37.18 ab	2.43 a	1.07 b	2.93 b
10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone/ 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	28.52 a	6.17 a	8.95 a	2.12 ab	8.04 a	8.81 a	1.59 a	10.08 a	5.78 a	1.04 a	1.15 a	53.51 a	40.80 a	1.84 c	1.30 a	3.54 a
0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	31.40 a	6.63 a	8.13 a	1.89 a	7.81 a	11.33 a	2.00 a	7.95 a	6.33 a	0.92 a	1.52 a	51.90 a	45.03 a	2.03 b	1.80 a	3.11 b
100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	25.33 b	5.49 b	7.83 a	1.78 a	6.92 b	7.24 b	1.62 b	6.81 b	5.18 b	0.81 b	0.89 b	45.47 b	34.74 b	1.79 c	1.07 b	2.75 c
200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	23.22 b	4.13 c	4.63 b	2.29 a	6.89 b	6.33 b	1.21 c	5.55 c	4.92 b	0.78 b	0.96 b	46.49 b	34.98 b	2.16 a	1.04 c	3.20 a

<sup>1</sup>SFW = shoot fresh weight; SDW = shoot dry weight; RFW = Root fresh weight; RDW = root dry weight; LFD = Last leaf-flower distance; CLD = Crown-first leaf distance; CBD = Crown-first branch distance; FW = fresh weight; GA = gibberellic acid. <sup>2</sup>Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

<sup>1</sup>PFB = peso fresco del brote; PSB = peso seco del brote; PFR = peso fresco de la raíz; PSR = peso seco de la raíz; DCH = distancia de la copa a la primera hoja; DCR = distancia de la copa a la primera rama; DHF = distancia de la última hoja a la flor; PF = peso fresco; AG = ácido giberélico. <sup>2</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

with hormone two months after sowing and the lowest one to those plants prior to sowing.

On the other hand, it was observed that the crowns were more distant from the first branch and the first leaf when 10 mg·L<sup>-1</sup> progesterone and 0 mg·L<sup>-1</sup> GA, respectively, were applied (Table 2).

Comparison of different application times of the growth regulators indicated that the highest number of branches, flowers and leaves was obtained when applied two months after sowing. In almost all cases, the lowest values were obtained with application before sowing and in the four-leaf phase (Table 2).

Khoshkhoy et al. (2010), in evaluating the effect of growth regulators on bulbs, observed that they

El uso de 1 ppb (parte por billón) de epibrasinólida mejoró el crecimiento de raíz de chícharo en un 25 a 256 % (Singh, Nakamura, & Ota, 1993). Además, encontraron que el mayor número de nudos estaba relacionado con plantas tratadas con hormonas dos meses después de la siembra, y el más bajo con plantas tratadas antes de la siembra.

Por otro lado, se observó que las copas se encontraron más distantes de la primera rama y de la primera hoja cuando se aplicaron 10 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona y 0 mg·L<sup>-1</sup> de AG, respectivamente (Cuadro 2).

La comparación de los diferentes momentos de aplicación de los reguladores de crecimiento indicó que el mayor número de ramas, flores y hojas se obtuvo cuando se aplicaron dos meses después de la

induced the appearance of the floral stalk and flower development, as well as affected plant height and the number of florets per inflorescence. On the other hand, treatment with gibberellins increased the number of flowers and accelerated the flowering of *Zantedeschia* 'Black Magic', which was accompanied by the loss of flower size (Brooking & Cohen, 2002). This type of hormone has an impact on plant traits, such as germination rate, plant height, floral stalk stem length and flower diameter (Ahmadpour & Zarghami, 2009).

The hormonal treatment, two months after sowing, produced the highest plant height and number of leaves. Among the different hormone concentrations, 10 mg·L<sup>-1</sup> progesterone had the highest plant height, followed by the treatment without GA application (Table 2).

Low concentrations of some growth regulators have numerous impacts on plant growth and yield. In addition, these substances are involved in many growth-related processes like flowering and rooting (Shekari et al., 2005). According to Bhattacharya and Gupta (1981), 17-beta-estradiol and progesterone (0.25 µg·plant<sup>-1</sup>) improved the shoot growth of sunflower seedlings but inhibited their root growth, although root elongation was enhanced by 0.1 µg·plant<sup>-1</sup> progesterone. In a study by Ahmadi-Lashaki, Sedaghatthoor, Kalatehjari, and Hashemabadi (2018), no specific effect was observed for the application of progesterone on the physiological and growth traits of *Petunia hybrida*, *Tagetes erecta*, and *Calendula officinalis*.

### Chlorophyll content

The highest value of chlorophyll a was obtained when GA and progesterone were applied two months after sowing (Table 2). In comparing hormonal treatments, it can be seen that the highest value of chlorophyll a, b and total was obtained with 5 mg·L<sup>-1</sup> progesterone plus 200 mg·L<sup>-1</sup> GA; however, when only 200 mg·L<sup>-1</sup> GA were applied, the lowest value of chlorophyll a and total was recorded (Table 3). In general, treatments without progesterone had the lowest values for chlorophyll a, b, and total (Table 2).

Chlorophyll plays an essential role in photosynthesis through radiation absorption. Fahimi (2014) indicates that plant growth regulators affect photosynthesis directly through chlorophyll biosynthesis and decomposition. A study on the effect of GA and benzyladenine on *Zantedeschia aethiopica* pot plant showed that the highest chlorophyll was obtained from the treatment of 200 ppm gibberellins (Majidian, Naderi, Khalighi, & Majidian, 2012). A study on the effect of GA and benzyladenine on *Zantedeschia elliottiana* showed that the highest value of chlorophyll was obtained with

siembra. En casi todos los casos, los valores más bajos se obtuvieron con la aplicación antes de la siembra y en la fase de cuatro hojas (Cuadro 2).

Khoshkhoy et al. (2010) evaluaron el efecto de reguladores de crecimiento en bulbos, y observaron que indujeron la aparición de tallo floral y el desarrollo de flores, además afectó la altura de las plantas y el número de flósculos por inflorescencia. Por otro lado, el tratamiento con giberelinas aumentó el número de flores y aceleró la floración de *Zantedeschia* 'Black Magic', lo que fue acompañado por la pérdida de tamaño de la flor (Brooking & Cohen, 2002). Este tipo de hormonas tienen impacto en los rasgos de la planta, tales como la tasa de germinación, la altura de la planta, la longitud del tallo floral y el diámetro de la flor (Ahmadpour & Zarghami, 2009).

El tratamiento hormonal, dos meses después de la siembra, produjo la mayor altura de la planta y número de hojas. Entre las diferentes concentraciones de hormonas, 10 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona tuvo la mayor altura de la planta, seguida del tratamiento sin aplicación de AG (Cuadro 2).

Las bajas concentraciones de algunos reguladores de crecimiento tienen un gran impacto en el desarrollo de las plantas, ya que están implicados en muchos procesos relacionados con el crecimiento, como la floración y el enraizamiento (Shekari et al., 2005). De acuerdo con Bhattacharya y Gupta (1981), el 17-beta-estradiol y la progesterona (0.25 µg·planta<sup>-1</sup>) mejoran el crecimiento de los brotes de plántulas de girasol, pero inhiben su crecimiento radicular, aunque el alargamiento de la raíz aumentó con 0.1 µg·planta<sup>-1</sup> de progesterona. Por otro lado, en un estudio realizado por Ahmadi-Lashaki, Sedaghatthoor, Kalatehjari, y Hashemabadi (2018), no se observó algún efecto específico en las características fisiológicas y de crecimiento de *Petunia hybrida*, *Tagetes erecta* y *Calendula officinalis* con la aplicación de progesterona.

### Contenido de clorofila

El valor más alto de clorofila a se obtuvo cuando se aplicó AG y progesterona dos meses después de la siembra (Cuadro 2). Mientras que, al comparar los tratamientos hormonales, se puede observar que el valor más alto de clorofila a, b y total se obtuvo con 5 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona más 200 mg·L<sup>-1</sup> de AG; aunque cuando se aplicaron únicamente 200 mg·L<sup>-1</sup> de AG se reportó el valor más bajo de clorofila a y total (Cuadro 3). En general, los tratamientos sin progesterona tuvieron los valores más bajos de clorofila a, b y total (Cuadro 2).

La clorofila juega un papel importante en la fotosíntesis a través de la absorción de la radiación. Fahimi (2014)

**Table 3. Mean comparisons for the interaction between different rates of progesterone and gibberellic acid.****Cuadro 3. Comparación de medias de la interacción entre diferentes concentraciones de progesterona y ácido giberélico.**

Treatments / Tratamientos	Chlorophyll a / Clorofila a	Chlorophyll b / Clorofila b	Total chlorophyll / Clorofila total	Leaf area / Área foliar (cm <sup>2</sup> )
	mg·g <sup>-1</sup> fresh weight / mg·g <sup>-1</sup> peso fresco			
0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA <sup>1</sup> / 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG <sup>1</sup>	1.84 f <sup>z</sup>	1.09 d	2.93 e	18.18 a
0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA / 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	1.97 e	1.22 b	3.19 c	14.86 d
0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA / 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	1.33 i	0.86 f	2.18 h	8.61 h
5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA / 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	2.11 c	1.14 c	3.26 b	18.17 a
5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA / 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	1.41 g	0.79 h	2.19 h	14.44 e
5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA / 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	3.78 a	1.44 a	5.22 a	12.03 g
10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA / 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	2.14 b	1.01 e	3.15 d	17.12 c
10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA / 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	2.01 d	1.21 b	2.89 f	12.89 f
10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA / 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	1.37 h	0.84 g	2.21 g	17.46 b

<sup>1</sup>GA = gibberellic acid. <sup>2</sup>Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

<sup>1</sup>AG = Ácido giberélico. <sup>2</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

200 ppm of gibberellins (Majidian, Naderi, Khalighi & Majidian, 2012). In this sense, Janowska and Jerzy (2003) found that foliar application of gibberellins in *Zantedeschia elliottiana* inhibits chlorophyll deterioration.

Interactions between different levels of progesterone and GA showed that treatments without progesterone or GA and 5 mg·L<sup>-1</sup> progesterone without GA produced the largest leaf area, while 5 mg·L<sup>-1</sup> progesterone plus 200 mg·L<sup>-1</sup> GA had the smallest leaf area (Table 3).

Among the interactions between treatment application time and GA concentration, the largest leaf area occurred without GA two months after sowing, whereas the smallest leaf area occurred with the application

indica que los reguladores de crecimiento de las plantas afectan directamente la fotosíntesis a través de la biosíntesis y descomposición de la clorofila. Un estudio sobre el efecto del AG y la benciladenina en *Zantedeschia aethiopica* mostró que el valor más alto de clorofila se obtuvo con 200 ppm de giberelinas (Majidian, Naderi, Khalighi & Majidian, 2012). En este sentido, Janowska y Jerzy (2003) encontraron que la aplicación foliar de giberelinas en *Zantedeschia elliottiana* inhibe el deterioro de la clorofila.

Las interacciones entre los diferentes niveles de progesterona y AG mostraron que los tratamientos sin progesterona ni AG y 5 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona sin AG produjeron la mayor superficie foliar; mientras



of 100 mg·L<sup>-1</sup> GA prior to sowing (Table 4). Something similar happened with the progesterone treatments, where the application of 5 mg·L<sup>-1</sup> of this hormone two months after sowing resulted in the largest leaf area, and the same progesterone concentration but applied prior to sowing yielded the lowest value in this variable (Table 5).

Mean comparisons for the interaction of all treatments for leaf area showed that the largest leaf area was produced with the application of only 5 mg·L<sup>-1</sup> progesterone two months after sowing, and the smallest area was obtained with the application of 200 mg·L<sup>-1</sup> GA prior to sowing (Table 6). In comparing the effect of the different gibberellin levels on *Z. elliottiana* leaf area, it was found that this hormone affected it significantly, and that the largest leaf area was related to the treatment of 500 ppm gibberellins and the lowest one to the control (no treatment) (Majidian et al., 2012). On the other hand, Bedour, Award, EL Tayeb, Habba, and Metwally (2012) found that the use of the combination of helium, neon and progesterone had an increasing effect on the structure of the gerbera leaf.

que 5 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona más 200 mg·L<sup>-1</sup> de AG presentaron la menor área foliar (Cuadro 3).

Entre las interacciones del momento de aplicación del tratamiento y concentración de AG, la mayor superficie foliar se produjo sin AG a los dos meses después de la siembra, y la menor área foliar con la aplicación de 100 mg·L<sup>-1</sup> de AG previo a la siembra (Cuadro 4). Algo similar ocurrió con los tratamientos con progesterona, en donde la aplicación de 5 mg·L<sup>-1</sup> de esta hormona a los dos meses después de la siembra tuvo la mayor superficie foliar, y la misma concentración de progesterona pero aplicada previo a la siembra arrojó el valor más bajo en esta variable (Cuadro 5).

La comparación de medias de la interacción de todos los tratamientos mostró que la mayor superficie foliar se produjo con la aplicación únicamente de 5 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona a los dos meses de la siembra, y la menor área se obtuvo con la aplicación de 200 mg·L<sup>-1</sup> de AG previo a la siembra (Cuadro 6). Al comparar el efecto de los diferentes niveles de giberelinas en el área foliar de *Z. elliottiana*, se encontró que dicha hormona la

**Table 4. Means comparison for the interaction between application times and GA rates.**

**Cuadro 4. Comparación de medias de la interacción entre los momentos de aplicación y las concentraciones de ácido giberélico (AG).**

Treatments / Tratamientos	Crown-first branch distance/ Distancia copa- primer rama (cm)	Flower no./ Núm. flores	Chlorophyll a/ Clorofila a	Chlorophyll b/ Clorofila b	Total chlorophyll/ Clorofila total	Leaf area/ Área foliar (cm <sup>2</sup> )
			mg·g <sup>-1</sup> fresh weight / mg·g <sup>-1</sup> peso fresco			
Pre-sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Pre-siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	4.26 bcd <sup>2</sup>	0.55 ab	1.92 e	1.04 f	2.96 f	10.59 g
Pre-sowing × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Pre-siembra × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	2.53 cd	0.22 ab	0.95 h	0.63 i	1.58 i	3.26 i
Pre-sowing × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Pre-siembra × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	1.46 d	0.33 ab	2.47 a	0.79 h	3.26 d	6.61 h
Four-leaf stage × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	7.20 bc	1.11 a	1.80 f	0.98 g	2.78 h	21.10 c
Four-leaf stage × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	12.58 a	1.00 a	2.04 d	1.15 d	3.19 e	17.32 e
Four-leaf stage × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	8.85 ab	0.55 ab	1.73 g	1.08 e	2.81 g	11.60 f
Two months after sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	12.38 a	1.11 a	2.38 b	1.22 c	3.60 a	21.48 a
Two months after sowing × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	5.30 bcd	1.22 a	2.39 b	1.43 a	3.49 c	21.59 b
Two months after sowing × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	6.32 bc	1.44 a	2.29 c	1.26 b	3.55 b	19.90 d

<sup>1</sup>GA = gibberellic acid. <sup>2</sup>Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

<sup>1</sup>AG = Ácido giberélico. <sup>2</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

**Table 5. Mean comparisons for the interaction between application times and progesterone rates.****Cuadro 5. Comparación de medias de la interacción entre los momentos de aplicación y las concentraciones de progesterona.**

Treatments / Tratamientos	Chlorophyll a / Clorofila a	Chlorophyll b / Clorofila b	Total chlorophyll / Clorofila total	Leaf area / Área foliar (cm <sup>2</sup> )
mg·g <sup>-1</sup> fresh weight / mg·g <sup>-1</sup> peso fresco				
Pre-sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Pre-siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	0.84 i <sup>z</sup>	0.46 h	1.30 i	5.53 h
Pre-sowing × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Pre-siembra × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	2.94 a	1.15 d	4.09 a	3.49 i
Pre-sowing × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Pre-siembra × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	1.57 h	0.85 g	2.41 h	11.45 g
Four-leaf stage × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Etapa de cuatro hojas × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	2.05 e	1.22 c	3.26 d	14.93 f
Four-leaf stage × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Etapa de cuatro hojas × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	1.70 g	0.89 f	2.59 g	18.21 d
Four-leaf stage × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Etapa de cuatro hojas × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	1.82 f	1.11 e	2.93 e	16.89 e
Two months after sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Dos meses después de la siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	2.26 c	1.48 a	3.74 c	21.19 b
Two months after sowing × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Dos meses después de la siembra × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	2.66 b	1.33 b	3.99 b	22.95 a
Two months after sowing × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone / Dos meses después de la siembra × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona	2.13 d	1.10 e	2.90 f	19.13 c

<sup>z</sup>Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).<sup>z</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).**Table 6. Mean comparisons for the interaction between application times and progesterone and gibberellic acid (GA) rates.****Cuadro 6. Comparación de medias de la interacción entre los momentos de aplicación y las concentraciones de progesterona y ácido giberélico (AG).**

Treatments / Tratamientos	Crown-first branch distance /	Chlorophyll a /	Chlorophyll b /	Total chlorophyll /	Leaf area / Área foliar (cm²)
	Distancia copa-	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	
	primera rama (cm)	mg·g <sup>-1</sup> fresh weight / mg·g <sup>-1</sup> peso fresco			
Pre-sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA <sup>1</sup> / Pre-siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG1	5.7 h-l <sup>z</sup>	1.07 b	0.94 a	2.64 bcd	12.71 f
Pre-sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA / Pre-siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	5.1 h-l	0.82 b	0.43 b	1.25 cd	3.88 gh
Pre-sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA / Pre-siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	0.0 efg	0.0 b	0.0 b	0.00 d	0.00 h
Pre-sowing × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA / Pre-siembra × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	1.5 no	2.85 ab	1.80 a	4.65 abc	5.45 gh
Pre-sowing × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA / Pre-siembra × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	0.0 efg	0.0 b	0.0 b	0.00 d	0.00 h
Pre-sowing × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA / Pre-siembra × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	1.3 o	5.97 a	1.65 a	7.61 a	5.02 gh

**Table 6. Means comparison for the interaction between application times and progesterone and gibberellic acid (GA) rates. (cont.)****Cuadro 6. Comparación de medias de la interacción entre los momentos de aplicación y las concentraciones de progesterona y ácido giberélico (AG). (cont.)**

Treatments / Tratamientos	Crown-first branch distance / Distancia copa- primera rama (cm)	Chlorophyll a / Clorofila a	Chlorophyll b / Clorofila b	Total chlorophyll / Clorofila total	Leaf area / Área foliar (cm <sup>2</sup> )
		mg·g <sup>-1</sup> fresh weight / mg·g <sup>-1</sup> peso fresco			
Pre-sowing × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Pre-siembra × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	2.43 mno	2.04 ab	1.40 a	3.50 bcd	5.92 gh
Pre-sowing × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Pre-siembra × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	3.06 l-o	1.44 b	0.72 b	2.16 bcd	14.81 def
Four-leaf stage × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	4.80 i-m	1.47 b	0.97 a	2.44 bcd	21.38 bc
Four-leaf stage × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	12.16 cd	2.29 ab	1.20 a	3.52 bcd	17.67 cde
Four-leaf stage × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	1.76 no	2.38 ab	1.45 a	3.82 a-d	5.73 gh
Four-leaf stage × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	6.64 g-k	1.47 b	0.59 b	2.06 bcd	23.02 ab
Four-leaf stage × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	11.23 de	1.85 b	1.14 a	2.99 bcd	20.36 bc
Four-leaf stage × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	3.86 k-o	1.78 b	0.94 a	2.72 bcd	11.25 f
Four-leaf stage × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	10.33 def	2.45 ab	1.39 a	3.84 a-d	18.91 cde
Four-leaf stage × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	14.36 c	1.99 ab	1.09 a	3.08 bcd	13.95 ef
Four-leaf stage × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Etapa de cuatro hojas × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	20.93 b	1.03 b	0.85 ab	1.88 bcd	17.82 cde
Two months after sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	6.76 g-j	2.36 ab	1.35 ab	3.71 a-d	20.46 bc
Two months after sowing × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 0 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	5.26 h-l	2.80 ab	1.99 ab	4.79 abc	23.02 ab

**Table 6. Means comparison for the interaction between application times and progesterone and gibberellic acid (GA) rates. (cont.)****Cuadro 6. Comparación de medias de la interacción entre los momentos de aplicación y las concentraciones de progesterona y ácido giberélico (AG). (cont.)**

Treatments/Tratamientos	Crown-first branch distance /	Chlorophyll a /	Chlorophyll b /	Total chlorophyll /	Leaf area / Área foliar (cm <sup>2</sup> )
	Distancia copa-	Clorofila a	Clorofila b	Clorofila total	
	primera rama (cm)	mg·g <sup>-1</sup> fresh weight / mg·g <sup>-1</sup> peso fresco			
Two months after sowing × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	6.03 g-k	2.02 ab	1.04 a	3.06 bcd	26.05 a
Two months after sowing × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	5.1 h-m	2.37 ab	1.22 a	3.59 a-d	22.97 ab
Two months after sowing × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 5 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	7.16 ghi	3.60 ab	1.73 a	5.32 ab	19.83 bc
Two months after sowing × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 0 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 0 mg·L <sup>-1</sup> AG	24.36 a	2.76 ab	1.27 a	4.02 a-d	18.83 cde
Two months after sowing × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 100 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 100 mg·L <sup>-1</sup> AG	5.50 h-l	1.99 ab	1.09 a	2.08 bcd	18.80 cde
Two months after sowing × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterone × 200 mg·L <sup>-1</sup> GA/ Dos meses después de la siembra × 10 mg·L <sup>-1</sup> progesterona × 200 mg·L <sup>-1</sup> AG	4.18 j-n	1.65 b	0.43 b	3.59 a-d	19.75 bc

<sup>1</sup>GA = gibberellic acid. <sup>2</sup>Means with the same letters within each column do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

<sup>1</sup>AG = Ácido giberélico. <sup>2</sup>Medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

## Conclusions

It was found that the best *Zinnia elegans* traits were obtained when the hormones were applied two months after sowing. Overall, progesterone treatments (5 and 10 mg·L<sup>-1</sup>) had the best effect on the characteristics studied. On the other hand, gibberellins showed no significant effects; that is, treatments without application of this hormone had the best effect, and treatments with 200 mg·L<sup>-1</sup> GA had the least impact.

Among the hormonal interactions, the best combination for chlorophyll production was 5 mg·L<sup>-1</sup> progesterone plus 200 mg·L<sup>-1</sup> GA, while the application of 5 mg·L<sup>-1</sup> progesterone two months after sowing produced the largest leaf area. Based on the results, it can be said that the use of hormones, such as progesterone, can positively influence some physiological features of the plant, so it is proposed that this study also be conducted in *Zinnia* under environmental stress.

afectaba significativamente, y que la mayor área foliar estaba relacionada con el tratamiento de 500 ppm de giberelinas, y la más baja con el control (sin tratamiento) (Majidian et al., 2012). Por otro lado, Bedour, Award, EL Tayeb, Habba, y Metwally (2012) evaluaron el uso de la combinación de helio, neón y progesterona, y encontraron un efecto creciente en la estructura de la hoja de la gerbera.

## Conclusiones

Se encontró que las mejores características evaluadas en *Zinnia elegans* se obtuvieron cuando las hormonas se aplicaron dos meses después de la siembra. En general, los tratamientos con progesterona (5 y 10 mg·L<sup>-1</sup>) tuvieron el mejor efecto en las características estudiadas. Por su parte, las giberelinas no mostraron efectos significativos; es decir, los tratamientos sin aplicación de esta hormona tuvieron el mejor efecto, y los tratamientos con 200 mg·L<sup>-1</sup> de AG presentaron el menor impacto.

Entre las interacciones hormonales, la mejor combinación para la producción de clorofila fue 5 mg·L<sup>-1</sup>

End of English version

## References / Referencias

- Ahmadi-Lashaki, M., Sedaghatthoor, S., Kalatehjari, S., & Hashemabadi, D. (2018). The physiological and growth response of *Petunia hybrida*, *Tagetes erecta*, and *Calendula officinalis* to plant and human steroids. *AIMS Agriculture and Food*, 3(2), 85-96. doi: 10.3934/agrfood.2018.2.85
- Ahmadpour, A., & Zarghami, M. A. (2009). Study and determination of the effects of gibberellic acid on growth and flowering of *Gladiolus murielae* in Jiroft. *Proceedings of 6<sup>th</sup> Iranian Congress of Horticultural Science*. Rasht: Guilan University.
- Arun, D. S., Ashok, A. D., & Rengasamy, P. (2000). Effect of some growth regulating chemicals on growth and flowering of rose 'First Red' under greenhouse conditions. *Journal of Ornamental Horticulture*, 3(1), 51-53. Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20000316813>
- Bedour, A. L., Award, A. E., EL Tayeb, T. A., Habba, I. E., & Metwally, S. A. (2012). Anatomical aspects of gerbera leaves under the effect of progesterone and irradiation treatments. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(12), 5903-5915. <http://www.aensiweb.com/old/jasr/jasr/2012/5910-5919.pdf>
- Bhattacharya, B., & Gupta, K. (1981). Steroid hormone effects on growth and apical dominance of sunflower. *Phytochemistry*, 20, 989-991. doi: 10.1016/0031-9422(81)83014-2
- Brooking, I. R., & Cohen, D. (2002). Gibberellin-induced flowering in small tubers of *Zantedeschia* 'Black Magic'. *Scientia Horticulturae*, 95(1), 63-73. doi: 10.1016/S0304-4238(02)00018-3
- Esmaili, S., Rouhi, V., Shiran, B., & Mohamadkhani, A. (2014). Effects of calcium chloride, gibberellin and benzyladenine on qualitative and quantitative characteristics and flower longevity of *Zinnia* (*Zinnia elegans* J.). *Journal of Horticulture Science*, 27(4), 444-452. Retrieved from <http://www.sid.ir/En/Journal/ViewPaper.aspx?ID=487786>
- Fahimi, H. (2014). *Plant growth regulators*. Tehran: Tehran University Press.
- Gendron, J. M., & Wang, Z. Y. (2007). Multiple mechanisms modulate brassinosteroid signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(5), 436-441. doi: 10.1016/j.pbi.2007.08.015
- Janeczko, A., & Skoczowski, A. (2005). Mammalian sex hormones in plants. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 43(2), 71-79. doi: 10.5603/4616
- Janowska, B., & Jerzy, M. (2003). Effect of gibberellic acid on post-harvest leaf longevity of *Zantedeschia elliottiana* (W. WATS) Engl. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 11, 69-76. Retrieved from [http://www.insad.pl/files/journal\\_pdf/journal\\_2003/Full\\_2003\\_8.pdf](http://www.insad.pl/files/journal_pdf/journal_2003/Full_2003_8.pdf)
- Khangholi, S. (2001). Growth regulators potential in controlling the size and flowering of ornamental plants. *Proceedings of the 1<sup>st</sup> Scientific-Applied Seminar of Iranian Ornamental Plants*. Department Flowers and Ornamental Plants, Edible Mushrooms and Medicinal Herbs.
- de progesterona más 200 mg·L<sup>-1</sup> de AG, mientras que la aplicación de 5 mg·L<sup>-1</sup> de progesterona a los dos meses después de la siembra produjo la mayor superficie foliar. Con base en los resultados, se puede decir que el uso de hormonas, como la progesterona, puede influir positivamente en algunos rasgos fisiológicos de la planta, por lo que se propone que este estudio también se lleve a cabo en *Zinnia* bajo estrés ambiental.
- Fin de la versión en español**
- Khoskhoy, M., Shibani, B., Rouhani, A., & Tafazzoli, A. (2010). *Principles of horticulture*. Shiraz: Shiraz University Press.
- Majidian, N., Naderi, R., Khalighi, A., & Majidian, M. (2012). The effect of four levels of GA<sub>3</sub> and BA on the quantitative and qualitative characteristics of *Zantedeschia aethiopica* cv. Childsiana pot plant. *Journal of Horticulture Science*, 25(4), 361-368. doi: 10.22059/IJHS.2012.24861
- Mandava, B. N., Sasse, J. M., & Yopp, J. H. (1981). Brassinolide a growth promoting steroidal lactone, II. Activity in selected gibberellin and cytokinin bioassays. *Physiologia Plantarum*, 53(4), 453-461. doi: 10.1111/j.1399-3054.1981.tb02730.x
- Mazumdar, B. C., & Majumdar, K. (2003). *Methods on physicochemical analysis of fruits*. Calcutta: University College of Agriculture.
- Palaniswamy, K. M., & Gómez, K. A. (1974). Length-width method for estimating leaf area of rice. *Agronomy Journal*, 66(3), 420-433. doi: 10.2134/agronj1974.00021962006600030027x
- Saffari, V. R., Khalighi, A., Lesani, H., Babalar, M., & Obermaier, J. F. (2004). Effects of different plant growth regulators and time of pruning on yield components of *Rosa damascena* Mill. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 6(6), 1040-1042. Retrieved from [http://www.fspublishers.org/published\\_papers/9175\\_..pdf](http://www.fspublishers.org/published_papers/9175_..pdf)
- Shekari, F., Ebrahimzadeh, A., & Esmailzadeh, B. (2005). *Plant growth regulators in agriculture and horticulture*. Zanzan: CRC Press.
- Shiravand, D. (2011). *Design of green spaces with ornamental trees and shrubs*. Iran: Agriculture Training and Education Press.
- Simons, R. G., & Grinwich, D. L. (1989). Immunoreactive detection of four mammalian steroids in plants. *Canadian Journal of Botany*, 67(2), 288-296. doi: 10.1139/b89-042
- Singh, J., Nakamura, S., & Ota, Y. (1993). Effect of epi-brassinolide on gram *Cicer arietinum* plants grown under water stress in juvenile stage. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 63(7), 395-397.
- Takahashi, N., Phinney, B. O., & MacMillan, J. (1991). *Gibberellins*. Berlin: Springer-Verlag.
- Wittwer, S. H., & Bukovac, M. J. (1958). The effects of gibberellin on economic crops. *Economic Botany*, 12(3), 213-255. doi: 10.1007/bf02859769



