



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**"Carbohidratos e Inhibidores de la
Germinación y Crecimiento durante el
Desarrollo y Germinación Inmadura
del Grano de Maíz (Zea Mays L.)"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO

PRESENTA

OFELIA VEGA VAZQUEZ

MEXICO, D. F. 1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

C O N T E N I D O

- 1.0 INTRODUCCION.
- 1.1 MAIZ.
 - 1.1.1 HISTORIA.
 - 1.1.2 CLASIFICACION.
 - 1.1.3 ESTADOS DE CRECIMIENTO DEL GRANO DE MAIZ.
- 1.2 GENERALIDADES.
- 1.3 METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS.
- 1.4 SINTESIS Y DEGRADACION DE ALMIDON.
- 1.5 GERMINACION.
- 1.6 REGULACION DEL CRECIMIENTO.
 - 1.6.1 HORMONAS DEL CRECIMIENTO Y DESARROLLO.
 - 1.6.2 HORMONA DE LA LATENCIA.
 - 1.6.3 INHIBIDORES.

- 2.0 OBJETIVOS.

- 3.0 MATERIAL.
 - 3.1 MATERIAL, VEGETAL.
 - 3.2 REACTIVOS.
 - 3.3 APARATOS.

- 4.0 METODOS.
 - 4.1 CARBOHIDRATOS SOLUBLES.
 - 4.1.1 CURVAS PATRON.
 - 4.1.2 EXTRACCION.
 - 4.1.3 ANALISIS.
 - 4.1.4 IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION.
 - 4.2 ALMIDON.
 - 4.2.1 EXTRACCION.
 - 4.2.2 CURVA PATRON.
 - 4.2.3 CUANTIFICACION.
 - 4.3 DETERMINACION DE HUMEDAD.
 - 4.4 INHIBIDORES.

- 4.4.1 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DE ACIDO ABSCISICO Y CUMARINA.
- 4.4.2 CURVAS TIPO DE ACIDO ABSCISICO Y CUMARINA.
- 4.4.3 EXTRACCION DE INHIBIDORES.
 - 4.4.3.1 PURIFICACION DE INHIBIDORES.
 - 4.4.3.2 BIOENSAYOS DE INHIBICION.

- 5.0 RESULTADOS Y DISCUSION.
 - 5.0.1 EXPERIMENTACION EN EL CAMPO.
 - 5.1 CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES DURANTE EL DESARROLLO DEL GRANO DE MAIZ.
 - 5.1.1 EN LA VARIEDAD CRIOLLO LOCAL.
 - 5.1.2 EN LA VARIEDAD H-139.
 - 5.2 CONTENIDO DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN GRANO MADURO Y SECO GERMINADO EXPERIMENTALMENTE, EN LAS VARIEDADES CRIOLLO - LOCAL Y H-139.
 - 5.3 CONTENIDO DE ALMIDON DURANTE EL DESARROLLO DEL GRANO DE MAIZ EN LAS VARIEDADES CRIOLLO LOCAL Y H-139.
 - 5.4 CONTENIDO DE HUMEDAD DURANTE EL DESARROLLO DEL GRANO DE MAIZ EN LAS VARIEDADES CRIOLLO LOCAL Y H-139.
 - 5.5 INHIBIDORES.
 - 5.5.1 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DE ACIDO ABSCISICO, CUMARINA Y LOS EXTRACTOS ETEREOS ACIDOS Y BASICOS DEL GRANO DE - MAIZ.
 - 5.5.2 CURVAS PATRON DE INHIBICION DE ACIDO ABSCISICO Y CUMARINA.
 - 5.5.3 INHIBIDORES EN LOS EXTRACTOS ACIDOS DE GRANOS DE MAIZ - EN LAS VARIEDADES CRIOLLO LOCAL Y H-139.

- 6.0 CONCLUSIONES.

- 7.0 BIBLIOGRAFIA.

1.0 INTRODUCCION

1.1 Maíz.

1.1.1. Historia.

El maíz es considerado originario del hemisferio occidental, pero algunos botánicos indican la posibilidad de que su origen sea en Asia, de hecho en el tiempo presente, no hay una evidencia tangible de cualquier clase, botánica, arqueológica, etnográfica, lingüística, ideográfica, pictórica e histórica de la existencia del maíz en alguna parte del viejo mundo antes de 1492 (Mangelsdorf, 1951).

En las excavaciones de la Cueva de la Perra, en Tamaulipas, México, se describieron materiales muy antiguos del maíz de 4445±1800 años, fechados en la base de radio carbono y materiales más recientes se calcularon de 1800± 2200 años. Casi todos estos materiales están relacionados con la raza mexicana moderna llamada Nal-Tel, que se cultiva actualmente en Yucatán y Campeche, los maíces más antiguos eran cortos y delgados (Mangelsdorf, 1956).

También se hicieron excavaciones en la parte norte de México en Chihuahua y Sonora y se encontraron restos arqueológicos de la raza de maíz "chapalote" y éste con cruza y recombinaciones genéticas, dió origen al maíz cristalino de Chihuahua (Mangelsdorf, 1956).

Las exploraciones de la Sierra de Manatlán, en el occidente de Jalisco, donde el maíz es nativo, fueron hechas desde diciembre de 1977, primero por Rafael Guzmán, quién descubrió una larga mazorca de Zea perennis.

Estudios en la evolución y taxonomía del maíz y teosintle han sido hechas por Hugh Iltis y sus estudiantes de la Universidad de Wisconsin-Madison, de 1960 a 1977, durante estos 20 años, se colectó material de maíz corto en 9 expediciones. Las principales regiones investigadas fueron: el sureste de Perú y Ecuador, Guerrero, Michoacán, ambos en la parte central del sur

de México y otras. Durante el invierno de 1972, el maíz fue colectado en Campeche y Yucatán.

Investigaciones realizadas en la Sierra de Manatlán por la misma Universidad en 1978-1979, encontraron una gran cantidad de semillas de Z. diploperennis, en dos estaciones; la primera ubicada en la parte norte de la Sierra de Manatlán, en la Zarza Mora y cercana a ésta Las Joyas (a 1950-2000 m), las plantas de maíz crecidas aquí, presentan una indescriptible morfología taxonómica, distinta de la tetraploide Zea perennis. Los materiales colectados en la Sierra de Manatlán, incluyen semillas y raíces de Z. diploperennis y Z. perennis y además extensas colecciones de hierbas de miles de especies asociadas (Iltis, 1980).

El maíz fue el alimento dominante en las civilizaciones de América. La vida de los aztecas, mayas e incas está alrededor del cultivo del maíz. El maíz totalmente maduro fue encontrado en un sepulcro pre-inca que data de hace 3000 años. El primer escrito europeo del maíz fue hecho por Cristobal Colón en noviembre 6 de 1492. Dos de sus exploradores, Rodrigo de Jeréz y Luis Torres, reportaron sus descubrimientos del maíz en el interior de Cuba.

1.1.2. Clasificación.

El maíz es botánicamente conocido como Zea mays Linnaeus, es una planta verde que utiliza la energía del sol, CO₂ y el agua conteniendo minerales para producir uno de los cultivos más versátiles. El maíz es una angiosperma que proviene de la familia graminacea y tiene polinización cruzada en la planta, en la cual las flores femenina y masculina, están localizadas en diferentes inflorescencias sobre el mismo. Algunos mejoramientos en el cultivo del maíz en años recientes son el reemplazamiento de la polinización libre de las variedades de maíz por híbridos (Inglett, 1970).

1.1.3. Estados de Crecimiento del grano de maíz.

Conociendo los estados de crecimiento del grano de maíz, facilita la evaluación y comparación de los datos de diferentes estudios para conocer el estado fisiológico o morfológico del desarrollo del grano para cada fecha; los siguientes estados responden aproximadamente a los muestreos realizados en el presente trabajo.

Estado 6 de Hanway (muestreo 1). - (12 días después del 75% de aparición de los estigmas).

Los granos están en el estado de ampolla, tienden a crecer considerablemente (especialmente el endospermo). Los granos son líquidos y contienen muy poca materia seca. El coleoptilo, la primera hoja y la radícula son justamente iniciadas en el embrión. El almidón empieza a acumularse en el endospermo, este es el comienzo del período de rápida acumulación de materia seca en el grano. Hay pérdida de N y P en otras partes de la planta durante el desarrollo del grano hasta la madurez fisiológica.

Estado 7 de Hanway (Muestreo 2). - (24 días después del 75% de aparición de los estigmas).

Entre el estado 6 y 7 el crecimiento del grano entero es rápido, pero la velocidad de crecimiento del embrión es lento en comparación con el crecimiento del endospermo. En el embrión, la parte principal del eje, plúmula-radícula es totalmente diferenciado en el estado 7, el cual representa el final de la división celular en la capa epidérmica del endospermo y el comienzo de un rápido incremento en el tamaño de la planta embrionaria.

Estado 8 de Hanway (Muestreo 3). - (36 días después del 75% de aparición de los estigmas).

Entre los estados 7 y 8, el crecimiento del embrión es muy rápido y la radícula y las hojas embrionarias están totalmente diferenciadas. En esta etapa se inicia la formación de raíces seminales, el alargamiento del endospermo después de este esta

do es principalmente debido a un incremento en el tamaño celular.

Estado 9 de Hanway (Muestreo 4). - (48 días después del 75% de aparición de los estigmas).

En este estado la velocidad de acumulación de materia seca por la planta empieza a declinar, todos los granos están llenos. Anterior a este estado, el embrión ya está morfológicamente maduro, pero puede haber posteriormente un incremento lento en tamaño.

Estado 10 de Hanway (Muestreo 5). - (60 días después del 75% de aparición de los estigmas).

La planta está fisiológicamente madura, la acumulación de materia seca ha cesado. La vaina y algunas de las hojas están en senectud. Sin embargo la mazorca y granos continúan perdiendo humedad después de este tiempo. La velocidad de pérdida de agua depende de las condiciones climáticas (Hanway, 1963).

1.2 Generalidades

El grano de maíz normalmente no debe germinar durante su formación, sin embargo la germinación prematura del maíz fue observada por Mangelsdorf (1923, 1926, 1930); por Eyster (1931) y Robertson (1955). Ellos presentaron evidencias de que algunos caracteres genéticos le confieren al grano la predisposición a la germinación prematura. Además de este factor genético, las condiciones del suelo y ambiente propician la presentación del problema.

En Francia Routchenko y Soyer (1971, 1972), estudiaron la germinación de granos inmaduros de maíz en la planta, esto se observó por primera vez en suelos calcáreos de Charente y de Charente Maritime y en menor proporción en los suelos ácidos de los Pirineos Atlánticos. Sus experimentos de cultivo de embriones, en medios sintéticos les permitieron formular la hipótesis de que la viviparidad está en relación con el patrimonio genético de la variedad y con las condiciones de aprovisionamiento de la planta en Fe y Mn y probablemente de Mo.

En suelos deficientes en oligoelementos, la fertilización nitrogenada, tardía sobre todo, agrava el biotamiento y la fertilización con fosfatos o el aporte de oligoelementos impide la germinación prematura. Al continuar sus experimentos Rouchenko y Soyer, consideraron que el Fe y Mn en el grano son necesarios para permitir la oxidación del ácido indolacético del estado lechoso al masoso del grano y que en suelos deficientes en estos oligoelementos, el ácido indolacético no se oxida al permanecer sus niveles altos, se propicia el crecimiento de la plántula ya preformada en el embrión; ellos comprobaron la germinación prematura por la adición de ácido indolacéticos a mazorcas en estado masoso.

Por otra parte en trabajos de invernadero con mutantes vivíparas, Smith, Mc Daniel y Lively (1978), han estudiado el papel del ácido abscísico (ABA), como inhibidor de la germinación. En adición a la germinación prematura, todas las mutantes vivíparas causan cambios obvios en la semilla y/o fenómeno del crecimiento de la planta. Ellos encontraron que a concentraciones de 3 mg de ABA, inhibía completamente el crecimiento de embriones. Una clase mutante tuvo contenido normal de carotenoides - en el endospermo y producen un crecimiento normal de la plántula verde, cuando son homocigotas.

Otro trabajo realizado por Mc Daniel, Smith y Price (1978), sobre respuesta de mutantes vivíparas al ácido abscísico en cultivo de embriones, sugirieron que el fenómeno de la viviparidad, no es debido a una falta de ABA en la semilla mutante, sino a una falta de respuesta a la hormona.

Observaciones realizadas en Venezuela por González (1976), acerca de la germinación prematura en maíz, indicaron que se detectó germinación de los granos en mazorcas aún implantadas al tallo, con anticipación a la madurez fisiológica del grano, ocurriendo desde el estado lechoso hasta en mazorcas secas. El daño se presentó en un 20% de las mazorcas y afectaba la calidad de todo el producto cosechado, pues los granos secos tienden a

podrirse y fermentarse con la humedad de los granos germinados, siendo rechazados por el mercado.

También en México se ha presentado la germinación prematura del maíz, en valles altos de Tlaxcala y Puebla a partir de 1974. Se piensa también que una de las causas pueda ser Fitopatológica, producida por los hongos Fusarium moniliforme y Fusarium roseum (Félix, 1981). Félix en su trabajo de maestría encontró que bajo condiciones de laboratorio, invernadero y campo, los hongos no indujeron el fenómeno, sólo causaron pudrición en grado dependiente de la densidad del inóculo. A continuación y bajo la hipótesis de que se trataba de oligoelementos del suelo, estudió el efecto de algunos fertilizantes nitrogenados, sulfato de amonio y urea. Hubo diferencias significativas, solo entre fertilizantes correspondió un incremento de germinación.

1.3 Metabolismo de Carbohidratos.

Todas las reacciones que comprende el metabolismo global de cualquier célula pueden dividirse ampliamente en dos tipos: degradativos (catabolismo) y sintético (anabolismo). Las tres vías principales: (1) glucólisis (degradación de carbohidratos); (2) gluconeogénesis (formación de carbohidratos) y (3) ciclo de pentosas. La vía de las pentosas es una alternativa del ciclo de glucólisis. La vía glucolítica de Embden-Meyerhof es la ruta principal por la cual se metaboliza glucosa en la mayor parte de los tejidos, pero no es la vía exclusiva para la degradación metabólica de glucosa (Bohinski, 1978).

Estudios hechos con ^{14}C en planta de maíz por Shannon (1972 a y b), indican que el ^{14}C -fotosintéticamente fijado en hojas de maíz y transportado en el desarrollo de los granos, pasa a través de células especializadas basales del endospermo. La sacarosa contenía 3/4 partes de la radioactividad en la base del grano a las 6 horas después del tratamiento con $^{14}\text{CO}_2$ en la planta, contrariamente en el endospermo basal 3/4 de la radioactividad estaba en glucosa y fructosa; una alta proporción de la radioactividad fue retenida en los monosacáridos del endos-

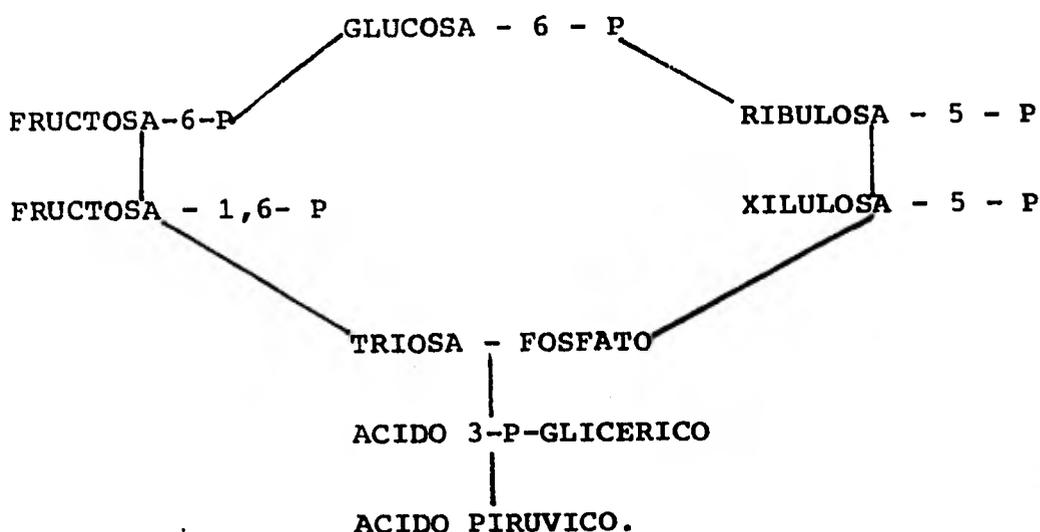
permo almidonoso, las primeras 3 horas después del tratamiento con $^{14}\text{CO}_2$.

Se sugiere que la sacarosa se desdobla en glucosa y fructosa durante la entrada dentro del endospermo y estos monosacáridos se difunden a lo largo del endospermo. Una vez que los azúcares llegan a las células donde se efectúa la síntesis de almidón, ellos son convertidos rápidamente a sacarosa, la cual a su vez es utilizada en la síntesis de almidón (Dick, 1976).

Los resultados de estos estudios favorecen la hipótesis en la cual los azúcares se mueven a través de espacios intracelulares y paredes de la célula del endospermo del maíz. Es probable que la cantidad de sacarosa que llega a las células de la planta está determinada por la actividad relativa de las enzimas sintetasa de sacarosa, invertasa ácida e invertasa básica. Estas son las enzimas que están presentes en plantas superiores que son capaces de metabolizar sacarosa (Rangil, 1977).

Esto sugiere que la sintetasa de sacarosa, está relacionada principalmente con la conversión de sacarosa a polisacáridos por la vía de UDPG (Uridina difosfato glucosa) y ADPG (adenina difosfato glucosa). La invertasa está principalmente involucrada en el suministro de hexosa para la respiración. La hidrólisis de sacarosa en células con una marcada demanda de hexosa, fue atribuida a la invertasa ácida, y la actividad alta de esta enzima produce la división de sacarosa a hexosa y previene la acumulación substancial de sacarosa.

También se dedujo que las células con baja actividad de invertasa ácida, obtienen hexosa de la vía respiratoria por una invertasa alcalina o neutra, localizada en el citoplasma. La producción de hexosa del almacén de sacarosa, proporciona una significativa proporción del substrato respiratorio. (Dick, 1976).



INTER-RELACION DE CAMINOS DE OXIDACION DE CARBOHIDRATOS EN PLANTAS SUPERIORES (GLICOLISIS Y CICLO DE LAS PENTOSAS FOSFATO).

1.4 Síntesis y degradación de almidón.

El almidón es un material de reserva en las plantas, se encuentra en mayor proporción en las raíces y semillas. Es un polisacárido de alto peso molecular, constituido por amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula lineal constituida por 1000 a 4000 unidades de D-glucosa, unidas por enlaces $\alpha(1,4)$. La amilopectina es una molécula ramificada constituida por 10^6 unidades de D-glucosa; las ramificaciones están unidas por enlaces $\alpha(1,6)$ y las partes lineales de glucosa por $\alpha(1,4)$ (Lehninger, 1978; White, 1979).

La síntesis de almidón, en plantas está principalmente regulada por la actividad de ADPG-pirofosforilasa; esta enzima es inhibida por el fósforo inorgánico (Pi) y estimulada por varios intermediarios glicolíticos, particularmente por 3-fosfoglicerato y hexosa monofosfato (Okamoto, 1979).

La degradación de almidón es primordialmente por acción de amilasas. Se ha demostrado en trigo que el estado inicial de la actividad de amilasa fue exclusivamente localizada en el epitelio, entre el escutelo y el endospermo. La actividad de amilasa en la capa de aleurona fue detectada únicamente después de 2 días de germinación (Okamoto, 1979; Sosa, 1978).

Las actividades de α y β -amilasa en el endospermo del maíz germinado fueron encontrados a través del período de germinación (Sosa, 1978; Joshi, 1980). Los resultados de Dure (1960) en maíz, revelan que:

- a) La α -amilasa se origina exclusivamente en el escutelo y es secretada durante la germinación.
- b) La β -amilasa es la única amilasa presente en el endospermo de la semilla en reposo, pero está inhibida.

La enzima α -amilasa se encuentra en forma de isozima (Olered, 1975). Parece ser que la α -amilasa está unida a los gránulos de almidón mientras que la enzima β -amilasa se encuentra libre y únicamente actúa sobre dextrinas producidas por acción de α -amilasa (Graham, 1974).

1.5 Germinación.

En la formación de la semilla se sintetizan las sustancias de reserva "almidones, proteínas y lípidos". Este proceso se revierte en la germinación, proceso que consiste en un incremento de la actividad metabólica general y permite el crecimiento de la planta a partir del embrión, con lo cual comienzan las hidrólisis rápidas, hay aceleración y desactivación de genes. (Longo y Longo, 1970) demostraron en maíz, la presencia de las enzimas del ciclo del glioxílico: isocitrato sintetasa y sintetasa de malato en los primeros 5 días de desarrollo de la plántula (Dure, 1975).

Durante la germinación el agua disuelve a las enzimas, a los sustratos y a las sales, transforma a los inhibidores de la germinación: giberelinas, cinetina, etc., todo esto desencadena una

serie de actividades bioquímicas en la semilla que dan por resultado el alargamiento celular primero y la división celular y crecimiento de la plántula preformada en el embrión, al emerger la coleorriza en 2 o 3 días se considera que termina la germinación y principia el crecimiento. Existe una relación estrecha entre el embrión y endospermo. El embrión es usualmente derivado de las fusiones de los núcleos de los gametos femenino y masculino. El endospermo funciona como un órgano de almacenamiento (Mayer, 1975).

1.6 Regulación del crecimiento.

Los reguladores de las plantas, se definen como compuestos endógenos, que en pequeñas cantidades, fomentan, inhiben o modifican de alguna manera cualquier proceso fisiológico vegetal. Las hormonas son reguladores producidos por la misma planta; por lo común las hormonas se desplazan en el interior de las plantas, de un lugar de producción a un sitio de acción (Draper, 1976).

1.4.1. Hormonas del crecimiento y desarrollo.

Dentro de las hormonas del crecimiento y desarrollo, tenemos a las auxinas, giberelinas y citocininas, entre otras. Las auxinas desempeñan una función importante en la expansión de las células de tallos y coleóptilos, estimulan también la división celular (Eeuwens, 1975).

Las giberelinas estimulan el crecimiento. Los tallos de las plantas asperjadas con giberelinas se vuelven generalmente mucho más largos que lo normal (Rappaport, 1980). Uno de los ejemplos mejor conocidos de la inducción de enzimas debida a las hormonas es la producción de α -amilasa provocada por las giberelinas en las aleuronas de cebada. Los embriones de cebada producen una giberelina natural que se translada al interior de las capas de aleurona de los endospermos, donde se produce la síntesis de enzimas. Estas enzimas, incluyendo amilasas, proteasas y lipasas, descomponen rápidamente las paredes celulares de los en

dospermos e hidrolizan los almidones y proteínas, liberando así los nutrimentos y la energía necesaria para el desarrollo de los embriones (Weaver, 1980).

Las citocininas provocan la división celular y regulan la diferenciación en los tejidos cortados. Interactúan con las auxinas para mostrar expresiones diferentes de crecimiento. Cualquier cambio del equilibrio entre citocininas y auxinas, puede afectar las expresiones del crecimiento (Belderok, 1976).

Se observó en trigo que el contenido de auxinas, giberelinas y citocininas, cambia durante el crecimiento del grano. Las citocininas son más altas alrededor de la antesis e iniciación de la formación del grano y caen después. Las giberelinas tienen un pico durante la mitad del desarrollo del grano y las auxinas hacia el final del desarrollo del grano (Radley, 1976; Derek, 1978; Taylerson, 1977). En arroz, las relaciones entre giberelinas y cinetinas fueron estudiadas por Cardwell (1978).

1.4.2. Hormona de la latencia.

Se le conoce como la hormona de la latencia al ácido abscísico (ABA), (Khan, 1977; Hamilton, 1976). El ABA es transportado en la planta por el xilema y floema, pero puede ser sintetizado en el grano a partir del ácido mevalónico (Walton, 1980).

El ABA influye en la maduración del grano ya que la adición de ABA a plantas, bloquea la conexión vascular, entre el grano y la planta. Se ha encontrado que el ABA inhibe la producción de amilasas inducida por ácido giberélico (Olered, 1970).

También se ha sugerido que la acumulación de ABA en las últimas etapas de crecimiento del grano, evita la germinación precoz e hidrólisis prematura de reservas de almidón del grano ya morfológicamente desarrollado, pero aún inmaduro. Una consecuencia de esta acción es la iniciación de la maduración del grano (Miyamoto, 1961; King, 1976; Morris, 1978; Wellington, 1956).

Kruger (1976), indicó que la latencia puede ser debida a diversas causas: (1) impermeabilidad de la cubierta de la semilla al agua o gases; (2) resistencia mecánica de la cubierta de la semilla a la expansión del embrión; (3) morfología incompleta - de los embriones; (4) latencia fisiológica que requiere estratificación o luz de apropiada intensidad y (5) inhibidores químicos de los eventos metabólicos.

1.6.3. Inhibidores

Un gran número de sustancias pueden ser inhibidores de la germinación, todos estos compuestos son generalmente tóxicos para organismos vivos, algunas sustancias que dañan propiamente a la semilla, sin embargo existe un tipo de inhibición en la naturaleza que no daña irreversiblemente y es la inhibición osmótica. Es posible impedir la germinación de semillas, simplemente graduando la solución de alta presión osmótica, pero cuando las semillas son removidas del medio y puestas en agua, ellas pueden entonces germinar.

Otro tipo de inhibición es causada por sustancias, las cuales se conoce que interfieren en el metabolismo, un ejemplo de este tipo de interferencia es provista por varios inhibidores respiratorios, compuestos fenólicos como dinitrofenol, azida y otros (Mayer, 1975). Se han encontrado otros compuestos que tienen el efecto inhibitorio de la germinación, como los sesquiterpenos lactosas (Asakawa, 1979) y carotenos (Smith y colaboradores, 1978). A algunos pigmentos naturales se les atribuya este efecto, pero en 1958 Miyamoto y Everson han sugerido que este efecto es causado por catequinas-taninos, pero estos compuestos son incoloros (Stoy, 1976). Otro inhibidor de importancia es la cumarina y sus derivados, que han sido aislados de diferentes plantas y su efecto probado en bioensayos de inhibición (Agarwall, 1976; Balasimha, 1977; Rasmussen, 1977).

De acuerdo con la introducción anterior, se puede hacer énfasis en la importancia de los azúcares solubles como fuentes energéticas para el proceso de germinación y como unidades

de construcción para los polisacáridos que van a constituir el grano maduro. el conocimiento de los azúcares solubles presentes en las etapas de desarrollo del grano, da también una idea sobre los procesos metabólicos preponderantes. Por otra parte es importante recalcar el efecto de la concentración y balance de hormonas vegetales, necesarias para la maduración del embrión y formación de tejidos del grano, así como para regular la latencia de las semillas, en la cual también influyen otros tipos de inhibidores.

En el año de 1980, se propuso un trabajo interdisciplinario entre varias instituciones, entre ellas, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM); Colegio de Postgraduados (C.P.); Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas - (INIA); Centro de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV), para investigar el porqué del problema de la germinación prematura. Se plantearon varios estudios sobre: aspectos agronómicos, fitopatológicos, contenido de elementos - en el suelo y la planta, hormonas vegetales, ciclos metabólicos involucrados, etc.

En el presente trabajo se presupone que el estudio de los azúcares solubles presentes en la germinación prematura, puede dar una idea acerca de las vías metabólicas involucradas y parte de la hipótesis de que la germinación prematura del grano de maíz debe presentarse por un desbalance entre las hormonas promotoras del crecimiento y las hormonas de la latencia en las etapas finales del desarrollo del grano, por lo tanto debe haber una disminución del ácido abscísico y de otros inhibidores.

Los objetivos de este trabajo, son los siguientes:

2.0) OBJETIVOS.

- 1) Ver las diferencias entre el metabolismo de carbohidratos durante la germinación del maíz inmaduro y maduro en H-139 y Criollo de Tlacamílco.
- 2) Investigar la ausencia o presencia de inhibidores de la germinación en maíz inmaduro y maduro.

3.0) MATERIAL

3.1) Material Vegetal

Se analizaron dos variedades de maíz, un híbrido de doble cruza H-139, y el criollo de Tlacamilco, de polinización libre, aportados por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA.)

Estos materiales fueron sembrados el 10 de abril de 1981, en San Antonio Tlacamilco, Pue., en un bloque sólido sin replicaciones. La distancia entre surcos fue de 80 cm y las plantas fueron sembradas a 50 cm de separación.

Los materiales fueron recolectados durante el desarrollo del grano, en muestreos, como se indica en la tabla 1. Las mazorcas fueron colocadas en bolsas de polietileno y almacenadas en refrigeración a -70°C. La muestra de grano analizada corresponde al 60% de la parte central de la mazorca.

3.2) Reactivos.

- a) Serie de azúcares de calidad reactivo: glucosa, sacarosa, ribosa, fructosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, maltosa, mazorcas, rafinosa y galactosa.
- b) Sales y ácidos de calidad reactivo: ácido bórico, cloruro de sodio, tetraborato de potasio, ácido sulfúrico, yodo, yoduro de potasio, orcinol, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, hidróxido de amonio, tungstato de sodio.
- c) Solventes de calidad reactivo: metanol, etanol, acetato de etilo, acetona, éter etílico.
- d) Cumarina marca Baker.
- e) Acido Abscísico, mezcla racémica marca Sigma.
- f) Enzima diastasa, marca Difco.

3.3.) Aparatos.

- a) Analizador Automático de Carbohidratos marca TECHNICON
- b) Espectrofotómetro, Bausch & Lomb Spectronic 20.

- c) Estufa de aire circulante, Blue M
- d) Estufa Thelco
- e) Balanza analítica Mettler Modelo H-16
- f) Refrigerados Kelvin
- g) Congelador Revco
- h) Liofilizador Virtis
- i) Potenciógrafo Methrom
- j) Medidor Automático de área, modelo AAM-5, marca Hayashi Denko.

Así como material de vidriería indispensable para el desarrollo experimental y placas preparadas de sílica gel 60, sin indicador fluorescente de espesor 0.25mm.

4.0) METODOS

4.1) Carbohidratos solubles.

4.1.1.) Curvas patrón de carbohidratos solubles.

Fueron colocadas muestras de azúcares patrón por separado en el analizador automático de carbohidratos "Technicon" y se midió el tiempo de retención para cada azúcar. Para esto se pesó 1 mg de azúcar disuelto en 1 ml de agua destilada y de ahí se tomó una alícuota de 50 ul (50 ug de muestra), la cual se inyectó en la columna del aparato.

4.1.2.) Extracción de carbohidratos solubles.

Las muestras de grano de maíz, tanto grano entero, como endospermo y embrión se extrajeron con etanol al 80%, macerando aproximadamente de 1-3 g en un mortero con etanol al 80%, el preparado se hirvió 15 min. en vaso de precipitados para solubilizar los carbohidratos, se filtró en frío y se aforó a un volumen determinado. Se precipitó la proteína con tungstato de sodio en medio ácido, para poder colocar las muestras en el analizador automático de carbohidratos marca TECHNICON.

4.1.3.) Análisis de Carbohidratos solubles.

Una alícuota de 0.3-1.5 ml del extracto se colocó en la columna del Analizador Automático de Carbohidratos marca Technicon

(Kesler, 1967).

Los carbohidratos en el aparato se separan en un columna de intercambio aniónico, con resina tipo S marca Cromo-Beads, a 54°C. En la columna los carbohidratos forman complejos con el borato y dependiendo del tipo de azúcar son eluidos con un gradiente de ácido bórico-cloruro de sodio, en diferentes concentraciones y de menor a mayor pH (8-9.5), dichas soluciones se distribuyen en 9 cámaras (tabla 2). Después los azúcares - reaccionan con orcinol al 0.1% en ácido sulfúrico al 70%, desarrollando el color a través de un baño de reacción a 90°C, que es registrado en un colorímetro y las curvas de cada azúcar se obtienen en el registrador (figura 1).

4.1.4.) Identificación y cuantificación de carbohidratos solubles.

De acuerdo con los patrones de azúcares, y según su tiempo de retención, (Fig. 2) son identificados así como cuantificados midiendo el área bajo la curva de cada azúcar, con un - medidor de área, siendo el contenido de carbohidratos proporcional al área bajo la curva (tabla 3).

4.2.) ALMIDON .

4.2.1.) Extracción de Almidón.

Al residuo seco exento de carbohidratos, se le agregaron 100 ml de agua y se hirvió durante media hora para gelatinizar al almidón. El preparado anterior se llevó a una temperatura de 55°C en un baño de agua y se le agregaron 20 ml de diastasa al 1%. Se repitió la operación hasta dar prueba negativa con yodo, para asegurar que todo el almidón esté hidrolizado, después se filtró y aforó a un volumen conocido.

Se tomó una alícuota de 20 ml del hidrolizado anterior, se le añadieron 10 ml de HCl ($d=1.125$) y se reflujo durante dos - horas y media, se neutralizó a pH=7 con NaOH primeramente y fi

TABLA 2.- CONDICIONES DE TRABAJO DEL ANALIZADOR AUTOMATICO DE CARBOHIDRATOS MARCA TECHNICON.

Presión: 250 psi
Flujo: 1.0 ml/min
Altura de la columna: 75 cm
Temperatura de la columna: 54 °C
Temperatura del baño de reacción: 90 °C
Resina: S-Cromo Beads-Technicon
Reactivo: Orcinol al 0.1% en H₂SO₄ al 70%

Soluciones stock para formar el eluyente:

Solución: I.- Acido bórico 0.1 M pH 8
" II.- Acido bórico 0.1 M, NaCl 0.05 M pH 8
" III.- Acido bórico 0.1 M, NaCl 0.1 M pH 8
" IV.- Acido bórico 0.2 M pH 8
" V.- Acido bórico 0.2 M, NaCl 0.2 M pH 9.5

Eluyente:

Cámara 1.- 50 ml solución I.
" 2.- 50 ml solución I.
" 3.- 25 ml solución I + 25 ml solución II.
" 4.- 20.0 ml solución III + 30.0 ml solución IV
" 5.- 25 ml solución IV + 25 ml solución V.
" 6.- 25 ml solución IV + 25 ml solución V.
" 7.- 25 ml solución IV + 25 ml solución V.
" 8.- 50 ml solución V.
" 9.- 50 ml solución V.

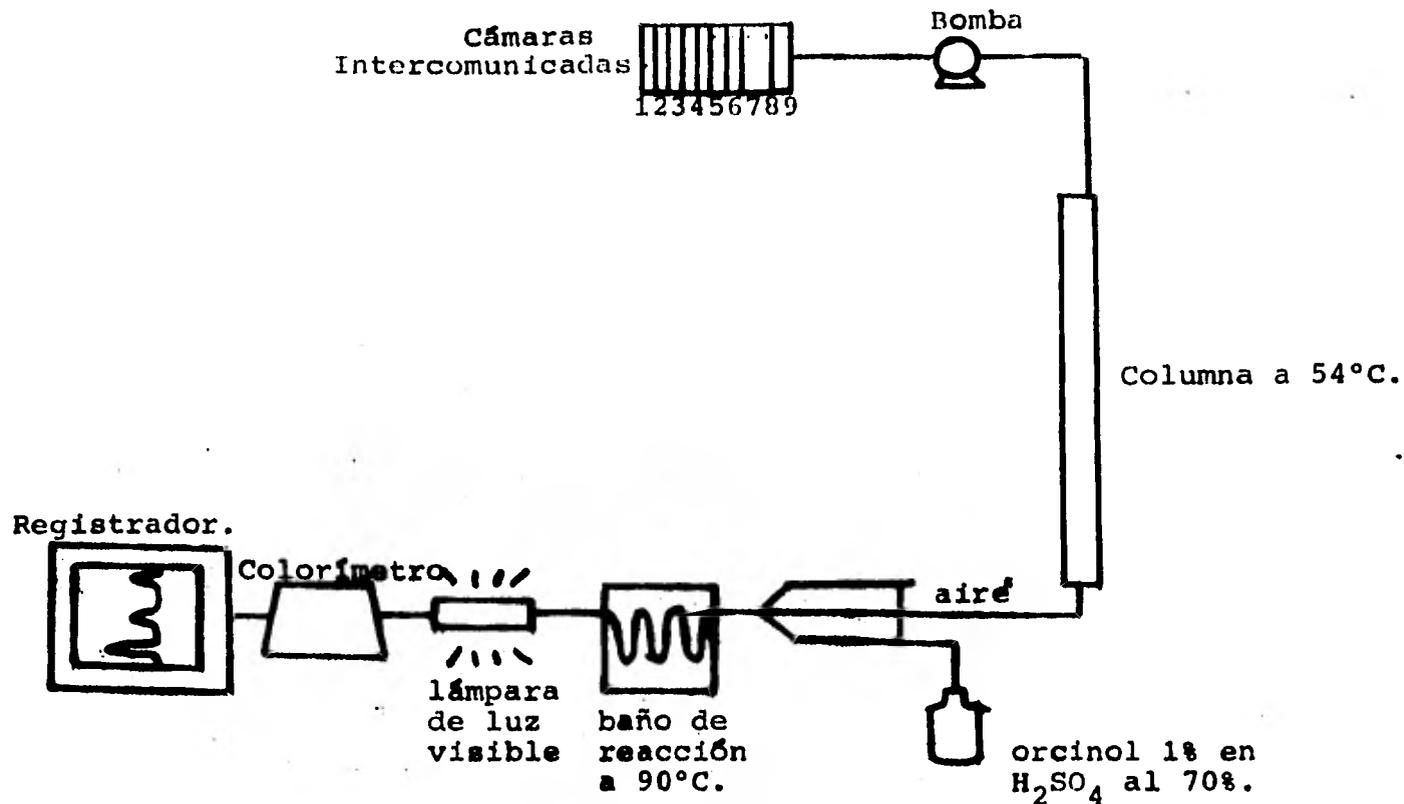


Fig. 1 .- Representación gráfica del Analizador Automático de Carbohidratos marca Technicon. La composición de las soluciones que se colocan en las 9 cámaras intercomunicadas se describe en la tabla 1 . La temperatura de la columna se mantiene constante por medio de un baño de agua de recirculación.

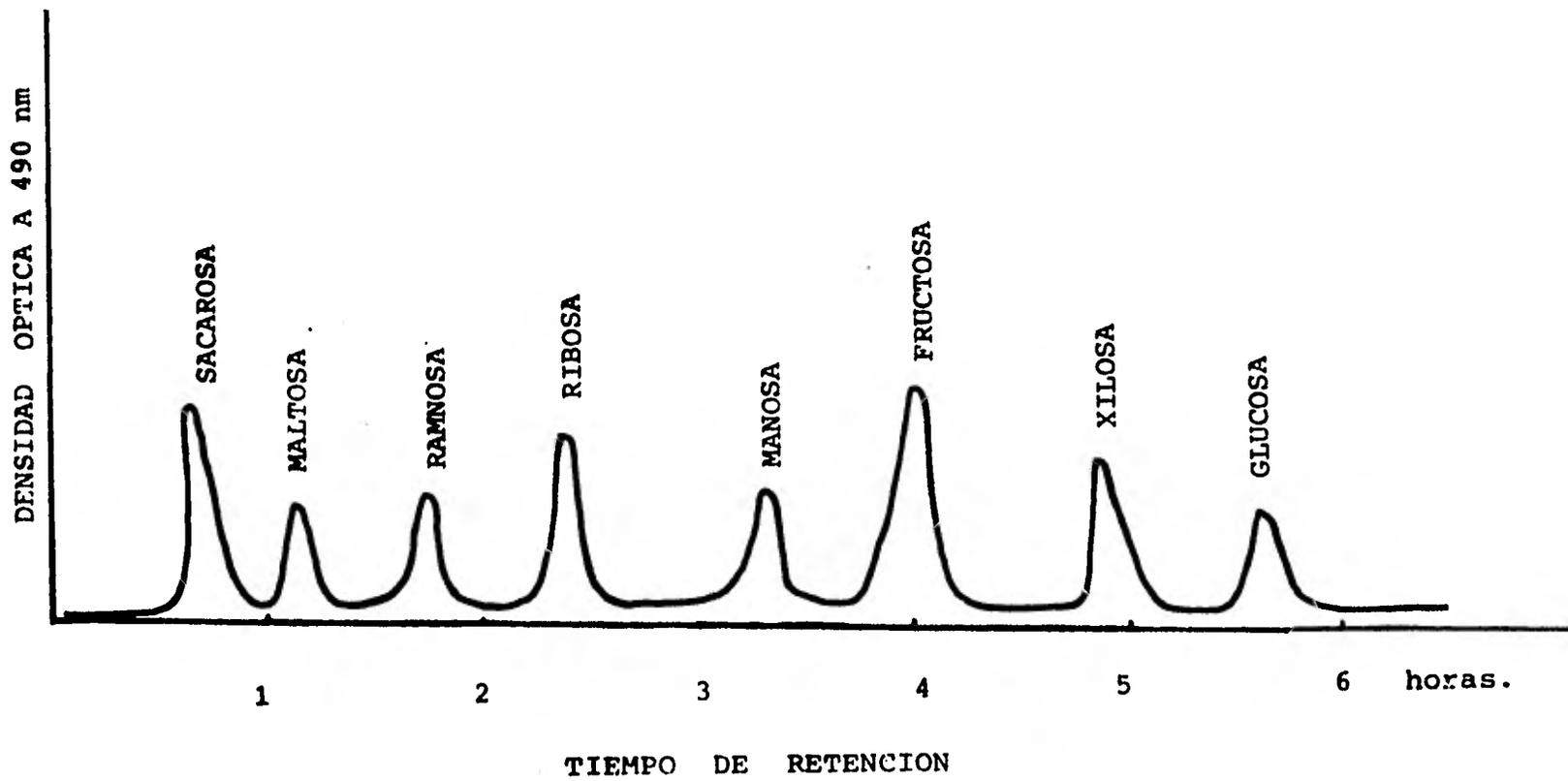


Fig. 2.- Identificación de azúcares solubles, por medio del Analizador Automático de Carbohidrtatos, -

Tabla 3.- Microgramos de carbohidrato por centímetro cuadrado de área -- obtenida en el registrador del analizador automático de carbohidratos. Los valores dados son promedio de dos repeticiones.

CARBOHIDRATO	ug/cm ²
Sacarosa	3.58
Fructosa	3.63
Xilosa	1.57
Glucosa	2.66
Maltosa	3.26
Ramnosa	1.50
Manosa	1.95
Ribosa	1.83
Galactosa	2.47

nalizando con NaHCO_3 . Se aforó a un volumen determinado y se cuantificó por el método colorimétrico de Nelson. (Nelson, 1944).

4.2.2.) Curva patrón de glucosa.

Reactivo A de Nelson.- Se disolvieron 12.5 g de Na_2CO_3 (anhidro), 12.5 g de tartrato de sodio y potasio, 10 g de NaHCO_3 y 100 g de Na_2SO_4 (anhidro) en 350 ml de H_2O y se aforó a 500 ml.

Reactivo B Nelson.- Se disolvieron 7.5 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 50 ml de H_2O , y se agregó una gota de H_2SO_4 concentrado.

Reactivo de Arseno molibdato.- Se disolvieron 25 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 45 ml de H_2O y se agregaron 21 ml de H_2SO_4 concentrado. Aparte se disolvieron 3.0 g de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en 25 ml de H_2O y se agregó a la solución ácida de molibdato. Se almacenó en una botella café por 24 hrs a 37°C (Clark, 1964).

Se pesaron 10 mg de glucosa y se aforó con 100 ml de agua destilada, tomando alícuotas de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, y 1.0 ml, a las cuales se les agregó 1 ml del reactivo A+B (12.5 ml del reactivo A+0.5 ml de reactivo B) y se calentó 15 min en un baño maría a 80°C , se enfrió en un baño de hielo, se agregó después 1 ml del reactivo de molibdato y se diluyó con 7 ml de agua destilada y se agitó hasta quedar la solución homogénea. Las lecturas del color desarrollado se hicieron en el espectrofotómetro Bausch & Lomb a 540 nm. (Figura 3).

4.2.3.) Cuantificación.

Se determinó el almidón en grano entero, tomando una alícuota, de la muestra aforada y después de la hidrólisis ácida y siguiendo los pasos mencionados para la curva patrón de glucosa. Una alícuota de diastasa al 1% fue analizada bajo las mismas condiciones experimentales para determinar su contenido en glucosa. Los resultados en porcentaje de glucosa se multiplicaron por el factor 0.9 para obtener el valor del almidón.

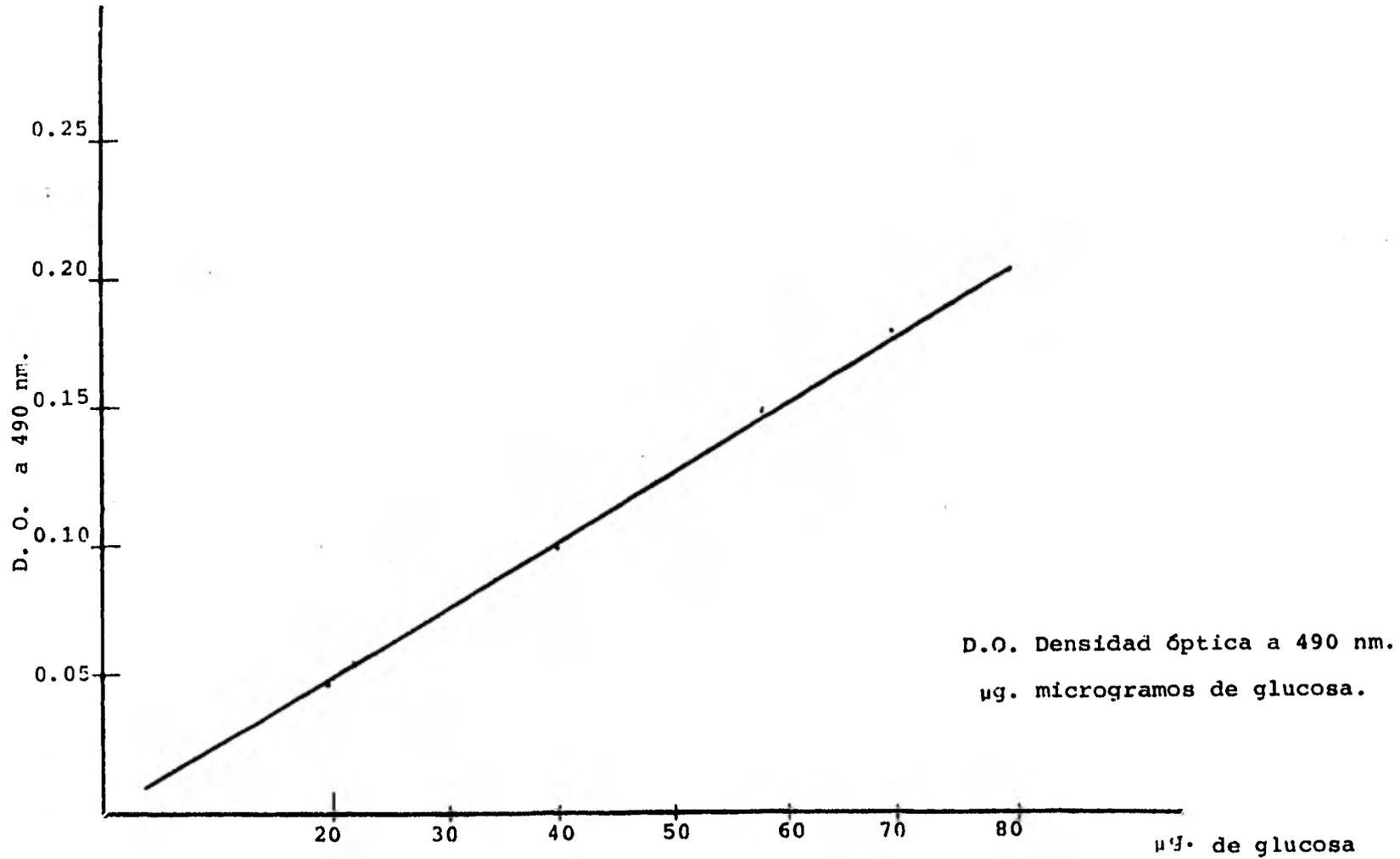


Fig. 3 .- Curva patrón de glucosa.
los valores dados son promedio de 3 repeticiones.

4.3) Determinación de Humedad.

Se pesaron aproximadamente 3 g de muestra y se colocaron en cajas de aluminio ya taradas, se colocaron en estufa a 60°C y después de dos días se pesaron, hasta quedar en peso constante. Este se define cuando la variación de peso entre tres pesadas consecutivas no fuera mayor a 3 mg. (Winton y Winton, 1974).

4.4.) Inhibidores.

4.4.1.) Cromatografía en capa fina de ácido abscísico (ABA) y cumarina y los extractos ácidos y básicos de los granos de maíz.

En placas de vidrio de 20 x20 cm cubiertas con sílica gel, se realizó cromatografía en capa fina, de sustancias tipo de ácido abscísico, cumarina y los extractos ácidos y básicos de los granos enteros de los maíces criollo local y H-139, corriéndose con la mezcla de solventes: isopropanol-amoniaco - agua (10:1:1) a una distancia total de 10 cm. El ABA se detectó con lámpara de luz ultravioleta, la cumarina y extractos - con $KMnO_4$ en H_2SO_4 y se midieron los R_f correspondiente.

4.4.2.) Curvas tipo de ABA y cumarina.

Se prepararon soluciones con diferentes concentraciones de ABA y cumarina sintética y se probaron con 50 semillas de lechuga por 4 días en la oscuridad y a temperatura ambiente, para observar el efecto inhibitorio sobre la germinación de las semillas de lechuga y relacionarlo con la inhibición producida por los extractos de las semillas de maíz.

4.4.3.) Extracción de Inhibidores.

200 granos de maíz fueron macerados con metanol al 80% en frío. Se filtró con papel filtro y el sobrenadante se concentró en un rotavapor a presión reducida a 35°C hasta quedar el extracto acuoso, éste fue liofilizado, después se disolvió en

50 ml de agua destilada y se ajustó a pH=8.2 con NaOH, se extrajo dos veces con éter etílico y el extracto etéreo básico se guardó. El extracto acuoso se reajustó a pH=2.8 con HCl y se volvió a extraer dos veces con éter. Los dos extractos etéreos ácido y básico se evaporaron a sequedad a temperatura ambiente y se guardaron para purificarlos en capa fina. (figura 4) (Hari y Gurmit, 1977).

4.4.3.1.) Purificación de los inhibidores.

Se realizó cromatografía en capa fina de cada uno de los extractos ácidos y básicos de los granos de maíz, disueltos en 1 ml de éter y se aplicaron con capilares en placas de capa fina de 20 x 20 cm, corriéndose con isopropanol-amoniaco-agua - (10:1:1 v/v) a una distancia total de 10 cm. Se raspó la región comprendida entre Rf 0.3-0.9 y se disolvieron los inhibidores con 10 ml de agua destilada con agitación durante 24 horas.

4.4.3.2.) Bioensayo de inhibición.

Los extractos anteriores por separado se probaron en el ensayo biológico de germinación de 50 semillas de lechuga por 4 días en la oscuridad y a temperatura ambiente. Después de este tiempo se contaron las semillas que tuvieron el efecto inhibitorio de los diferentes extractos.

5.0) RESULTADOS Y DISCUSION.

5.0.1.) Experimentación en el campo.

De las observaciones realizadas con las variedades criollo local y H-139, el brotamiento apareció a los 55 d.d.f. y en mayor proporción en el híbrido H-139 (23%) y en criollo local (5.4%).

Los granos brotados tenían las siguientes características;

Los granos afectados tenían el embrión germinado en diversos grados o etapas de crecimiento, siendo en cualquier parte de la mazorca el brotamiento, generalmente la minúscula plántu

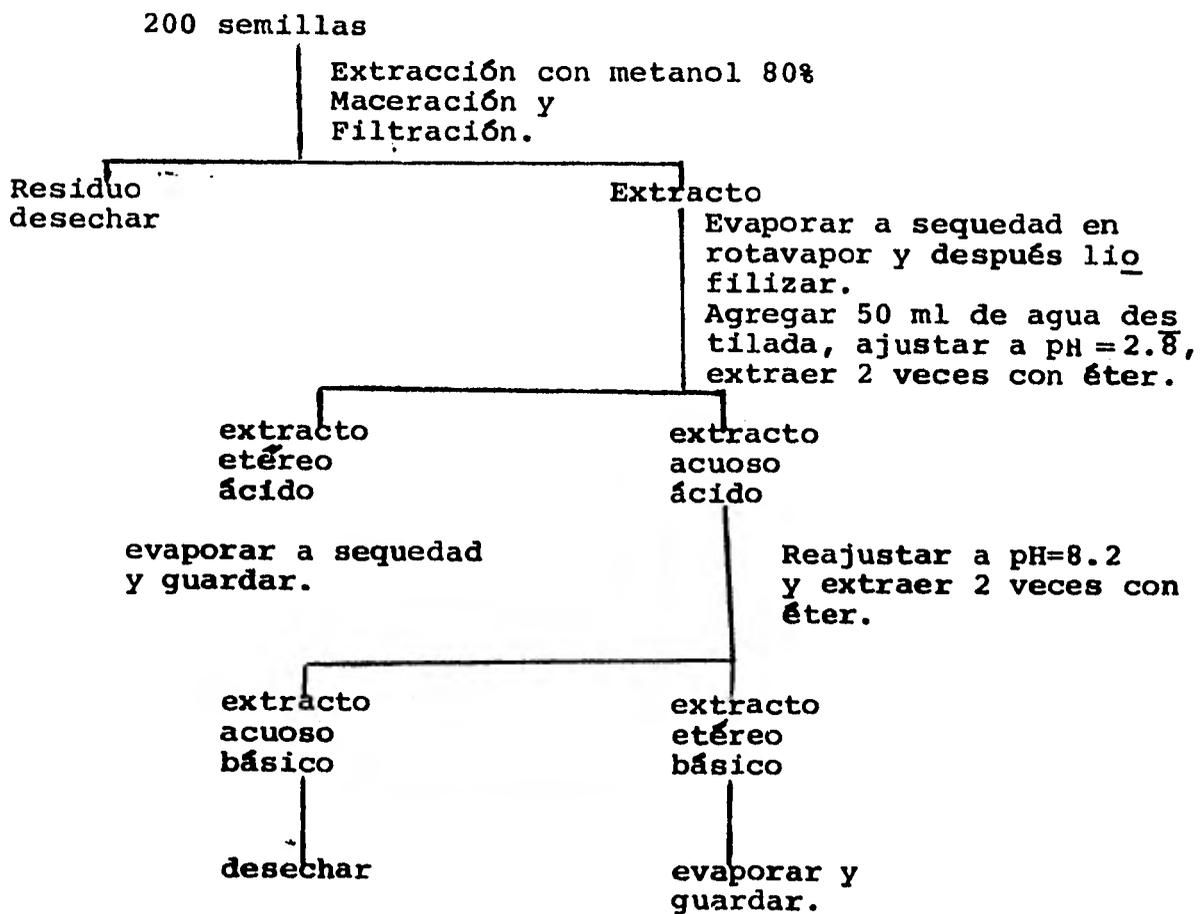


FIGURA 4 .- Esquema de la extracción de inhibidores de la germinación y crecimiento a partir del grano entero de los maíces Criollo local y H-139.

la aún no había roto el pericarpio del grano y puede verse a través de esa membrana. Casi nunca hay presencia de radícula y a la pequeña plántula, desde su aparición aún cubierta por el pericarpio ya presenta un color verde intenso a pesar de estar cubierta la mazorca con sus brácteas.

Para las determinaciones hechas en este trabajo, para tener una variable, se analizó el grano brotado en H-139, por ser el de mayor porcentaje de brotamiento y como referencia exclusivamente se analizaron los granos no brotados en el criollo local.

5.1) Contenido de carbohidratos solubles durante el desarrollo del grano de maíz.

5.1.1.) En la variedad criollo local.

Los azúcares solubles encontrados en el endospermo, en el embrión y en el grano entero, fueron: sacarosa, xilosa y glucosa, a los 25, 40 y 70 días después de la floración (d. d.f.) y en la madurez comercial. La fructosa apareció a los 40 d.d.f. en embrión exclusivamente (Figura 5).

Dentro de los azúcares solubles, la sacarosa se encontró en mayor cantidad en endospermo, embrión y grano entero, (Cameron, 1954); los valores más altos están en el embrión, Bernstein en 1943 encontró resultados semejantes en maíz. En este trabajo, en el criollo local el comportamiento de la sacarosa durante los días de floración mencionados es en forma de zig-zag para cada fecha. De los 25 a los 40 d.d.f. - hay una disminución de sacarosa, probablemente es utilizada para la maduración del embrión ya que este período se encuentra en las etapas de embrión inmaduro a estado lechoso del grano. De los 40 a los 55 d.d.f. aumenta la sacarosa tanto en embrión como en endospermo. De los 55 a los 70 d.d.f. - baja el contenido de sacarosa en el embrión de 1.37 a 0.58% y en endospermo de 1.05 a 0.25% (tabla 4). Hacia la madurez comercial en el embrión hubo un aumento muy notable, hasta-

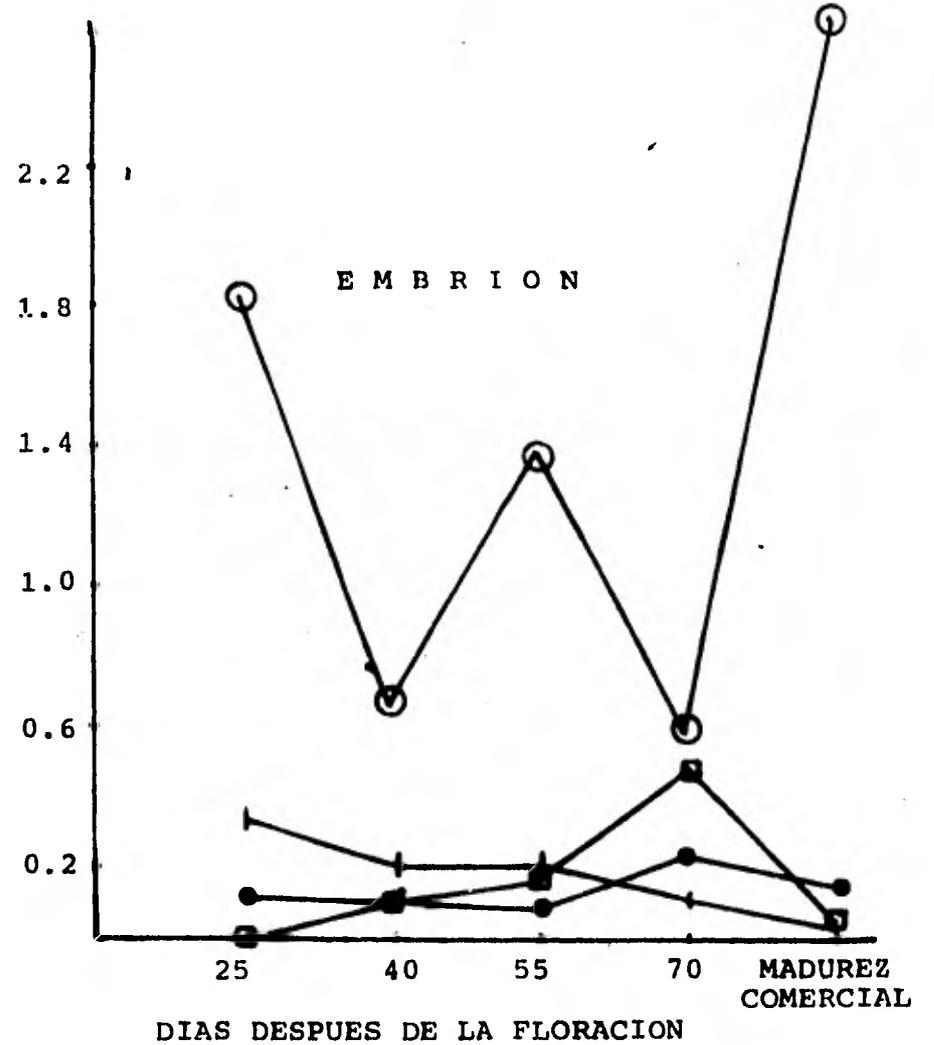
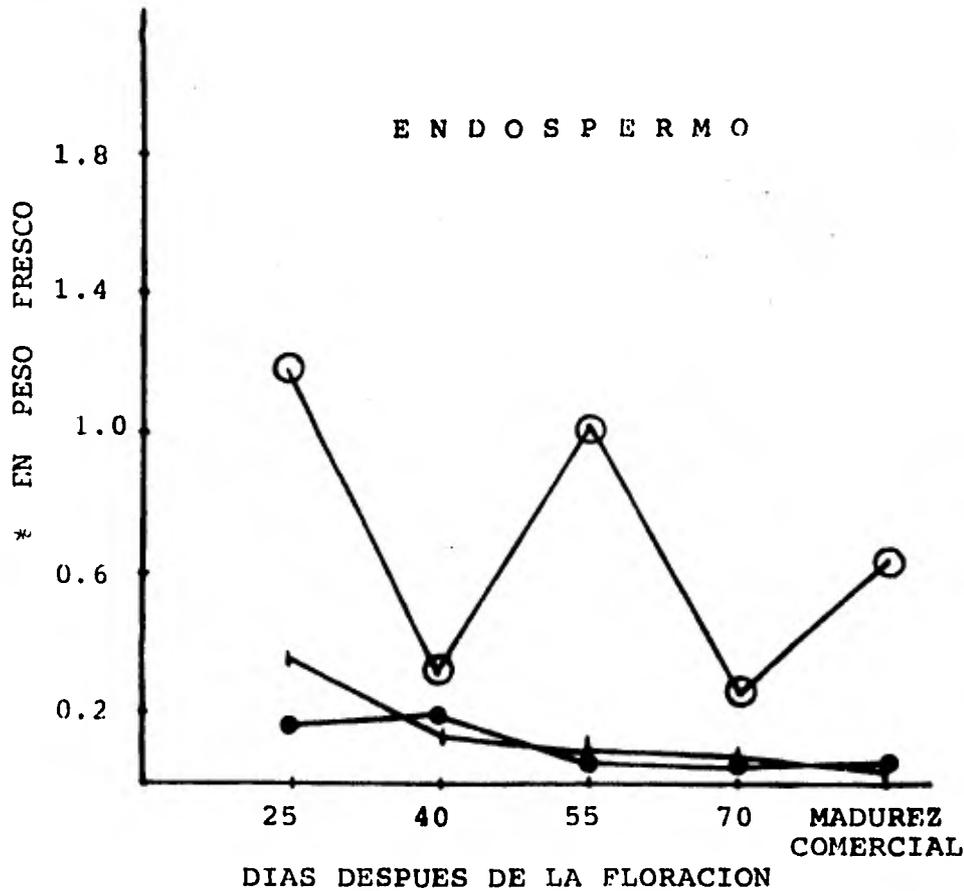


Fig. 5.- Porcentaje de carbohidratos solubles durante el desarrollo del grano de maíz, en el Criollo local. Sacarosa O—O; Glucosa ●—●, Xilosa |—|; Fructosa □—□.

TABLA 4.- PORCENTAJE (EN PESO FRESCO) DE AZUCARES SOLUBLES EN ENDOSPERMO Y EN EMBRION DEL MAIZ CRIOLLO LOCAL DURANTE EL DESARROLLO DEL GRANO.

<u>E_N_D_O_S_P_E_R_M_O</u>				
DIAS DESPUES DE LA FLORACION FEMENINA	SACAROSA	FRUCTOSA	XILOSA	GLUCOSA
25	1.16	0.00	0.35	0.17
40	0.29	0.00	0.14	0.19
55	1.05	0.00	0.08	0.08
70	0.25	0.00	0.08	0.07
MADUREZ COMERCIAL	0.63	0.00	0.03	0.05
<u>E_M_B_R_I_O_N</u>				
25	1.82	0.00	0.34	0.12
40	0.65	0.10	0.21	0.10
55	1.37	0.16	0.19	0.08
70	0.58	0.47	0.11	0.23
MADUREZ COMERCIAL	4.35	0.03	0.02	0.14

8 veces más confirmando los datos encontrados en Earley en 1951, los valores experimentales fueron de 0.58 a 4.35% debido probablemente a que este carbohidrato está como reserva en el embrión en estado de madurez, ya que cuando se pone a germinar la semilla bajo las condiciones apropiadas de humedad y temperatura, es utilizado como fuente de energía durante los dos primeros días para el crecimiento de la nueva plántula (Sosa, 1978). En endospermo el aumento de sacarosa fue de 0.25% a los 70 d.d.f. y 0.63% en la madurez comercial.

En grano entero se hicieron análisis entre los 25, 40 y 55 d.d.f. encontrándose un comportamiento de sacarosa similar al encontrado en endospermo y embrión, los valores encontrados fueron 0.93 0.51 y 1.02% en el criollo local en las etapas correspondientes. (figura 6 y tabla 5).

En cuanto a xilosa y glucosa, (tabla 4) las variaciones entre cada etapa, no fueron notables. En endospermo la glucosa aumentó entre los 25 y los 40 d.d.f. a 0.19% y baja a 0.08% a los 55 d.d.f.; a los 70 d.d.f., disminuyó 0.07% y en la madurez comercial disminuyó a 0.05%. En el embrión la glucosa está en concentración semejante a los 25, 40 y 55 d.d.f. pero aumenta a 0.23% a los 70 d.d.f., para disminuir a 0.14% en la madurez comercial. En grano entero la glucosa varió de 0.34 a 0.06 y 0.11% de los 25 a los 40 y 55 d.d.f., respectivamente. (tabla 5). La xilosa en endospermo fue bajando desde los 25 d.f.f. hasta la madurez comercial desde 0.35 hasta 0.03 % en embrión de 0.34 a 0.02% (tabla 4). En grano entero la xilosa tuvo valores altos a los 25 d.d.f. (0.38 %) y a los 55 d.d.f. (0.25%) (tabla 5 y figura 6). La presencia de xilosa fue una indicación de que el ciclo de pentosas estuvo en forma activa.

En lo que respecta a fructosa (tabla 4) no se detectó en el endospermo del maíz criollo local; en el embrión aumentó 5 veces, desde los 40 hasta los 70 d.d.f. y se redujo a 0.03% en la madurez comercial, caso similar fue presentado en el grano entero (tabla 5) de los 40 a 55 d.d.f. La presencia de gluco-

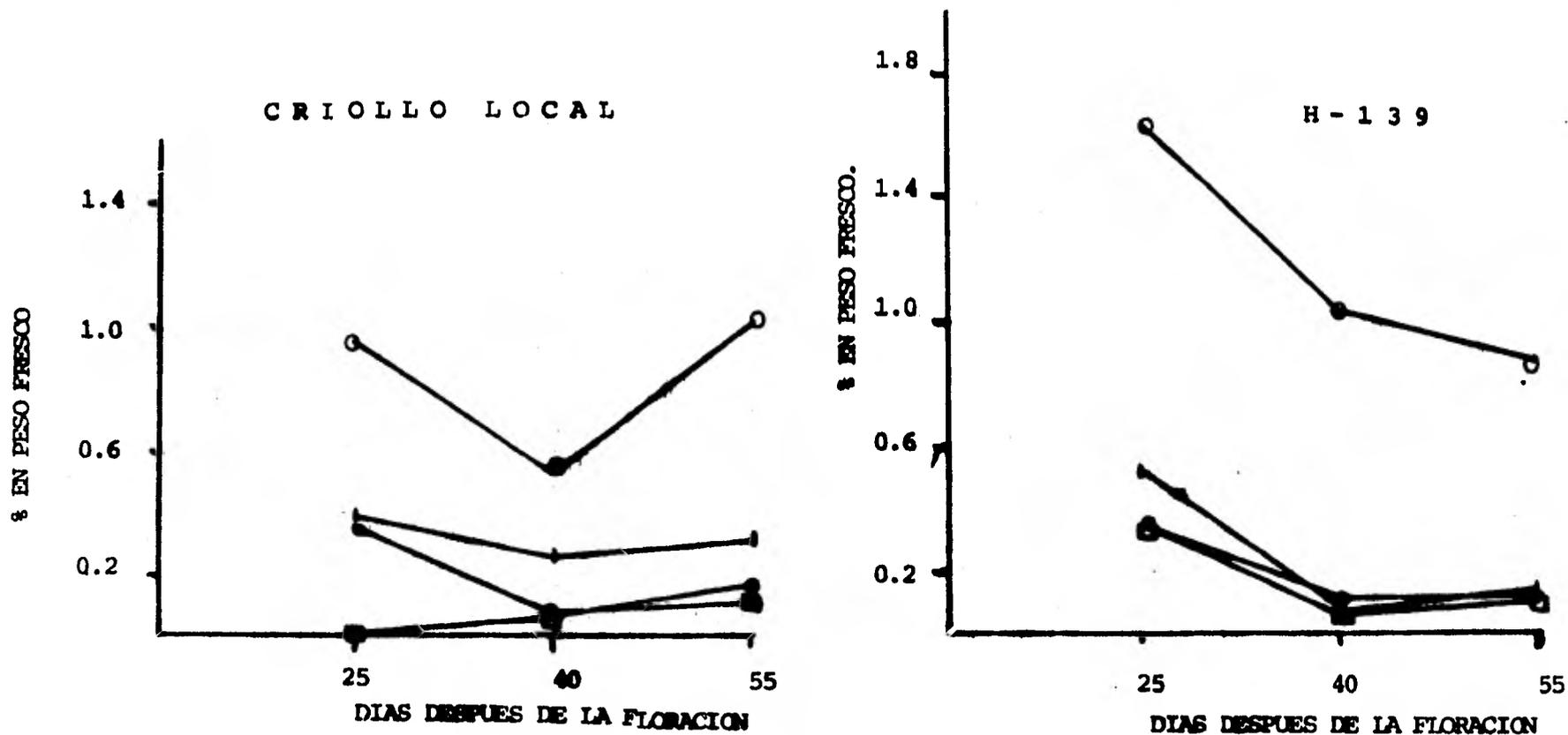


Fig. 6.- Contenido de carbohidratos solubles durante el desarrollo del grano de maíz, en el grano entero de las variedades, - Criollo local y H-139 (grano no germinado). Sacarosa O—O; Glucosa □—□; Mielosa △—△ ; Fructosa ■—■ .

TABLA 5.- PORCENTAJE (EN PESO FRESCO) DE AZUCARES SOLUBLES DURANTE EL DESARROLLO DEL GRANO ENTERO DE MAIZ EN LAS VARIETADES DE CRIOLLO LOCAL Y H-139.

GRANO ENTERO	C R I O L L O L O C A L				
	SACAROSA	FRUCTOSA	XILOSA	GLUCOSA	RIBOSA
DIAS DESPUES DE LA FLORACION FEMENINA.					
25	0.93	0.00	0.38	0.34	0.00
40	0.51	0.05	0.25	0.06	0.00
55	1.02	0.16	0.30	0.11	0.00
GRANO ENTERO		H - 1	3	9	
25	1.61	0.35	0.53	0.36	0.00
40	1.19	0.10	0.07	0.08	0.00
55	0.87**	0.12**	0.17**	0.15**	0.00**
	0.94*	0.03**	0.09**	0.11**	0.02**

** GRANO NO GERMINADO

* GRANO GERMINADO

sa y fructosa, es una indicación de la actividad de la glicólisis, simultáneamente con el ciclo de pentosas, tal como ya se ha mencionado en la literatura (Gordon, 1980). Las enzimas de estos procesos metabólicos son las primeras que aparecen durante la germinación del grano y probablemente la presencia de estos azúcares solubles durante la formación del grano, sugiere también que estos procesos metabólicos están activos, aunque hay poca evidencia experimental.

5.1.2.) En la variedad H-139.

El comportamiento de esta variedad durante el desarrollo, fue diferente con respecto al criollo local, ya que en H-139 apareció el brotamiento en mayor porcentaje que en el criollo local a los 55 d.d.f. (grano lechoso-masoso) (figura 8), otra diferencia es que en esta misma fecha en el embrión se pudo detectar la presencia de ribosa, la cual no fue encontrada en el criollo local. Durante la formación del grano, la sacarosa, glucosa, xilosa y fructosa, también estaban presentes - en H-139. En endospermo y embrión, la concentración de sacarosa disminuyó desde los 25 a los 55 d.d.f., como ya se mencionó para el criollo, (figs. 7 y 8) la disminución entre los 25 y 40 d.d.f. puede ser debida a la utilización de este azúcar para la maduración del embrión y probablemente de los 40 a los 55 d.d.f. la cantidad de sacarosa bajó debido a que en esta etapa se presentó el brotamiento del grano y se consume energía para el crecimiento de la plántula (fig. 8 y tabla 6).

Para el análisis de azúcares solubles, se tomaron granos de H-139, aparentemente no germinados y granos germinados - (Tabla 6 y figs. 7 y 8) los cuales tenían el embrión de color verde, observación hecha también por González en 1976; en los dos análisis hechos, no hubo diferencia en el comportamiento de la sacarosa, probablemente debido a que el grano no brotado, aparentemente estaba en vías de brotar. En la tabla 6 se puede observar que de los 55 d.d.f. a la madurez comercial, en el endospermo la sacarosa tuvo una baja no muy apreciable de 0.65 a 0.52% para grano no brotado y de 0.64 a 0.52% para grano

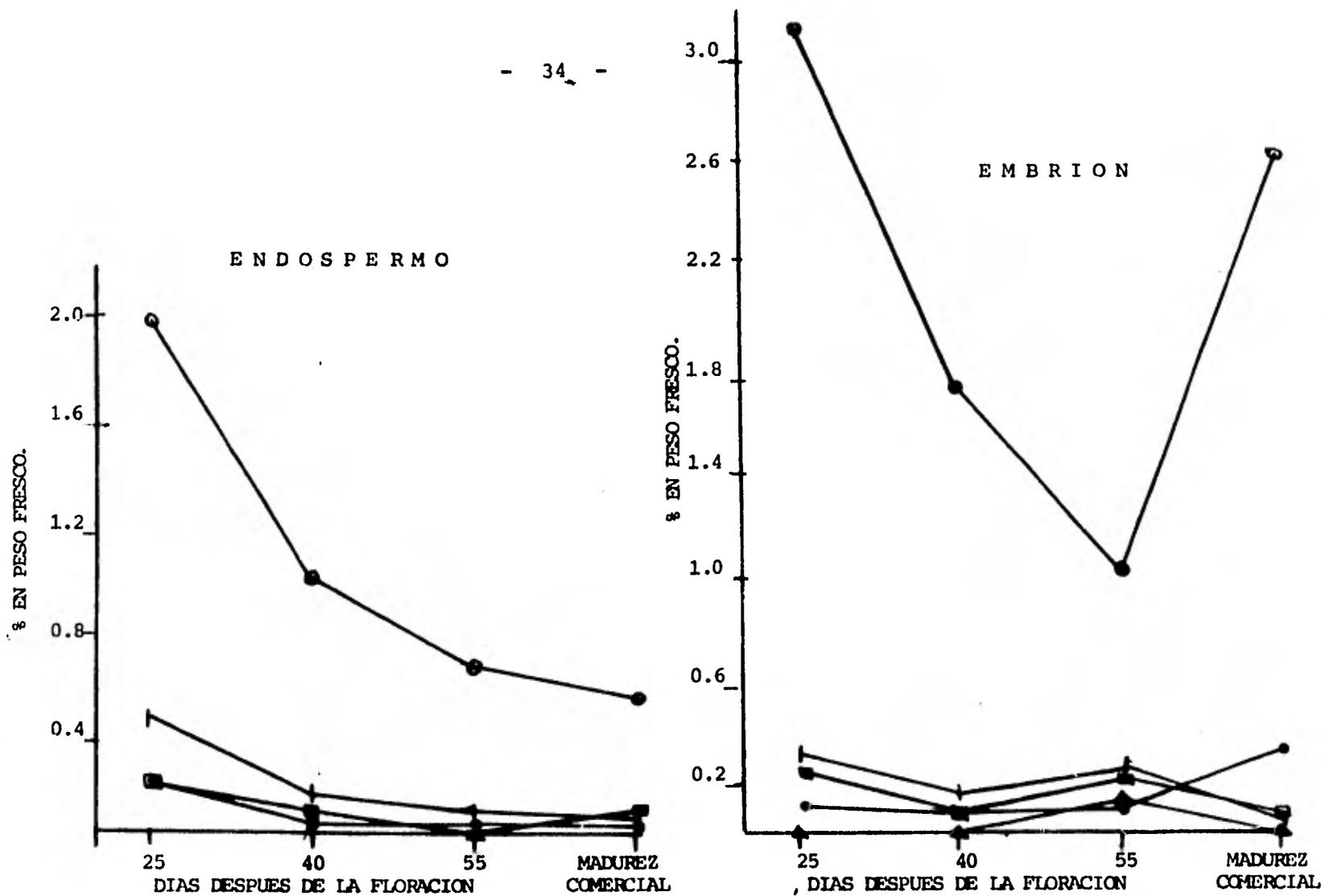


Fig. 8.- Porcentaje de carbohidratos solubles durante el desarrollo del grano de maíz en la variedad H-139, (grano germinado a los 55 días después de la floración)
 Sacarosa ●—● ; Glucosa ●—● ; Xilosa —|— ; Fructosa ■—■ ; y Ribosa

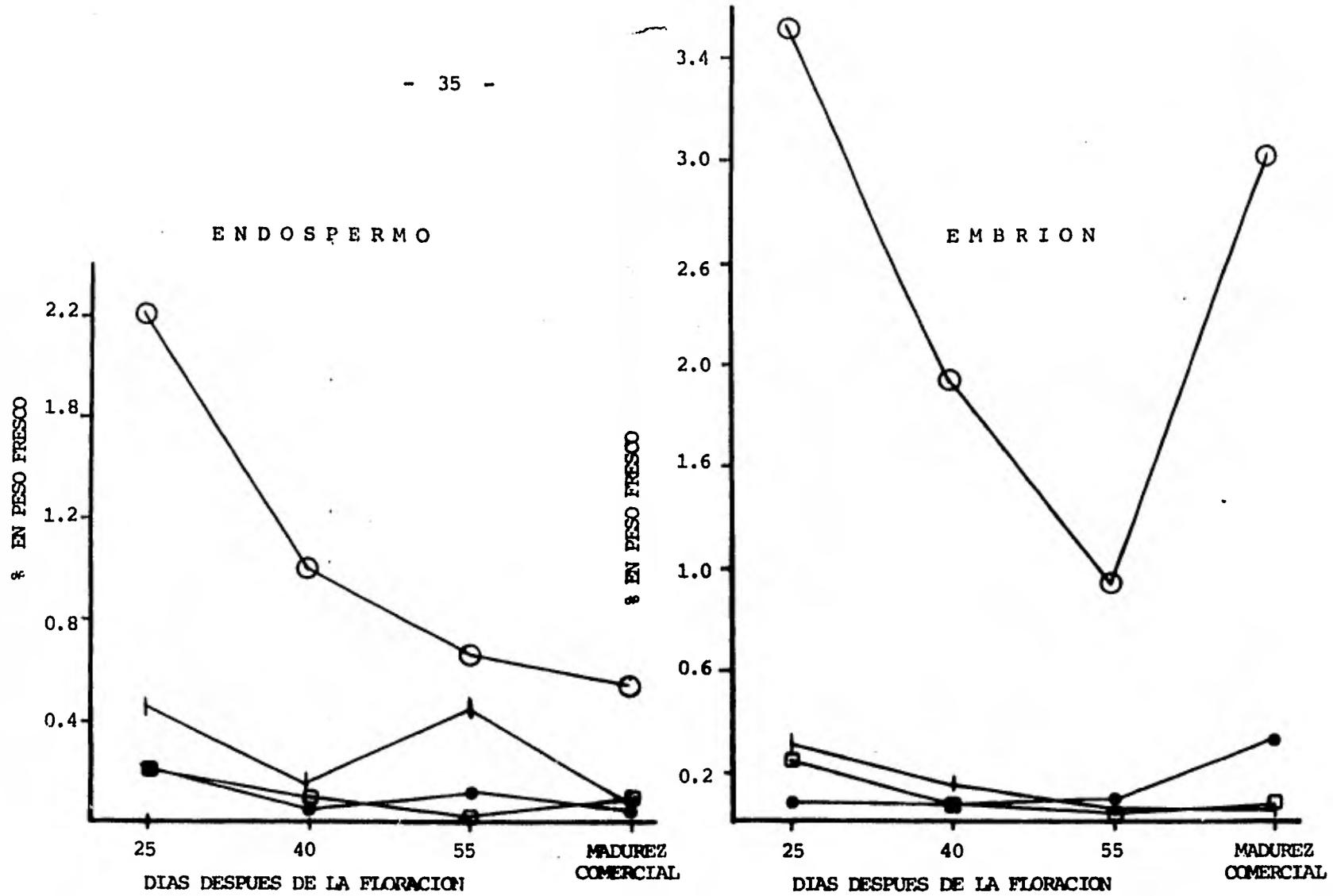


Fig. 7 .- Porcentaje de carbohidratos solubles durante el desarrollo del grano de maíz en la variedad H-139. Sacarosa O—O ; Glucosa ●—● ; — Xilosa ▲—▲ ; Fructosa □—□. grano no germinado a los 55 d.d.f.

TABLA 6.- PORCENTAJE (EN PESO FRESCO) DE AZUCARES SOLUBLES EN ENDOSPERMO Y EN EMBRION DEL MAIZ H-139 DURANTE EL DESARROLLO DEL GRANO.

DIAS DESPUES DE LA FLORACION FEMENINA.	E N D O S P E R M O				
	SACAROSA	FRUCTOSA	% XILOSA	GLUCOSA	RIBOSA
25	2.02	0.20	0.45	0.20	0.00
40	1.02	0.10	0.15	0.07	0.00
55	0.65 *	0.01*	0.43 *	0.06 *	0.00
	0.64**	0.00**	0.09*	0.05* *	0.00**
MADUREZ COMERCIAL	0.52	0.08	0.06	0.04	0.00
	E M B R I O N				
25	3.15	0.23	0.30	0.1	0.00
40	1.73	0.08	0.15	0.08	0.00
55	0.93*	0.02*	0.04 *	0.06*	0.00 *
	1.07**	0.22**	0.25**	0.07**	0.12**
MADUREZ COMERCIAL	2.61	0.06	0.05	0.32	0.00

* GRANO NO GERMINADO

**GRANO GERMINADO.

no brotado y de 0.64 a 0.52% para grano brotado, indicando estas cantidades similitud en el proceso de desarrollo de los dos granos. En embrión en cambio de los 55 d.d.f a la madurez comercial hubo un aumento de sacarosa (tres veces más) para ambos granos (figura 7 y 8). en grano entero la sacarosa tuvo el mismo comportamiento en las tres primeras etapas de desarrollo (tabla 5).

En endospermo la glucosa experimentó una disminución gradual de los 25 d.d.f. a la madurez comercial y en embrión disminuye de 25 a 55 d.d.f. y aumenta en la madurez comercial y alcanzando su valor final de 0.32% (tabla 6). En grano entero la glucosa disminuyó de los 25 a los 40 d.d.f. y a los 55 d.d.f. aumenta aproximadamente dos veces para ambos tipos de grano (tabla 5).

En endospermo de grano de H-139 no germinado, la xilosa, de los 25 a los 40 d.d.f. disminuye y aumenta a los 55 d.d.f. hasta una concentración de 0.43% y en grano germinado disminuye de 0.09 a 0.06%, de los 55 d.d.f. a la madurez comercial. (tabla 6 y figs. 7 y 8). En embrión la xilosa, experimenta una reducción en las tres primeras etapas y aumenta poco a la madurez comercial. En el grano entero (tabla 5) la xilosa varía de 0.53 a 0.07% y sube a 0.17% a los 55 d.d.f. para grano no brotado, pero para grano brotado baja a 0.09%. Esto indicaría utilización de azúcares para el crecimiento de la plántula en el grano brotado. La fructosa en endospermo y embrión no brotado de H-139 experimentó ligeras variaciones en las cuatro etapas estudiadas, en cambio desaparece en el endospermo de grano no germinado a los 55 d.d.f. y para embrión tiene un valor de 0.22% para la misma etapa de desarrollo. Para grano entero (tabla 5) la fructosa disminuye de los 25 a los 55 d.d.f., en grano no germinado y disminuye 0.03% para grano germinado, (fig. 6).

La ribosa se presentó únicamente a los 55 d.d.f. en embrión de grano germinado (tabla 5) indicando probablemente la actividad del ciclo de pentosas durante el brotamiento (Gordon, 1976).

5.2) Contenido de Carbohidratos solubles en grano maduro y seco, germinado experimentalmente, en las variedades Criollo Local y H-139.

Para poder hacer una comparación entre el brotamiento durante la formación del grano, y la germinación, experimentalmente se germinaron las semillas maduras del maíz criollo local durante 7 días y el H-139 durante 3 días, encontrándose para ambos casos los azúcares solubles: sacarosa, fructosa, xilosa y glucosa, en concentración aproximada a las encontradas durante el desarrollo del grano. (tablas 7a y 7b). fue notable la aparición de maltosa en endospermo, en ambas variedades, como indicación de la actividad de amilasas (Sosa, 1978).

En el criollo local la concentración de maltosa en el endospermo, fue de 0.56% y en H-139 0.22%, aproximadamente la mitad, indicando que a los 7 días la actividad de las amilasas está en forma más activa que a los 3 días de germinación. En los granos brotados de H-139, no se encontró maltosa, probablemente debido a que todavía no estaban presentes las amilasas, posiblemente se encontraba el grano brotado en una etapa equivalente a los 2 días de germinación, ya que al tercer día se hace presente la actividad de las amilasas (Kruger, 1976; Sosa, 1978).

Además en criollo local estuvieron presentes en poca cantidad la ramnosa en embrión (0.03%), manosa y ribosa en endospermo en concentración de 0.17 y 0.24% respectivamente, la ribosa también se encontró en grano germinado de H-139. (figs. 9 y 10).

5.3) Contenido de almidón durante el desarrollo del grano de maíz en las variedades Criollo Local y H-139..

Durante el desarrollo del grano, tanto en el criollo local como en H-139, el contenido de almidón fue aumentando rápidamente de los 25 a los 55 d.d.f. (Figura 11). De los 55 d.d.f. a la madurez comercial, el aumento fue, de 42.65%

TABLA 7a.- PORCENTAJE (EN PESO FRESCO) DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN SEMILLAS SECAS GERMINADAS EXPERIMENTALMENTE 7 DIAS, DE LA VARIEDAD CRIOLLO LOCAL.

A Z U C A R E S	E M B R I O N	E N D O S P E R M O
SACAROSA	1.86	0.69
MALTOSA	0.00	0.56
RAMNOSA	0.03	0.00
RIBOSA	0.00	0.24
MANOSA	0.00	0.17
FRUCTOSA	0.28	0.19
XILOSA	0.39	0.35
GLUCOSA	0.07	0.62

TABLA 7b.- PORCENTAJE (EN PESO FRESCO) DE CARBOHIDRATOS SOLUBLES EN SEMILLAS SECAS GERMINADAS EXPERIMENTALMENTE 3 DIAS, DE LA VARIEDAD H-139.

A Z U C A R E S	E M B R I O N	E N D O S P E R M O
SACAROSA	1.23	0.63
MALTOSA	0.00	0.22
FRUCTOSA	0.20	0.00
XILOSA	0.31	0.51
GLUCOSA	0.08	0.11

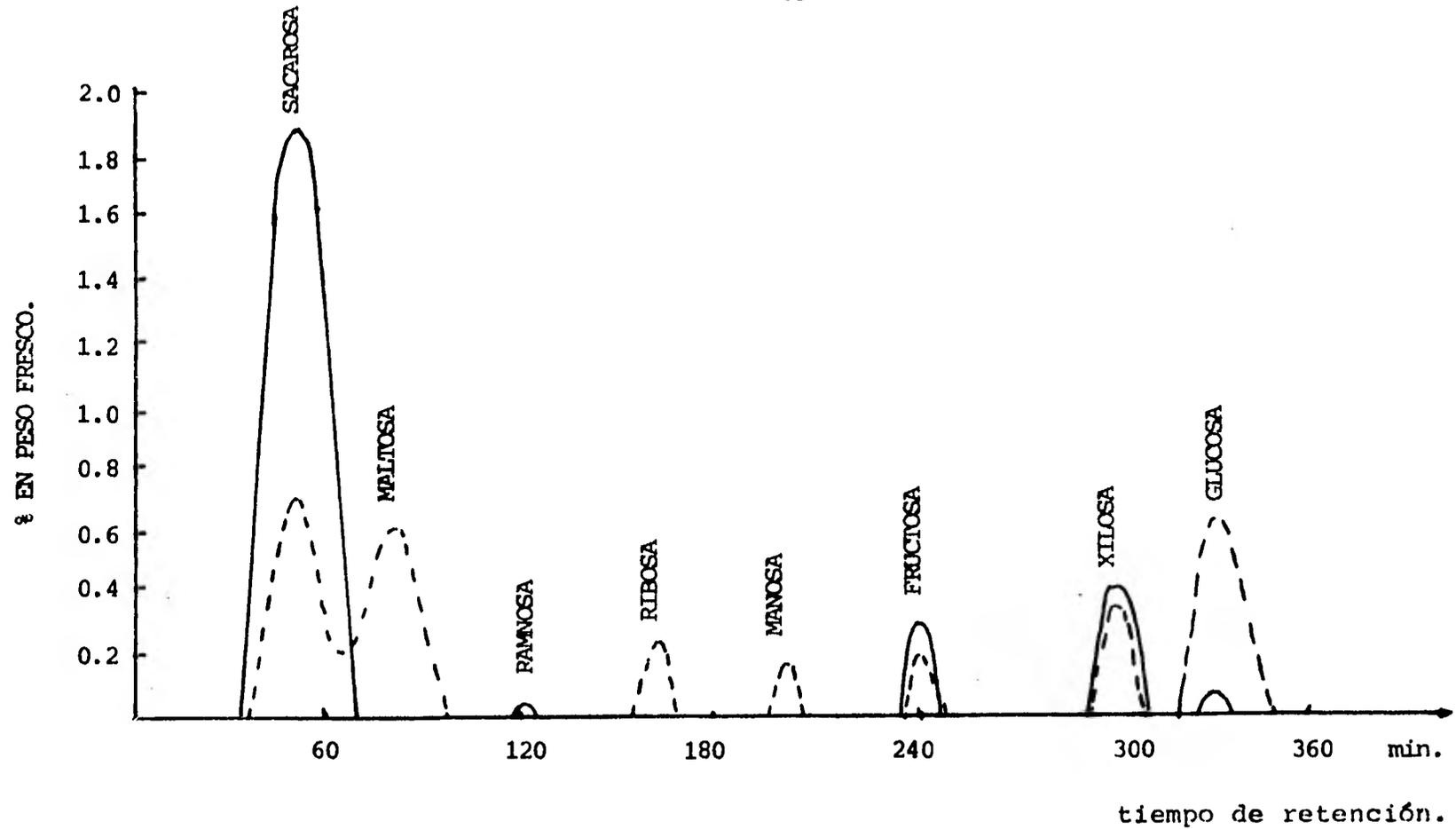


Fig. 9 .- Contenido de carbohidratos solubles en semillas secas germinadas una semana, de la variedad Criollo local. Embrión _____ ; Endospermo ----- .

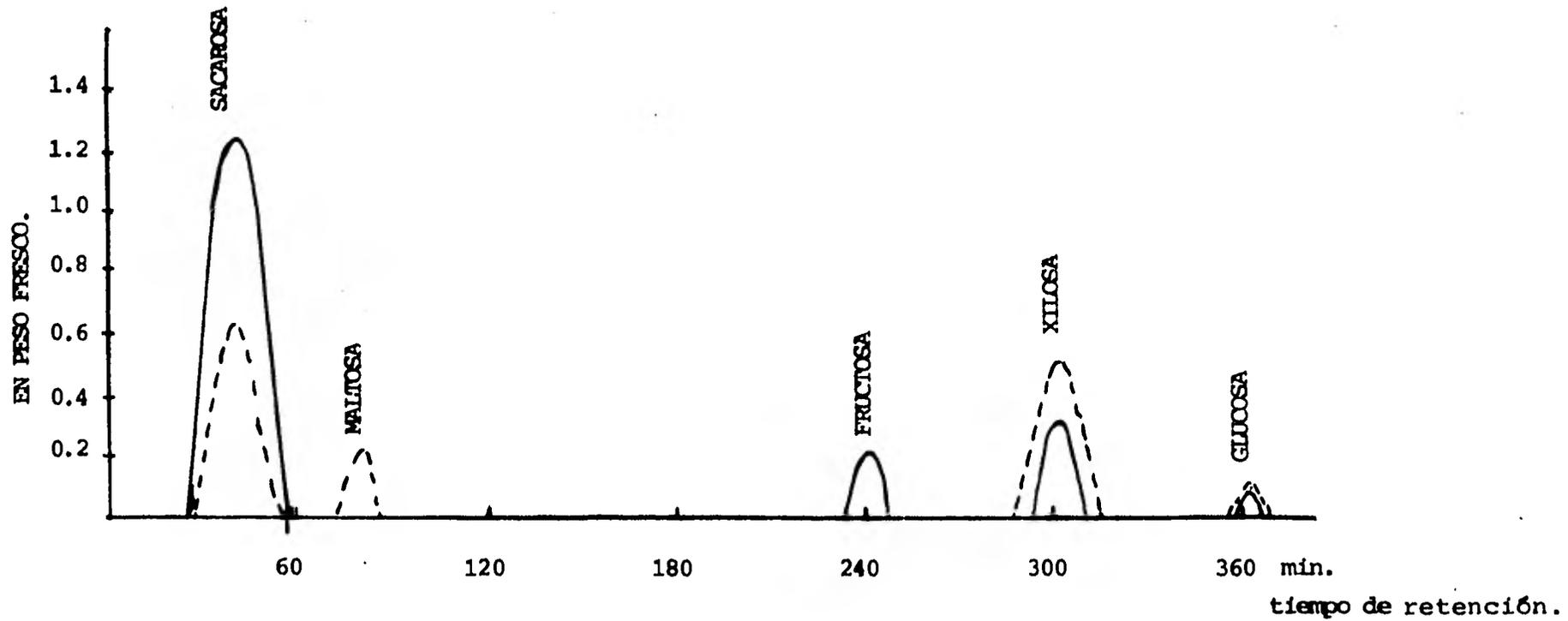


Fig.10.- Contenido de carbohidratos solubles en semillas secas germinadas 3 días, de la variedad H-139. Embrión _____ ; Endospermo ----- .

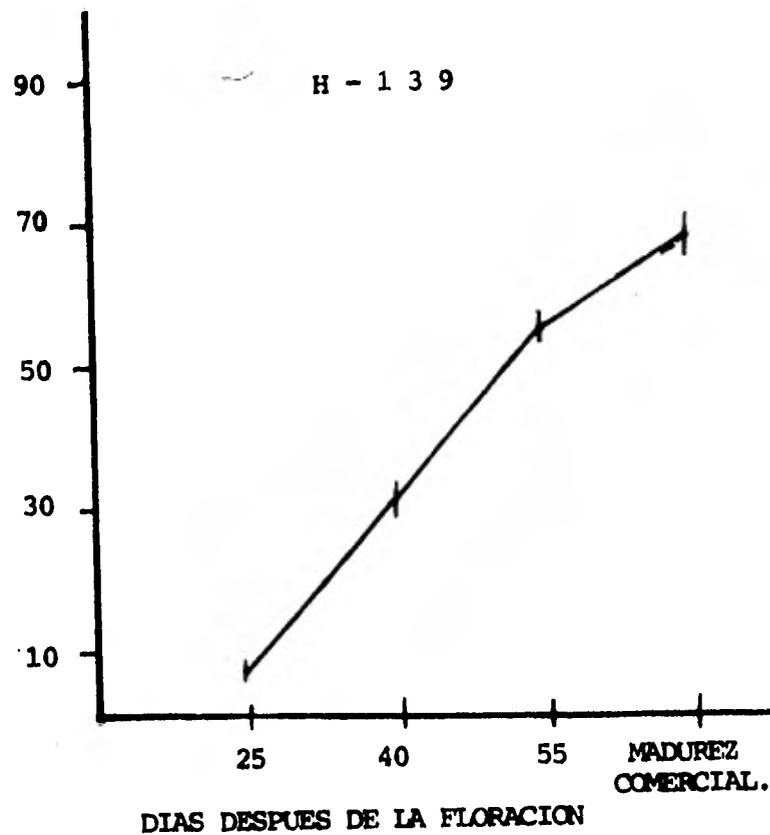
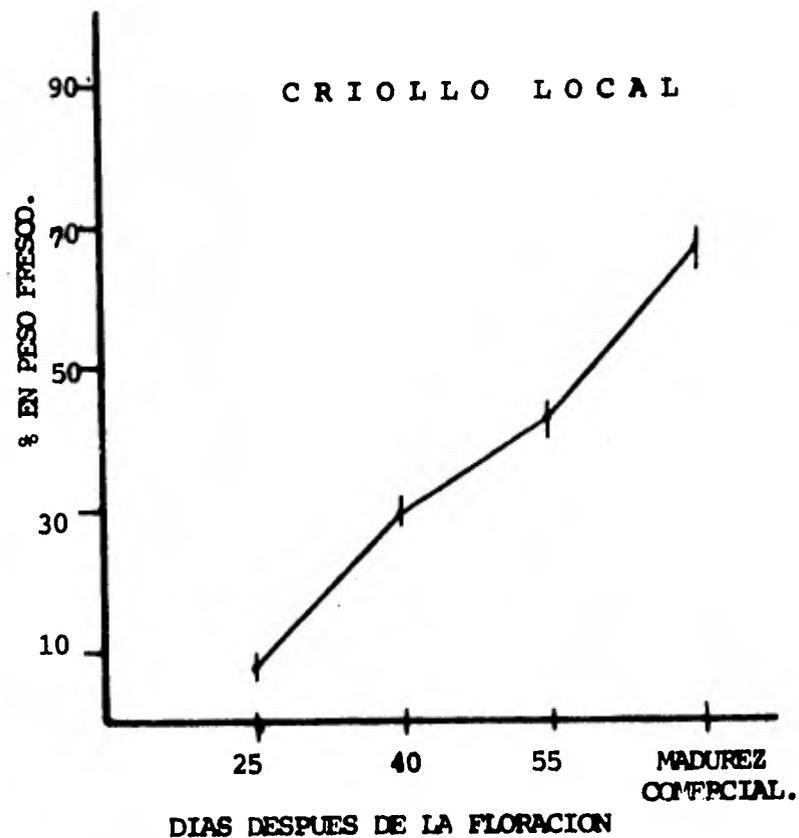


Fig.11.- Porcentaje de almidón durante el desarrollo del grano, de las variedades Criollo local y H-139.

a 66.46% para criollo local y de 53 a 67% para H-139. (Tabla 8). En H-139 no hubo diferencia en el contenido de almidón a los 55 d.d.f. para grano brotado y no brotado, indicando que el en grno brotado todavía no había actividad amilolítica. El aumento del almidón es un índice del llenado del grano en las diferentes etapas de desarrollo y actúa como polisacárido de reserva en el mismo. Cuando la semilla está madura, se alcanzan los valores más altos en almidón, (Dure, 1960; Earley, 1951).

5.4) Contenido de Humedad durante el desarrollo del grano.

El contenido de humedad en los maíces criollo local y H-139 va en forma contraria con el almidón, durante el desarrollo del grano, ya que ~~mientras~~ el almidón aumenta, la humedad disminuye. Al aumentar los días de floración hay pérdida de agua, ~~contrarrestada~~ por el llenado del grano de otros materiales. Los valores de humedad en criollo local, fluctúan entre 75.38 y 7.30% entre los 25 d.d.f. y la madurez comercial; 77.63 y 8.12% en H-139. (tabla 8 y figura 12).

5.5) Inhibidores.

5.5.1.) Cromatografía en capa fina de ácido abscísico (ABA) cumarina y los extractos etéreos ácidos y básicos.

Bajo las condiciones experimentales descritas anteriormente, los valores obtenidos de Rf, para el ABA y cumarina fueron de - 0.69 y 0.70 respectivamente, el valor de Rf de ABA, es parecido al reportado por Tognoni y colaboradores en 1977.

Se realizó cromatografía en capa fina, con los extractos etéreos ácidos y básicos de los granos de los maíces criollo local y H-139, encontrándose para los extractos ácidos, revelados con reactivos para cumarina, manchas grisáceas entre Rf 0.7-0.9, probablemente siendo derivados de la cumarina o la misma cumarina.

TABLA 8.- PORCENTAJE DE HUMEDAD Y ALMIDON (EN PESO FRESCO) DURANTE EL DESARROLLO DEL GRANO, EN LAS VARIETADES CRIOLLO LOCAL Y H-139. LOS VALORES DADOS SON PROMEDIO DE 3 REPETICIONES.

DIAS DESPUES DE LA FLORACION .	ALMIDON		HUMEDAD			
	CRIOLLO LOCAL	%	H-139	CRIOLLO LOCAL	%	H-139
25	6.9		6.7	75.38		77.63
40	29.10		29.93	50.34		47.12
55	42.65		53.61	41.37		40.02
			54.72*			
SEMILLA MADURA						
	66.46		67.17	7.30		8.12

*SEMILLA BROTADA.

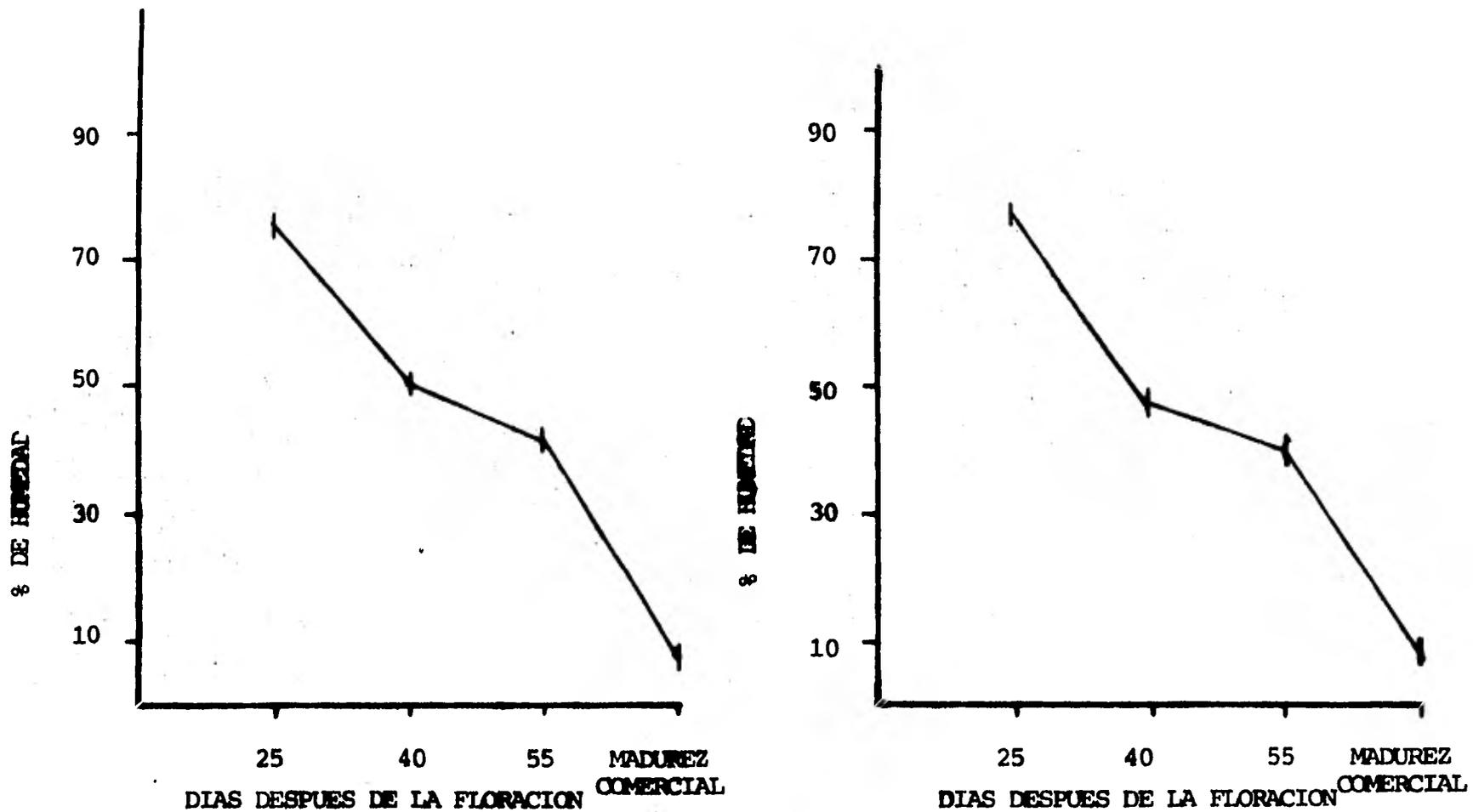


Fig.12 .- Porcentaje de humedad durante el desarrollo del grano de maíz de las variedades Criollo local y H-139.

De las placas se raspó la región comprendida entre Rf 0.3 0.9, porque este rango contiene una mayor cantidad de inhibidores, entre otros el ácido cinámico (Rf 0.4) aunque éste no fue detectado en las placas de cromatografía de los extractos del maíz.

5.5.2.) Curvas patrón de inhibición de ABA y Cumarina.

Como ya se indicó, se pusieron 50 semillas de lechuga a germinar con diferentes concentraciones de ABA y cumarina. - Como testigo se pusieron cajas de petri con agua destilada y las 50 semillas de lechuga.

Para ABA se tomaron concentraciones de 8,12,16,20,24 y 32 ppm y conforme aumentaba la concentración, el porcentaje de germinación de semillas era menor, hasta 32 ppm donde no hubo germinación. (Tabla 9). Muchos autores, entre ellos Walton en 1980, han hecho observaciones similares en diferentes tipos de semillas. Para cumarina, se tomaron concentraciones de 4,8,12,16,20,24,28 y 30 ppm y aparentemente en las siete primeras concentraciones todas las semillas germinaron, pero conforme se aumentaba la concentración, el tamaño de la plántula era menor y a los 30 ppm ya no hubo crecimiento de la plántula. (figura 13).

5.5.3) Inhibidores en los extractos ácidos de granos de maíz en criollo local y H-139.

Como ya se indicó, en los bioensayos de inhibición con semillas de lechuga con sustancias patrón de ácido abscísico los efectos observados sobre las semillas fueron de inhibición de la germinación y en cumarina las concentraciones bajas permitieron la germinación pero hay inhibición del crecimiento de la plántula; al probar los extractos ácidos de los granos de maíz en las semillas de lechuga, también se observaron estos dos tipos de inhibición, por lo que en cada caja de petri, se realizó conteo de semillas que tuvieran inhibición de la germinación y/o del crecimiento, según los extrac

TABLA 9.- INHIBICION DE LA GERMINACION DE 50 SEMILLAS DE LECHUGA POR ACIDO ABSCISICO. LOS VALORES DADOS SON PROMEDIO DE 2 REPETICIONES.

PPM	SEMILLAS GERMINADAS	% DE GERMINACION	% DE INHIBICION
8	46	88.32	11.68
12	38	72.96	27.04
16	18	34.56	65.44
20	6	11.52	88.48
24	2	3.84	96.16
32	0	0	100%

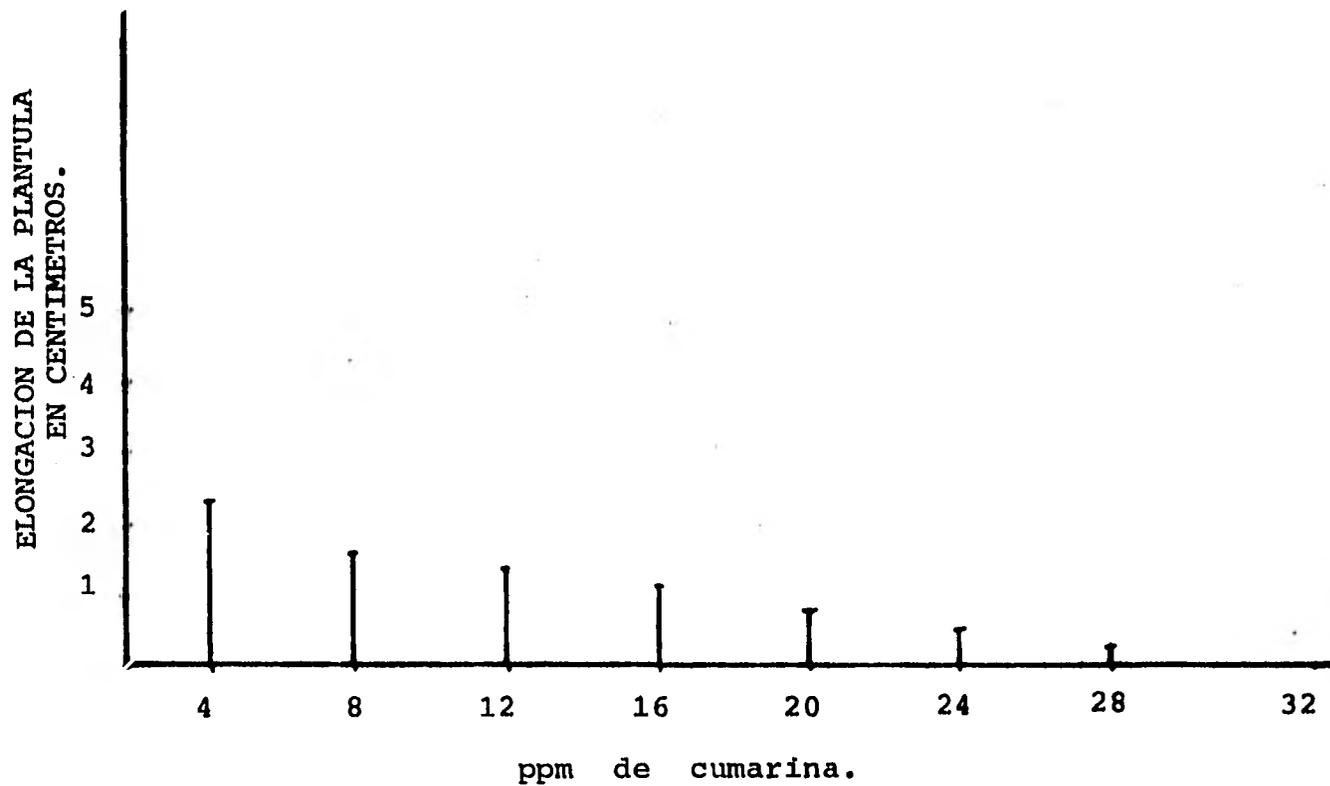


Figura 13.- Inhibición del crecimiento de la plántula de lechuga por cumarina. Los valores dados son promedio de dos repeticiones. A 30 ppm ya no hubo crecimiento de la plántula.

tos de que se trataran, por lo que a continuación se hará men
ción de estos tipos de inhibición.

Se probaron los extractos ácidos y básicos en el bioensay
o de inhibición, con 50 semillas de lechuga, pero únicamente
se observó inhibición en los extractos ácidos.

En la variedad Criollo Local (tabla 10 y fig.14), hubo -
un aumento de inhibición del crecimiento de los 40 a los 55 -
d.d.f., siendo esta última etapa el porcentaje mayor encontrado
para esta variedad, de 98.08% y no encontrándose el efecto
inhibitorio de la germinación, sin embargo a los 40 d.d.f. -
cuando el grano se encuentra en el estado lechoso se obtuvo el
valor más bajo en cuanto a la inhibición de la germinación,
siendo de 15.52%, mientras que en la etapa de madurez comercial
se obtuvo el valor más alto de este tipo de inhibición, (40.21%)
sin embargo en la inhibición del crecimiento en esta etapa se
obtuvo el menor valor (48.26%) (tabla 10 y figura 14). La inhib
ición total se calculó por la suma de ambos efectos. Estos res
ultados están de acuerdo con lo escrito por King en 1976 y -
por McWha en 1975, sobre trigo.

Para la variedad H-139 a los 40 d.d.f. hubo un máximo de
76.80% de inhibición del crecimiento y un mínimo de 23.20% de
inhibición de la germinación; a los 55 d.d.f. tanto en grano
no brotado y brotado, los valores de inhibición de la germinac
ión son semejantes, pero hubo diferencia en el tipo de inhib
ición del crecimiento, para grano no germinado 44.68% y 0%
para grano germinado. Llegando a la madurez comercial, hay
una gran diferencia en la inhibición de la germinación siendo
de 35.73% para grano brotado y 76.96% para grano no brotado .
En el momento en que se presenta la germinación inmadura en
H-139 hay sólo 27% de inhibición total, este hecho parece -
confirmar la hipótesis inicial de que la germinación premat
ura del maíz debe coexistir con una disminución de los inhib
idores, los cuales son factores que propician la latencia de
la semilla, junto con otras causas (Walton, 1980). Para la
madurez comercial no hubo gran diferencia para ambos granos

TABLA 10.- PORCENTAJE DE INHIBICION DE LA GERMINACION Y EL CRECIMIENTO DE LA PLANTULA DE LECHUGA POR LOS EXTRACTOS ACIDOS DEL GRANO DE MAIZ DURANTE SU DESARROLLO

DIAS DESPUES DE LA FLORACION	VARIEDAD	%GERMINACION	DEL CRECIMIENTO.	DE LA GERMINACION.	TOTAL
40	Criollo local	0	84.48	15.52	100
	H-139	0	76.80	23.20	100
	Criollo local	1.92	98.08	0	98.80
55	H-139 germinado prematuramente.	72.96	0.00	27.04	27.04
	H-139 no germinado .	26.88	44.68	28.43	73.12
	Criollo Local	11.52	48.26	40.21	88.48
Madurez Comercial	H-139 germinado prematuramente.	36.48	27.79	35.73	63.52
	H-139 no germinado.	0.0	23.04	76.96	100

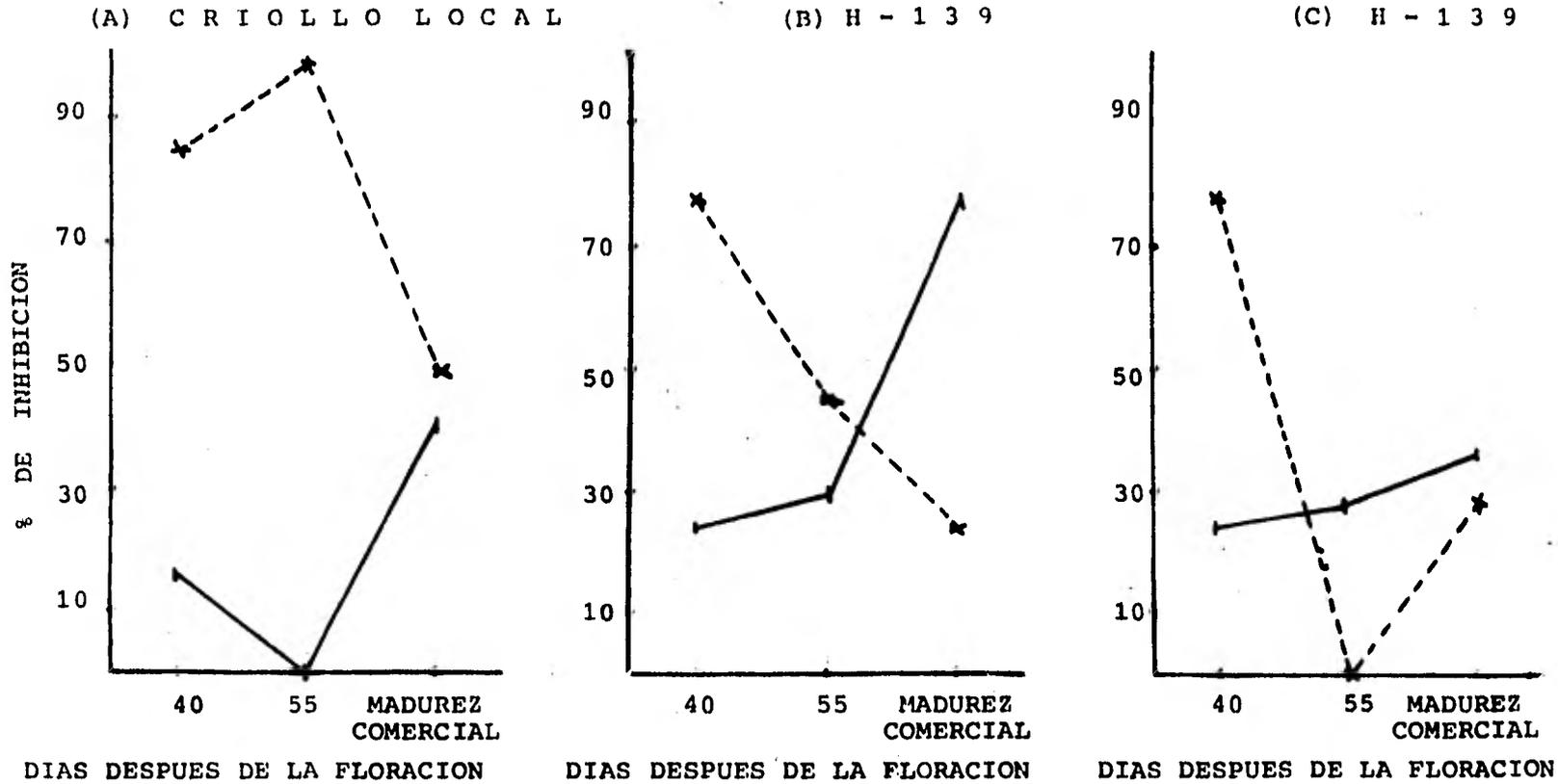


Fig. 14.- Porcentaje de inhibición de la germinación y crecimiento de la plántula de lechuga, producida por los extractos ácidos de --- etapas inmaduras del grano de maíz en las variedades Criollo - local y H-139. Inhibición del crecimiento X-----X ; inhibición de la germinación |-----|. En la gráfica (C), a los 55 d.d.f. y en la madurez comercial, el grano de H-139, se encontró brotado.

en la inhibición del crecimiento. (tabla 10).

De acuerdo con los datos presentados, se puede apreciar que en las primeras etapas del desarrollo del grano de maíz se encuentran los valores más altos de inhibición del crecimiento para ambas variedades, y para la madurez comercial - los valores más altos corresponden a la inhibición de la germinación, exceptuando para el H-139 germinado prematuramente, ésto corresponde con informes de la literatura (Cardwell, 1978; Morris, 1978).

6.0) CONCLUSIONES.

- a) Durante el desarrollo del grano en los maíces criollo local y H-139, los carbohidratos solubles encontrados fueron la sacarosa, fructosa, xilosa y glucosa.
- b) El azúcar soluble mayoritario fue la sacarosa, para cualquier etapa de desarrollo del grano en ambas variedades, encontrándose principalmente en embrión.
- c) En el grano H-139 germinado prematuramente a los 55 d.d.f., la sacarosa experimentó una disminución, indicando consumo de energía, probablemente debido a que este disacárido es utilizado para el crecimiento de la plántula; por otra parte en el grano no germinado del maíz criollo local en esta misma etapa, la sacarosa experimentó aumento.
- d) La ribosa fue detectada en embrión en el grano H-139 germinado prematuramente.
- e) La ribosa y la xilosa, fueron los carbohidratos indicadores de la actividad del ciclo de pentosas, durante el desarrollo del grano de maíz en ambas variedades.
- f) Los azúcares: sacarosa, fructosa y glucosa fueron señales de la presencia del ciclo metabólico "glicólisis",

tanto en las semillas germinadas experimentalmente como durante el desarrollo del grano en criollo local y H-139.

- g) Durante el desarrollo del grano en los maíces criollo local y H-139 la fructosa, xilosa y glucosa no variaron en su porcentaje.
- h) No fue detectada maltosa en el grano brotado del maíz H-139, indicando probablemente una actividad nula en las amilasas.
- i) En las semillas secas del criollo local y H-139 germinados experimentalmente 7 y 3 días respectivamente, - fue encontrada maltosa exclusivamente en endospermo , indicando actividad amilolítica.
- j) El contenido de almidón en grano entero, durante el desarrollo del grano en los maíces criollo local y H-139, fue aumentando rápidamente de los 25 d.d.f. a la madurez comercial.
- K) No existió diferencia en cuanto a almidón en el grano del maíz H-139 brotado y no brotado, por lo cual se - considera que no hubo desdoblamiento del almidón en el grano germinado prematuramente.
- l) El contenido de humedad durante el desarrollo del grano en las variedades analizadas, disminuyó gradualmente para cada etapa, contrarrestada la pérdida por el aumento en la cantidad de materia seca, que va llenando al grano, hasta la madurez fisiológica.
- m) El contenido de inhibidores totales en el maíz H-139 brotado a los 55 d.d.f. y en la madurez comercial tuvo un mínimo, indicando falta de inhibidores en el grano brotado.

- n) La mayor cantidad de inhibidores de la germinación en las variedades estudiadas estuvo en la etapa de madurez comercial.

BIBLIOGRAFIA

- AGARWAL, S.K. and M.L. Kasat., 1976. Coumarin inhibition and photoreversal of seed germination. *J. Biol. Sci.* 19:79-81
- ASAKAWA, Y. and Takemoto., 1979, Sequiterpene lactones of *Conocephalum cocicum*. *Phytochem.* 18:285-288.
- BALASHIMHA, D.C. and M.W. Tewari., 1977. Cytokinin-coumarin interaction to growth, sulfhydryl. chlorophylls and peroxidase activity in *Phaseolus radiatus*. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 171:49-54.
- BALDEROK, B., 1976. Physiological-biochemical aspects of dormancy in wheat. *Cereal Res. Commun.* 4; 133-137.
- BERNSTEIN, L., 1943. Amylases and carbohydrates in developing maize endosperm. *Amer. J. Bot.* 30:517-526.
- BOHINSKI, C.R., 1978. *Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano. S.A., U.S.A.*
- CAMERON, J.W. and J. Teas., 1954. Carbohydrates relationships in developing and mature endosperms of brittle and realted maize genotypes. *Amer. J. Bot.* 41:50-55.
- CARDWELL, V.B. and E.A. Oeleke., 1978. Seed dormancy mechanisms in wild rice. *Agro. J.* 70:481-484.
- CLARK, M.J., 1964. *Experimental Biochemistry. W.H. Freeman and Company. U.S.A.*
- DEREK, B.J. and M. Black., 1978. *Physiology and Biochemistry of seeds in relation to germination. Berlin Heidelberg. New York.*
- DICK, P.S. and T.A. Rees., 1976. Sucrose metabolism by roots of *Pisum sativum*. *Phytochem.* 15:255-259.
- DRAPER, R.S., 1976. *Biochemical analysis in crop science. Oxford University Press.*
- DURE, L.S., 1960. Site of origin and extent of activity of amylases in germination. *Plant Physiol.* 35:925-934.
- _____, 1975. Seed formation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 26:259-278.
- EARLEY, E.B., 1951. Percentage of carbohydrates in kernels of station reid yellow dent corn at several stages of development. *Plant Physiol.* 27:184-190.

- EEUWENS, C.J. and W. Schwabe., 1975. Seed and pod wall development in P. sativum L. in relation to extracted and applied hormones. J. Exp. Bot. 26:1-14.
- EYSTER, W.H., 1931. Vivipary in maize. Genetics. 16:574-590.
- FELIX, R.G., 1981. Germinación prematura del maíz en México. Tesis de Maestría en Ciencias. (Fitopatología). Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- GONZALEZ, N.C., 1976. Germinación de granos inmaduros en mazorcas de maíz. Agronomía Tropical. 26:359-362.
- GORDON, I.L., 1980. Germinability, dormancy and grain development. Cereal Res. Commun. 4:157-163.
- GRAHAM, D., 1974. A model for starch breakdown in higher plants Phytochem. 13:1341-1346.
- HAMILTON, D.F. and P. I. Carpenter., 1976. Regulation of seed dormancy in Elaeagnus angustifolia by endogenous growth substances. Can. J. Bot. 54:1068-1073.
- HANWAY, J.J., 1963. Growth stages of corn. (Zea mays L.) Agron. J. 55:487-493.
- HARI, S. and S.K. Gurmit., 1977. Germination-inhibitor in chilli fruit and seed extract. Indian J. Agri. Sci. 47:445-492.
- ILTIS, H.H., 1980. Teosintle expedition to the Sierra of Manatlán Jalisco, México: Dec 28, 1979 to January 21, 1980. Preliminary results and commentary on nature preservation in Mexico. Mimeografo.
- INGLETT, G.E., 1970. Corn, culture, processing, products. The Avi Publishing company. Inc.
- JOSHI, S; L.L. Madan and L.M. Santhi., 1980. Regulation of starch biosynthesis in normal and opaque-2 maize, during endosperm development. Phytochem. 19:2305-2309.
- KESLER, R.B., 1967. Rapid quantitative anion-exchange chromatography. Anal Chem. 39:1416-1422.
- KHAN, A.A., 1977. The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. North Holland Publishing Company. New York.
- KING, R.W., 1976. Abscisic acid in developing wheat grains and its relationship to grain growth and maturation. Planta 132:43-51.

- KRUGER, J.E., 1976. Biochemistry of pre-harvest in cereals and practical applications in plant breeding. Cereal Res. Commun. 4:187-194.
- LEHNINGER, L.A., 1978. Bioquímica. Ediciones Omega, S.A. 2a. ed. Barcelona.
- MANGELSDORF, P.C., 1923. The inheritance of defective seeds in maize. J. Hered. 14:119-125.
- _____, 1930. The inheritance of dormance and premature germination in maize. Genetics 15: 462-494.
- _____, and D.L. Oliver., 1951. Whence came maize to Asia. Botanical Museum of Harvard University. Cambridge. Massachusetts. 14:263-191.
- _____; R.S. Mac Neish and W.C. Galinat., 1956. Archaeological evidence on the diffusion and evolution of maize in north eastern México. Botanical Museum of Harvard University, Cambridge 17:125-150.
- _____, and R.H., Lister., 1956. Archeological evidence of the evolution of maize in northwestern México. Botanical Museum of Harvard University. 17:151-178.
- _____, 1926. The genetics and morphology of some endosperm characters in maize. Connecticut. Agri. Exp. Sta. Beell. 289:513-614.
- MAYER, A.M. and Poljakoff-Mayber A., 1975. The germination of seeds. Pergamon Press. Oxford.
- MCWHA J.A., 1975. Changes in Absciscic acid levels in developing grains of wheat Triticum aestivum L. J. Exp. Bot.26:823-827.
- McDANIEL, S; J.D. Smith and H.J. Price. 1978 Response viviparous mutants to abscisic acid in embryo culture. Maize Genetic Newsletter 51:85:86.
- MIYAMOTO, E., 1961. Germination inhibitors in wheat seed. Plant Physiol. 36:739-748.
- MORRIS, D.A., 1978. Germination inhibitors in developing seeds of Phaseolus vulgaris L. Z.Pflanzen Physiol. 86:433-441.
- NELSON, N., 1944. A photometric adaptation of the somogyi method for determination of glucose. J. Biol. Chem. 153-373.
- OLERED, R., 1976. α -amylase isozymes in cereals and their influence of starch properties. Cereal Res. Commun. 4:195-199.

- OKAMOTO, K. and Takashi A., 1979. Enzymic mechanisms of starch break down in germinating rice seed Plant Physiol. 35:925-934.
- RADLEY, M., 1976. the development of wheat grain in relation to endogenous growth substances. J. Exp. Bot. 27:1009-1021.
- RANGIL, S. and B. Juliano., 1977. Free sugars in relation to starch acumulation in developing rice grain. Plant Physiol. 59:417-422.
- RAPPAPORT, L., 1980. Plantgrowth hormones; internal control points. Bot. Gaz. 142:125-130.
- RASMUSSEN, J.A. and F.A. Eihelling., 1977. Synergistic inhibitory effects of p-coumarin and ferulic acids germination and growth of grain sorghum. J. Chem. Ecol. 3:197-206.
- ROBERTSON, D.S., 1955. The genetics of vivipary in maize. Genetics 40:745-760.
- ROUTCHENKO, W. and J.P. Soyer., 1971. Sur les causes de la germination sur plante des grains immature de mais. Ann. Agron. 22:241-255.
- _____, 1972. Causes de la germination sur plante de grains immature de mais. Ann. Agron. 23:445-459.
- SHANNON, C.J., 1972 a Movement of ^{14}C -labeled assimilates in to Kernels of Zea mays L. Plant Physiol. 49:198-202.
- _____, 1972 b. Movement of ^{14}C -labeled assimilates in to Kernels of Zea mays L. Plant Phvsiol. 49: 203-206.
- SMITH, J.D.; S. McDaniel and S. Lively., 1978 Regulation of embryo growth by abscisic acid in vitro. Maize Genetic News Letter. 52:107-108.
- SOSA, M.E., 1978. Estudio de carbohidratos y enzimas relacionadas durante la germinación del grano de maíz. Tesis de - Maestría en Ciencias Química. División de Estudios Superiores. UNAM. México D.F.
- STOY, V. and K. Sundin., 1976. Effects of growth regulation substances in cereal seed germination. Cereal Res. Commun. 4:157-163.
- TAYLERSON, R.B. and S.B. Hendricks., 1977. Dormancy in seeds. Ann. Rev. Plant Physiol. 28:331-354.
- TOGNONI, F.; M. Kawase and A. Alpi., 1977. Seasonal changes in rootability and rooting substances of Picea Glauca cutting.

- J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102:718-720.
- WALTON, C.D., Biochemistry and physiology of Abscisic acid.
Ann. Rev. Plant Physiol. 31:453-489.
- WEAVER, J.R., 1980. reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Ed. Trillas. México.
- WELLINGTON, P.S., 1956. Studies on the germination of cereals.
Ann. Bot. 20:481-500.
- WHITE, A.; P. Handler; L.E. Smith., 1979. Principios de Bioquímica. Mc. Grw-Hill de México S.A. de C.V.
- WINTON, L.A. and K.B. Winton., 1974. The analysis of foods.
J. Willey and Sons. Inc. N.Y.