



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

"DETERMINACION DEL CONTENIDO DE Ca, Fe, Mg, Mn, y
Zn EN HOJAS Y EN GRANOS DE MAIZ Y SU RELACION
CON LA GERMINACION PREMATURA"

TESIS MANCOMUNADA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N :
MA. DE LOURDES ORTUÑO PINEDA
y
GLORIA SAAB RINCON

México, D. F.

1985



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 está 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.

I N D I C E

	Pag.
RESUMEN	1
I INTRODUCCION	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Objetivos	4
II GENERALIDADES	7
2.1 Aspectos Bioquímicos	7
2.1.1 Fitohormonas	7
2.1.2 Minerales	20
2.2 Técnicas Analíticas	28
2.2.1 Técnicas de Ataque de Muestras	29
2.2.2 Métodos para la determinación de los cationes.	33
III ABSORCION ATOMICA	51
3.1 Teoría Elemental	51
3.2 Instrumentación	55
3.3 Interferencias	56
3.3.1 Interferencias Espectrales	56
3.3.2 Interferencias Químicas	57
3.3.3 Interferencias Físicas	59
3.4 Fundamento de los Métodos utilizados para las Determinaciones por Absor- ción Atómica.	60
3.4.1 Método de curva de Calibración	60
3.4.2 Método de Adición Patrón	61
IV PARTE EXPERIMENTAL	66
4.1 Materiales	66
4.1.1 Material Biológico	66
4.1.2 Material de Laboratorio	67

4.2	Equipo	67
4.3	Reactivos	68
4.4	Metodología	68
4.4.1	Preparación de las Muestras	68
4.4.2	Determinación de los Cationes:	
	Ca, Fe, Mg, Mn, Zn.	71
V	RESULTADOS	74
5.1	Discusión de Resultados	103
VI	CONCLUSIONES	107
	APENDICE	109
	BIBLIOGRAFIA	121

RESUMEN

Desde 1974, en los Estados de Puebla y Tlaxcala se ha presentado un problema de germinación prematura (GP) en maíz, que ha provocado grandes pérdidas económicas en la agricultura ya que los granos germinados no pueden ser utilizados para consumo humano ni animal.

Por lo anterior, dentro del marco del Convenio de Colaboración Académica Colegio de Posgraduados Chapingo-UNAM, se estableció en 1980 un grupo interdisciplinario dedicado al estudio de este problema. Las causas de la germinación prematura pueden ser de índole diversa: genéticas, ambientales, etc.

Dentro de los factores ambientales se encuentran: la humedad, temperatura, nutrientes en la tierra, contaminación microbiológica, etc.

Uno de los factores ambientales que podrían ser causantes de la germinación prematura es el contenido de micronutrientes en la planta, que está relacionado con su funcionamiento hormonal.

Entre los micronutrientes más importantes se tienen al Ca, Fe, Mg, Mn y Zn. Este trabajo se realizó con el fin de poner a punto las técnicas para la determinación de estos elementos por espectroscopía de absorción atómica y estudiar la posible relación entre el contenido de éstos y la germinación prematura.

Se realizaron determinaciones en muestras de:

- a) Granos de maíz en seis etapas de maduración y con genotipos diferentes (H-139 y Criollo local)
- b) Hojas superiores e inferiores de la planta de maíz de las dos variedades.

Se probaron diversas técnicas para la mineralización de las muestras, tanto de granos como de hojas y los mejores resultados se obtuvieron por calcinación.

La determinación de Ca, Mg, Fe y Zn se llevó a cabo utilizando el método de curva de calibración y la de Mn por el de adición patrón.

De las variedades utilizadas una era susceptible y la otra se suponía que era resistente, pero a lo largo del estudio empezó a mostrar germinación prematura, por lo que no fue posible inferir un patrón significativo que pudiera relacionarse con la germinación prematura. Sin embargo, algunos resultados muestran indicios de que el Mn y las relaciones Ca/Mg y Fe/Mn tienen influencia en ella y que deberán ser consideradas en futuros estudios.

I. INTRODUCCION

1.1. ANTECEDENTES

El maíz es un cereal básico en la alimentación mexicana que, a pesar de sus deficiencias nutricionales con respecto al trigo y al arroz, no ha podido ser sustituido por ellos; ésto se debe principalmente, a las arraigadas costumbres que prevalecen en nuestro país.

En los últimos años se ha presentado en diversas zonas del país una enfermedad, conocida como germinación prematura del maíz, que consiste en la germinación de los granos de mazorcas tiernas y maduras cuando aún están adheridas al tallo. La incidencia de este fenómeno es particularmente importante en la localidad de San Antonio Tlacamilco, Puebla, donde se siembran alrededor de 15000 ha de maíz (22).

Los granos de las mazorcas afectadas adquieren un olor y sabor tan desagradable que no son aceptados ni por los animales. Esto significa, además de pérdidas económicas una sensible disminución de la producción de este cereal. Cabe señalar que México no es autosuficiente en cereales y en los últimos años se ha visto en la necesidad de importar maíz de Estados Unidos.

El fenómeno fisiológico parece ser de origen genético, heredable en condición mendeliana y tiene una fuerte influencia del ambiente (43). Los autores, además señalan la existencia de 15 factores genéticos que dan por

resultado 9 tipos distintos de germinación prematura (43).

Por otro lado, parece ser que el hongo *Diplodia maydis* puede ser también inductor de germinación prematura en maíz y se ha encontrado que las diversas variedades de este hongo difieren en su habilidad para inducirla (22).

También se ha señalado en la literatura que la germinación prematura está relacionada a la variedad y a la carencia de microelementos que alteran la producción hormonal en la planta. Se ha mencionado que los granos de maíz germinan prematuramente si el ácido indolacético no es oxidado a 3-metil oxindol, el cual es un inhibidor. Para que esta reacción se lleve a cabo se necesita Fe y Mn (22).

Es por ésto que en este trabajo se pretende relacionar la posible influencia del contenido de estos cationes metálicos con el proceso de germinación prematura. Se eligieron además otros que se creyó pudieran tener alguna influencia en el proceso.

1.2 OBJETIVO

Este trabajo ha sido realizado en los siguientes objetivos.

-Poner a punto las técnicas para la determinación

de Ca, Fe, Mg, Mn y Zn, en hojas y en granos de maíz, utilizando el método de espectroscopía de absorción atómica.

Esto requiere: a) Poner a punto las técnicas de mineralización de las muestras biológicas utilizadas y b) Las técnicas óptimas para determinación de cada elemento de acuerdo a su contenido en la muestra y a la posibilidad de interferencias.

- Probar la aplicabilidad del método para la detección de los niveles en que se encuentran estos cationes en la planta.

- Tratar de establecer una relación entre los metales mencionados y la germinación prematura del maíz.

Para lograr estos objetivos se utilizaron muestras de la zona de San Antonio Tlacamilco, Puebla (que fue uno de los lugares donde se presentó el problema), proporcionados por el Dr. Joaquín Ortiz C. del Centro de Genética del Colegio de Posgraduados.

En este trabajo se utilizaron muestras colectadas en el año de 1981 en diferentes estadios del proceso de maduración de la planta.

Cabe señalar que uno de los serios problemas planteados al iniciarse el trabajo fue la elección de un patrón de referencia. En base a los resultados de años an-

teriores se seleccionaron las siguientes variables; Criollo local que se consideró susceptible a la G.P. y H-139 que se consideró variedad resistente por no haber presentado germinación en la cosecha de la misma zona en el año anterior (1980).

En este trabajo se utilizaron muestras colectadas en el año de 1981 en diferentes estadios del proceso de maduración de la planta.

II. GENERALIDADES

2.1. ASPECTOS BIOQUIMICOS

Una planta para crecer necesita de luz, dióxido de carbonó, agua y elementos minerales. Con todos estos factores, la planta fabrica más sustancia propia, convirtiendo materiales sencillos en los complejos compuestos orgánicos de que están compuestos los seres vivos. Todos los procesos que comprenden el desarrollo de las plantas, están controlados por factores internos y externos; para ésto la misma planta elabora sustancias reguladoras, que se conocen como fitohormonas y son producidas en un tejido y transportadas a otro, donde ejercen efectos muy específicos. Son activas en cantidades pequenísimas (61).

2.1.1. FITOHORMONAS

En la actualidad hay cinco compuestos o grupos de compuestos que son aceptados como fitohormonas; auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y etileno. Las fitohormonas tienden a cumplir con múltiples funciones, lo cual hace difícil discutir en forma aislada sus funciones primordiales.

2.1.1.1. Auxinas

Son las fitohormonas más estudiadas (50), de las

cuales, el elemento principal es el ácido indolacético (IAA), el cual ha sido considerado como un agente controlante en la división y elongación celular (50).

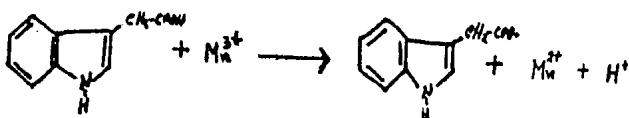
El mecanismo molecular de acción de las auxinas no se conoce; sin embargo, es posible que sea similar al de otras hormonas que actúan aumentando la velocidad de transcripción del RNA.

Específicamente, las auxinas son capaces, bajo condiciones especiales, de quebrantar la latencia (período en el cual no puede presentarse la germinación) de algunas semillas (46), pero cuando el IAA está en exceso actúa como inhibidor de la germinación (46).

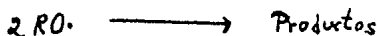
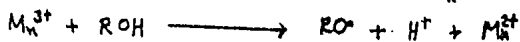
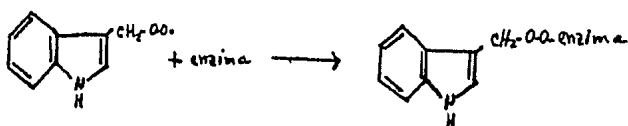
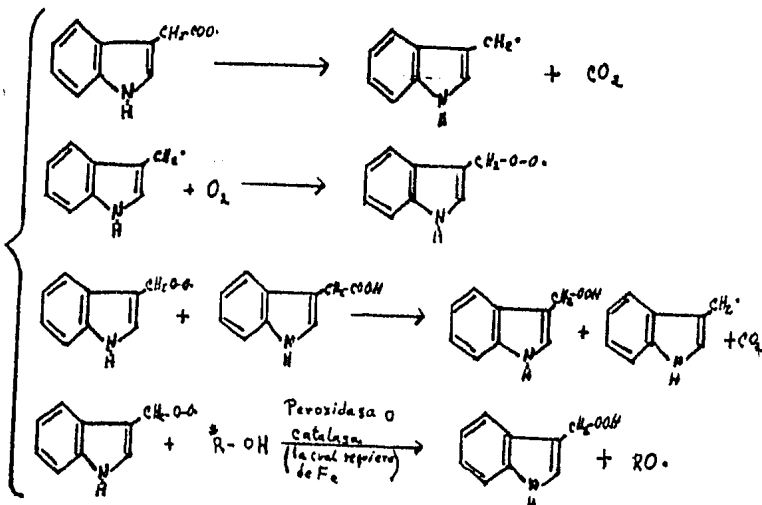
Rochenko y otros autores (65, 66), postularon que los granos de maíz germinan prematuramente si su contenido de IAA (que es normalmente elevado en el estado lecho so) no disminuye al llegar al estado masoso. La degradación del IAA, se lleva a cabo mediante oxidación, obteniéndose como producto el 3-metilen oxindol, que es un inhibidor específico de la germinación prematura. Esta reacción requiere de una actividad oxidativa adecuada, la cual depende en gran parte de la concentración de Fe y Mn (ver mecanismo de reacción, figura 1).

Es interesante mencionar que el Zn y/o Mn, están involucrados de alguna manera con el transporte y almacenamiento de los nutrientes en los granos de maíz. Se sabe que el Zn es necesario para la producción de IAA (21); por tanto, un exceso de este elemento puede provocar au-

Iniciación:



Propagación



R-OH = Cofactor orgánico (DCP, resorcinol, hidrácido málico, etc.)

Fig. No. 1 Mecanismo de oxidación del ácido indolacético a 3-metil oxindol (42).

mento en el suplemento de la hormona, lo que a su vez, podría originar un aumento en el desarrollo vegetativo y en la incidencia de la germinación prematura.

2.1.1.2. Giberelinas

Se cree que estas hormonas, existen en todas las plantas superiores. Se presentan en cantidades variables en todos los órganos de la planta, pero las concentraciones mayores se hallan en las semillas inmaduras. Se han aislado más de 20 giberelinas de tejidos vegetales, que han sido identificadas químicamente (61). Varían algo en estructura y también en actividad. La mejor conocida es la AG_3 , producida por un hongo, el cual también ha sido considerado causante de la germinación prematura (22).

Las giberelinas provocan efectos sorprendentes en el alargamiento de plantas intactas; estimula a la vez la división celular y el alargamiento celular, afectan tanto a las hojas como a los tallos (61).

Las semillas de la mayoría de las plantas precisan de un período de letargo o latencia antes de que puedan germinar. En determinadas plantas el letargo sólo puede ser interrumpido por el frío o por la luz. En muchas especies, las giberelinas pueden sustituir el factor que interrumpe el letargo, promoviendo así el crecimiento del embrión y el desarrollo de la plántula (61).

Los estudios más importantes acerca del mecanismo

de acción de las giberelinas indican que, cuando las semillas germinan (espoleadas por la imbibición de agua), el embrión desprende giberelina. Por efecto de la giberelina las células de aleurona producen enzimas hidrolíticas, de las cuales, la principal es la α -amilasa, que desdobla el almidón en azúcares. Las enzimas digieren las reservas nutritivas almacenadas en el endospermo amiláceo, que son entonces utilizables por el embrión, en forma de azúcares. De este modo, el embrión tiene a su disposición las sustancias necesarias para su propio crecimiento, en el momento del desarrollo (61).

Los investigadores proponen que la giberelina activa ciertos genes que sintetizan moléculas de RNA mensajero, las cuales a su vez, se encargan de la síntesis de las enzimas. No se ha demostrado que la giberelina actúe directamente sobre el gen, aunque se ha encontrado que tanto la síntesis de RNA como la de proteínas, son necesarias para la aparición de la enzima (61).

En general, el ácido geberélico actúa como un promotor de la germinación de semillas, pero su efecto en contrarrestado por la presencia de ácido abscísico (46).

En la figura 2, se muestra la interrelación entre el efecto de GA_3 y los eventos metabólicos que ocurren en la semilla.

Ahora bien, existen interacciones entre el GA y el IAA, los cuales pueden ser sinérgicos o antagónicos. El GA antagoniza la inhibición correlativa de follaje axi-

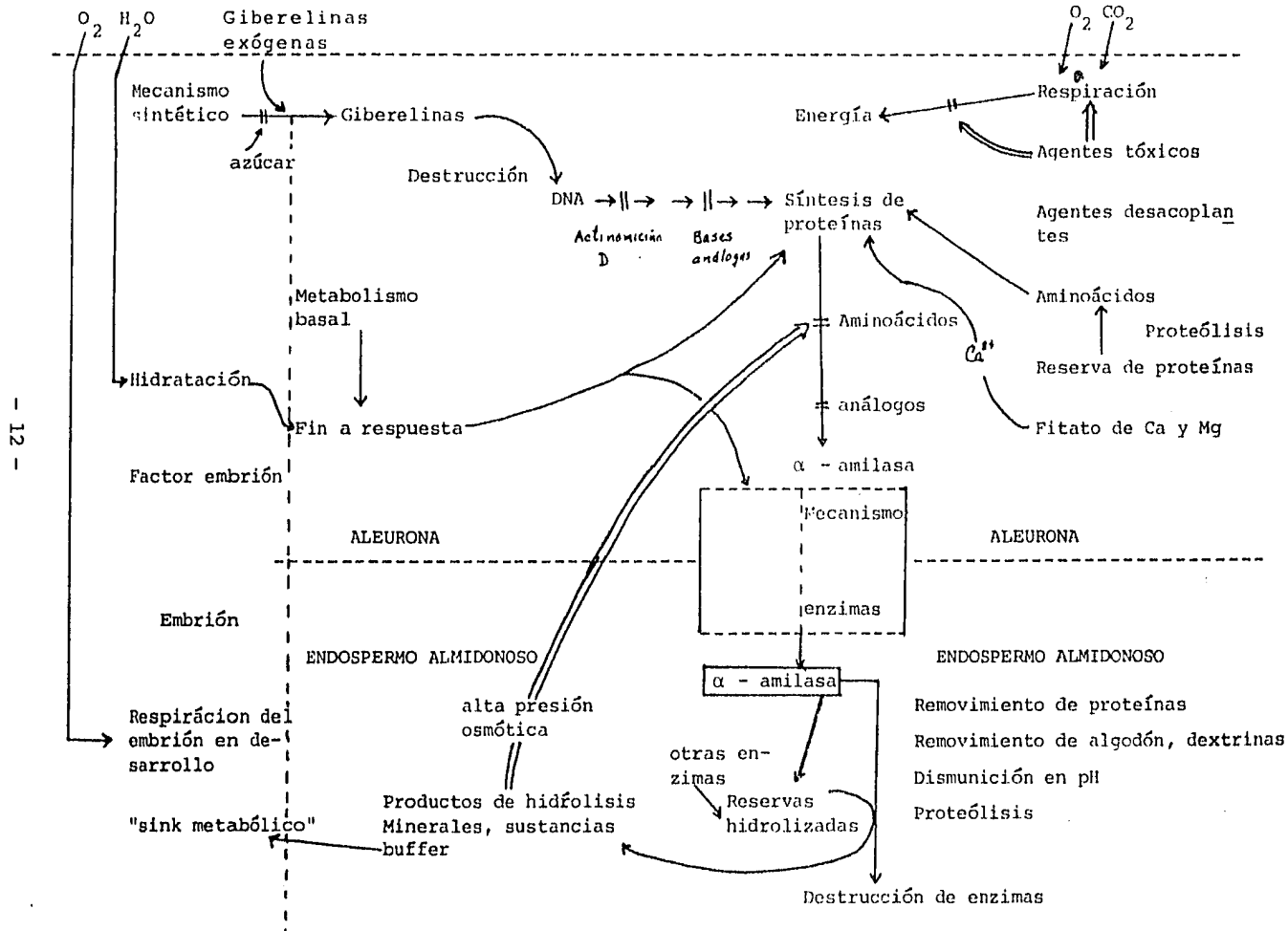


FIG. No. 2 Representación de algunos factores que regulan los niveles de α - amilasa, encontrados en granos enteros de cereales (46) || representa inhibidores

lar, inducida por IAA. En muchos casos ésto ha ido acompañado por un efecto inhibitor del GA sobre la IAA-oxidasa y por tanto, de una disminución de la ruptura del IAA. Hay varios tipos de IAA-oxidasas, algunas de las cuales pueden ser inhibidas y otras estimuladas por el GA. Otro efecto que se ha informado del GA sobre el IAA, es un aumento en el metabolismo de síntesis de IAA a partir de triptofano.

Los dos reguladores del desarrollo difieren básicamente en el sistema enzimático al que ellos activan. El IAA parece aumentar principalmente, la actividad de enzimas involucradas en la hidrólisis de la pared celular y de síntesis. El GA parece aumentar principalmente la actividad de enzimas digestivas que convierten a las reservas insolubles (almidón, grasas, etc) en sustancias solubles realmente metabolizables, también como enzimas oxidativas, las cuales controlan la concentración de IAA (39).

En la figura No. 3 se muestra la relación que existe entre las dos hormonas:

La síntesis de ácido giberélico requiere de Mg, y será estudiada más adelante, al estudiar ácido abscísico, ya que la ruta biosintética es común en gran parte (los dos parten de mevalonato).

2.1.1.3 Citoquininas

La función de las citoquininas se encuentra relacio

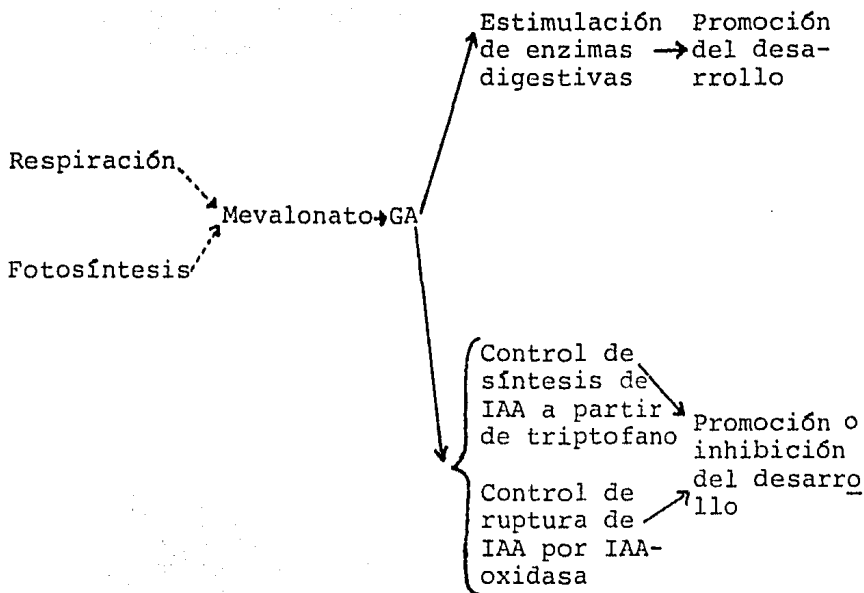


Figura No. 3 (39)

nada con la de las auxina. Las auxinas solas, producen un alargamiento rápido de las células, sin que haya división celular; lo cual hace que la célula tienda a diferenciarse, es decir, a especializarse. Cuando actúan juntos el IAA y altas concentraciones de citoquininas (CK), hay una rápida división de las células, de modo que se forman grandes cantidades de células relativamente pequeñas, es decir, meristemáticas (no diferenciadas) (61).

Esta interrelación auxina-citoquinina, se ve influida por los iones Ca^{2+} . Se demostró que el IAA y ba-

jas concentraciones de CK, favorecen el alargamiento de las células, pero al estar presentes los iones Ca^{2+} hay un claro cambio en el modo de crecimiento, a favor de la división celular; lo cual se debe a que el calcio es un componente de la pared celular vegetal, así que impide que ésta se dilate, favoreciendo la división celular (61).

Específicamente sobre la germinación de semillas, las citoquininas actúan rompiendo la latencia. Estos resultados son obtenidos cuando se le suministra a una planta CK exógenas; sin embargo, las CK no se presentan de un modo espontáneo en la semilla seca y no aparecen, hasta que la semilla empieza a germinar, lo cual indica que es más bien un resultado y no una causa de la germinación (46).

Al parecer, esta hormona forma parte de las RNA_t de serina y tirosina, por lo que se cree que tiene relación con la síntesis de proteínas (61), aunque su efecto hormonal parece ser independiente de la función de RNA_t (50).

El papel de las citoquininas puede ser a nivel de transcripción de genes o translación (50).

Su sitio de acción en la germinación de semillas aún no es claro (46).

2.1.1.4 Acido abscísico

El ácido abscísico se encuentra principalmente en las partes inferiores de los frutos y durante la época de caída de los mismos, se encuentran los niveles más elevados (61).

Esta hormona controla el crecimiento por acción inhibitoria, pero puede ser contrarrestada por las giberelinas. La producción de α -amilasa, inducida por las giberelinas en semillas, es inhibida por el ácido abscísico (ABA). En general, el ABA, en cualquiera de sus múltiples y variados efectos, contrarresta directamente la acción de cualquiera de los tres tipos de hormonas promotoras del crecimiento: auxinas, giberelinas y citoquininas, lo cual da por resultado un equilibrio entre diversos factores (61).

Cuando se habla de germinación, la función del ABA, es imponer la latencia o letargo de las semillas. No se ha aclarado de que manera actúa, pero hay evidencias de que interfiere con el metabolismo de ácidos nucleicos; al parecer, disminuye la incorporación de ^{32}P en varias fracciones de ácidos nucleicos del embrión (46). Cuando se adiciona actinomicina D (que es un inhibidor de la síntesis de RNA), se eliminan los efectos causados por ABA, lo cual sugiere, que la actividad inhibitoria del ABA requiere de la continua producción de algún RNA, el cual, al parecer, no es ribosomal (46).

Por lo tanto, ésto demuestra que la acción del ABA en la inducción de la latencia e inhibición de la germinación, puede ser adjudicada a un efecto sobre el meta-

bolismo de ácidos nucleicos.

Es interesante ahora ver la ruta de biosíntesis del ácido abscísico. Su estructura está relacionada con la mitad del caroteno vitamina A. La luz parece estimular la formación de los productos de fotooxidación del carotenoide xantofila (46). Y su relación con la giberelina está indicada por la ruta biosintética propuesta para las tres sustancias, la cual se muestra en el esquema que se presenta a continuación.

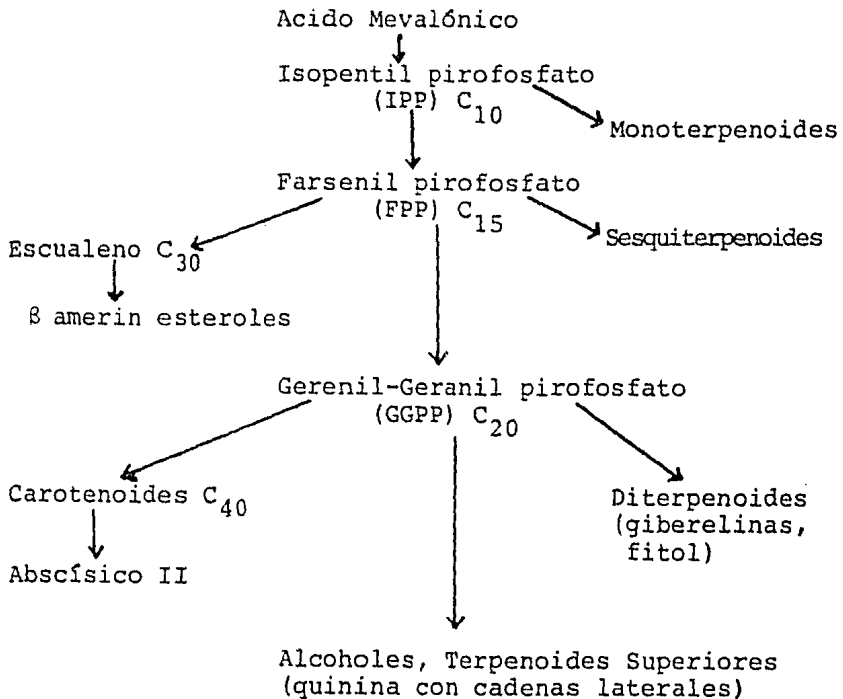


Figura No. 4 Ruta biosintética de giberelinas y de ácido abscísico (39).

En el siguiente esquema se muestra una secuencia de reacciones que nos permiten conocer más a fondo la ruta biosintética, tanto de giberelinas como de ácido abscísico.

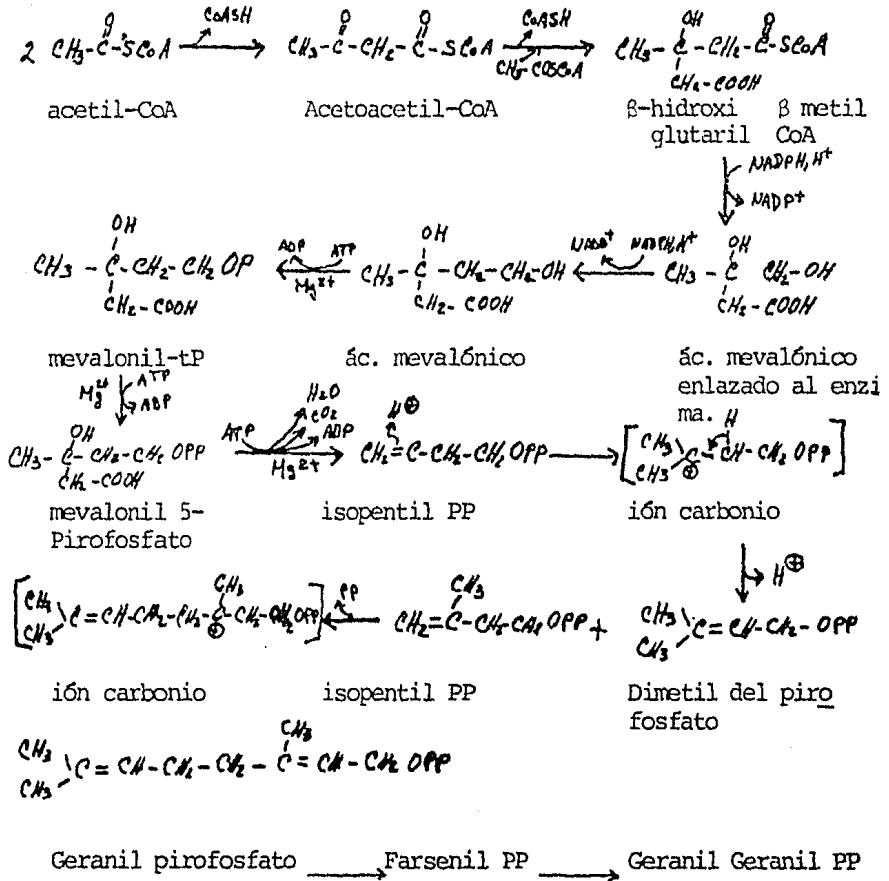


Figura No. 5 Mecanismo de la ruta biosintética de G-GPP (25).

2.1.1.5 Etileno

El etileno es producido en la combustión incompleta del queroseno, antes de que empiece el climaterio, fase de maduración de muchos frutos, en la que hay un gran incremento en la respiración celular de las mismas. Cuando se reduce la intensidad de la fase climatérica, queda detenida la maduración del fruto; durante el climaterio los almidones son degradados a azúcares, se lleva a cabo una digestión enzimática de la pectina - componente principal de la lámina media- y esto provoca ablandamiento de los frutos (61). En el caso de las semillas la producción de etileno puede asociarse con el desarrollo, así, en la germinación se observa un aumento en la producción de etileno (29).

Además de sus efectos en la maduración de los frutos, el etileno hace que las hojas se caigan y se blanqueen, que las flores se marchiten y que los pecíolos de las plántulas crezcan excesivamente. Al parecer, cuando el etileno es de origen exógeno, es capaz de romper la latencia (61).

La acción del etileno está muy relacionada con la de las auxinas. La promoción de desarrollo por etileno sólo ocurre en la presencia de auxinas, ya sean endógenas o exógenas. Por otro lado, algunas de las auxinas con efecto inductor del desarrollo son favorecidas por el etileno. La producción de etileno es estimulada por auxinas aplicadas exógenamente. El sistema productor de etileno aparentemente tiene una alta reversibilidad,

por lo que es necesario un suplemento constante de auxinas, para mantener los niveles del mismo (39).

En el siguiente esquema se muestra la regulación del desarrollo por etileno, debido a la interacción con IAA.

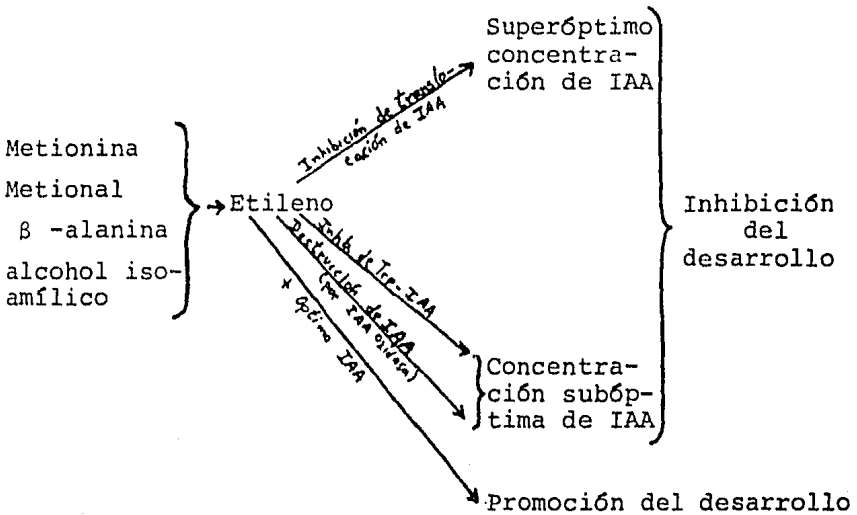


Figura No. 6 (39)

2.1.2 Minerales

Ya que ha sido tratado el tema de las hormonas, es conveniente ahora hablar de los nutrientes minerales, los cuales también desempeñan un papel importante en el

desarrollo de las plantas.

Dentro de los elementos químicos que se encuentran en las plantas están: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, sodio, azufre, aluminio, fierro, silicio, magnesio, manganeso, cloro, cobre, zinc, ... etc. y, evidentemente, carbono, hidrógeno y oxígeno. Por experimentos que se han hecho en cultivos con disoluciones salinas, se ha llegado a la conclusión que hay cierto número de elementos que son esenciales para el desarrollo y fructificación de las plantas (16).

Dentro de los elementos esenciales podemos hablar de los macronutrientes, que son los que se requieren en grandes cantidades, y los micronutrientes, aquellos que la planta necesita en pequeñísimas cantidades. Entre los macronutrientes tenemos al C, H, O, N, P, K, Ca, Mg, S, Cl, principalmente y entre los micronutrientes: al Fe, Mn, Cu, Zn, Si, etc. (16).

La deficiencia de los nutrientes esenciales depende en gran parte de los factores que afectan la absorción de los mismos. La absorción retardada es, aparentemente, causada por la resistencia que ofrece la disolución al entrar en la semilla. Esto depende de la presión osmótica.

Existen, cuatro factores que afectan la entrada del agua a la raíz. El primero es debido a las diferencias anatómicas de la raíz, que se ve influida por diferencias fisiológicas y genética. El segundo, es el estado

matabólico de la raíz con respecto a las reservas de carbohidratos. El tercero, consiste en los cambios bioquímicos causados por la entrada de los solutos del suelo en la raíz. El cuarto factor, que es el que tiene mayor influencia en la entrada de la solución en la raíz, es la presión osmótica total de los sustratos (86).

Ya se han mencionado muchos de los elementos que son esenciales para el desarrollo de la planta. En este trabajo sólo se estudiarán algunos que tienen carácter divalente y que se cree pudieran tener alguna relación con la germinación prematura del maíz: Ca, Fe, Mg, Mn y Zn.

2.1.2.1 Calcio

El calcio desempeña una función importante en el desarrollo de las plantas; su influencia puede resumirse de la manera siguiente:

- Contribuye al crecimiento y fortalecimiento de las paredes de la célula vegetal.
- Interviene en la transportación del almidón de unas partes de la planta a otras.
- Es requerido por la α -amilasa para llevar a cabo su función hidrolítica.
- Favorece el desarrollo de los pelos absorbentes de las raíces, contribuyendo así a una mejor nutrición de las plantas.
- Neutraliza la acción de algunos compuestos ácidos de las plantas.
- Fomenta la actividad de los microorganismos fijadores

de nitrógeno del aire y de los que transforman los compuestos nitrogenados a formas asimilables para las plantas.

- Favorece la retención de los compuestos asimilables del fósforo y del potasio.
- Contrarresta la mala acción del exceso de magnesio, que en determinados casos y en tales condiciones se comporta como veneno para las plantas (16).
- Ayuda a que el suelo sea compacto, haciendo que tenga mayor retención del agua (17).
- Interviene junto con el Mg en la síntesis de protefnas (enzimas), que tienen efecto en la inhibición y estimu lación de la germinación de las semillas (ver fig. 2) (46).
- Por último, su presencia es muy importante para el transporte de auxinas a través de la membrana (14).

Los análisis químicos de las plantas de maíz, mues tran síntomas de deficiencia de calcio, cuando la concen tración es menor al 0.3% (49).

En general los síntomas de deficiencia de calcio fueron observados en suelos que tenían un pH abajo de 4.5 y un contenido menor a 2 meq. intercambiables de Ca por 100 g de suelo (49).

Aunque la falta de calcio en las plantas de maíz no siempre manifiesta síntomas característicos, hay cambios que a veces revelan su ausencia; tales como:

- 1) En las primeras fases del desarrollo de la plantas,

se observa que las hojas se aglutinan, pegándose por las puntas, permaneciendo pegadas en esta forma a pesar del desarrollo.

- 2) Suelen presentarse en las hojas, manchas de color café, que provocan la muerte de dichos órganos (16).

Se ha demostrado que hay una mayor acumulación de Ca, en las hojas inferiores (2.4 veces más) que en las superiores, ésto es de esperarse, ya que hay poca o ningún transporte de Ca a medida que las hojas envejecen (24).

2.1.2.2 Magnesio

Es otro macronutriente que tiene gran influencia en el desarrollo de la planta. Sus funciones son:

Influye grandemente en la formación de las semillas. Conjuntamente al N, interviene en la formación de proteínas. Es uno de los elementos constituyentes de la clorofila, pigmento que interviene en la fotosíntesis. Interviene en la formación de almidón. Su exceso puede determinar condiciones tóxicas para la planta. Como ya se mencionó anteriormente, tiene acción sobre la síntesis de proteínas (ver fig. 2). Por último se requiere en la ruta de biosíntesis de derivados de carotenoides (ver fig. 5), a partir del ácido mevalónico.

Los síntomas (16) por deficiencia de magnesio, en la planta de maíz son:

- 1) En las hojas se observan rayas alternadas de color verde claro y amarillo, paralelas y a lo largo de la nervadura central.
- 2) Si la falta de este elemento es muy acentuada, las rayas pueden ser de color amarillo muy claro y aún blanco.
- 3) Las hojas se ponen ásperas al tacto y en algunos casos muestran ondulaciones y se hacen quebradizas.

La concentración de Mg en tejido de maíz está relacionada con las concentraciones de N y Ca en el suelo. Altos contenidos de Mg en el tejido, corresponden a altas concentraciones de N y Ca en el suelo y viceversa; lo cual sugiere, que estos elementos coadyuvan a la absorción de Mg (86).

Al igual que el Ca, el Mg alcanza niveles superiores, aunque no muy pronunciados (1.4 veces), en las hojas inferiores que en las superiores (24).

2.1.2.3 Fierro

El fierro es un micronutriente de las plantas. Su deficiencia o su exceso provoca clorosis en las plantas de maíz.

En exceso tiene efectos tóxicos, tales como: brotes achaparrados, raíces engrosadas y cambios en la estructura celular (86).

Su actividad está muy relacionada con la de Mangane

so. Junto con él interviene en la oxidación del ácido indolacético por la IAA oxidasa, la cual como ya se mencionó, se ha propuesto como causa de la germinación prematura de maíz.

En la fig. 1 se muestra el mecanismo de oxidación de IAA; en la que se puede ver, que en el paso de iniciación (oxidación de $Mn^{2+} \rightarrow Mn^{3+}$), se requiere de una catalasa o peroxidasa; así como en uno de los pasos de propagación (en la formación del indolperóxido) (42). Para que esta peroxidasa actúe necesita de fierro (62).

2.1.2.4 Manganeso

Al igual que el fierro la deficiencia o exceso de manganeso, puede provocar clorosis en las hojas de maíz (15).

En la fig. 1 puede observarse la función que tiene en la oxidación del ácido indolacético a 3-metil oxidol, que es un inhibidor de la germinación prematura (42).

Además el manganeso interviene en el funcionamiento de otras enzimas que están involucradas en la regulación de biosíntesis de giberelinas. Estas enzimas catalizan las transformaciones de mevalonato a prenil pirofosfato y se encuentran en la fracción soluble de los extractos celulares y requieren de los cofactores ATP y de los iones divalentes Mg^{2+} o Mn^{2+} . Con respecto a la biosíntesis de giberelinas, la enzima mejor estudiada es la kaurino sintetasa, la cual cataliza la reacción de la ci-

clización de geranil-geranil pirofosfato a kaureno. Esta actividad depende de la presencia de Mg^{2+} (38).

A parte de actuar en la oxidación del IAA, el Mn^{2+} , interviene en la síntesis de giberelinas; las que a su vez, regulan tanto la síntesis, como la oxidación del IAA. Esto sugiere que el Mn podría tener una íntima relación con la germinación prematura del maíz.

2.1.2.5 Zinc

El zinc tiene un efecto notable en el desarrollo del follaje de las plantas. Además existe una interacción positiva entre el zinc y manganeso, sobre el rendimiento del grano. Hay evidencia de que cuando uno de estos metales está presente, disminuye el efecto tóxico del otro. A bajos niveles de zinc, hay una considerable declinación en el rendimiento de granos, independientemente de la cantidad de manganeso aplicado; mientras que a altos niveles de zinc el rendimiento de granos, depende de la cantidad de manganeso.

Como ya se discutió anteriormente, se requiere zinc para la síntesis de IAA, de tal manera, que al haber un exceso de zinc, hay mayor producción de la hormona, lo cual incrementará el desarrollo vegetativo y posiblemente la incidencia a la germinación prematura del maíz (21).

En resumen, los cationes tratados, en mayor o en menor grado, tienen alguna relación con las fitohormo-

nas, que son las que pueden regular en un momento dado la germinación. Algunos cationes, tienen influencia sobre su biosíntesis, otros sobre su activación o inactivación, de tal manera que van a estar relacionados con el metabolismo de la planta.

Es importante hacer notar, que en una planta existen interacciones complejas, no se pueden separar para su estudio a uno de los reguladores sin perder de vista que en la planta, los demás ejercen influencia sobre él, por lo que se recuerda que aunque en este estudio solo se informará lo referente a los elementos determinados, posteriormente se relacionarán estos resultados con los obtenidos en otros estudios.

2.2. TECNICAS ANALITICAS.

Aunque existen técnicas no destructivas que permiten determinar elementos metálicos "in situ", la mayor parte de las técnicas analíticas se realizan por vía húmeda y requieren que dichos elementos se encuentren en forma de iones solubles.

Se realizó una investigación bibliográfica de las técnicas más empleadas para el ataque de materia orgánica a fin de seleccionar aquella que se adaptara mejor a las necesidades y características de este trabajo. Igualmente, se investigaron algunas de las técnicas que pudieran utilizarse para las determinaciones de los elementos deseados en disolución acuosa.

2.2.1. Técnicas de ataque de muestras.

La cuantificación de elementos minerales que se encuentran en material biológico, frecuentemente requiere de la destrucción de la materia orgánica, la cual puede ser efectuada mediante dos métodos:

- a) Vía seca: Consiste en la calcinación de las muestras y la posterior disolución de cenizas.
- b) Vía húmeda: Consiste en someter la muestra a un tratamiento con mezclas diversas, usualmente ácidos (digestión), hasta provocar la oxidación total de la materia orgánica.

A continuación se hace una discusión más amplia de estos métodos:

2.2.1.1. Destrucción por vía seca.

El método más antiguo consiste en destruir la sustancia por calcinación al aire.

La acción combinada del oxígeno con el calor, provoca la oxidación de la materia orgánica, dando lugar al desprendimiento de CO_2 y dejando un residuo que sólo contiene a los elementos no volátiles (generalmente en forma de óxidos). Dentro de los elementos que se pueden perder por volatilización se encuentran: los halógenos, Pb, As, Hg, Cd, S, etc..., sobre todo debido a la reducción provocada por el carbono (10).

En ocasiones se recomienda calcinar la muestra con algún fundente o bien, con sustancias alcalinas u oxidantes.

Posteriormente, las cenizas se disuelven, ya sea con ácido clorhídrico, nítrico u otro, dependiendo de la técnica de análisis que se vaya a emplear y de los cationes que se deseen determinar (66). En ocasiones la disolución de cenizas es incompleta debido a la formación de pirofosfatos, lo cual puede evitarse con repetidas ebulliciones en ácido clorhídrico (66).

Este método tiene como desventajas: 1) que el mecanismo de oxidación no es conocido, por lo que el resultado no es predecible y, 2) que en ocasiones, algunos metales (como el Cu), pueden ser retenidos por el crisol (66).

2.2.1.2. Destrucción por vía húmeda.

Estos métodos son útiles cuando el ataque por vía seca no es practicable.

Puede llevarse a cabo en dos formas: a) hidrólisis y solubilización y, b) extracción sin hidrólisis.

1) Hidrólisis y solubilización.

En general, las muestras biológicas contienen mezclas complejas de grasa, proteínas y carbohidratos y necesitan un proceso químico vigoroso para hidrolizar estas moléculas. La hidrólisis puede hacerse por

ataque inorgánico o bien, mediante enzimas.

Por lo general, en el primer caso se lleva a cabo un ataque que permita la oxidación de la materia orgánica; con frecuencia ésto se logra mediante la acción de mezclas de ácidos.

Dentro de los principales ataques oxidantes son dignos de mencionarse los siguientes (10).

- Ataque sulfúrico.- en el que el ácido sulfúrico actúa carbonizando la muestra y por acción del aire, se oxida el carbono formado.
- Ataque sulfonítrico.- en el que el ácido sulfúrico actúa como deshidratante y el nítrico como oxidante.
- Ataque perclórico.- El HClO_4 es un agente muy activo a 200°C , pero tiene la desventaja de que su descomposición puede provocar explosiones.

En estos casos anteriores es necesario llegar a la temperatura de ebullición de los ácidos, para efectuar el ataque de la materia orgánica.

- Ataque con agua oxigenada o con permanganato.- estos oxidantes se utilizan con frecuencia para destruir las últimas trazas de materia orgánica que pudieran subsistir después de los ataques sulfúrico, sulfonítrico, perclórico, etc..., o también cuando se desea trabajar a una temperatura controlada para evitar pérdidas por volatilización.

Otros agentes oxidantes que se utilizan son: mezcla sulfocrómica, perclorato de potasio en medio clorhídrico, persulfato en medio alcalino, permanganato en medio alcalino o ácido, sal cérica en medio perclórico, peryodato, etc.

En casos muy particulares puede llevarse a cabo un ataque reductor, en el cual los agentes más utilizados son: sodio metálico en medio de amoníaco líquido, de alcohol absoluto o de otro disolvente, y potasio metálico, con calentamiento en corriente de hidrógeno.

La hidrólisis enzimática consiste en la hidrólisis de almidón y de proteínas principalmente; sólo que esta técnica es lenta e incompleta, especialmente para muestras fibrosas o grasosas, además de que las enzimas son muy caras y requieren condiciones de trabajo muy especiales (66).

2) Extracción sin hidrólisis.

Se han usado muchos agentes quelantes con el fin de extraer los elementos de interés de una muestra, sin que haya una completa hidrólisis. El agente más usado es el EDTA, en cuyo caso deben fijarse la concentración del EDTA y el pH, para lograr una extracción eficiente. En general, este método se usa cuando la muestra no se puede usar directamente y es difícil de atacar, como en el caso de mantequillas y aceites (2).

2.2.2. Métodos para la determinación de los cationes.

Los elementos: Ca, Fe, Mg, Mn y Zn, se pueden determinar de múltiples maneras, empleando numerosas técnicas y variados equipos. En este trabajo se consultaron las técnicas de gravimetría, volumetría, fotolorimetría y absorción atómica y se eligió la técnica más adecuada para la determinación de cada uno de los elementos. Para ello se tomó en consideración la naturaleza de las muestras, los niveles de concentración de los diversos elementos, la sensibilidad de los métodos, la factibilidad de adquisición de reactivos, así como la facilidad y tiempo de duración total para efectuar la determinación.

2.2.2.1. Determinaciones gravimétricas.

Una determinación gravimétrica se caracteriza por las siguientes operaciones:

- 1) La adición de un reactivo conveniente a la muestra en disolución, en condiciones adecuadas, da lugar a la formación de un compuesto insoluble en el cual interviene el elemento (o el compuesto) a cuantificar. Esta operación recibe el nombre de precipitación.
- 2) El compuesto precipitado se aísla por filtración y lavado.
- 3) El compuesto se lleva a una composición bien definida mediante un proceso de secado; eventualmente se puede provocar una transformación por calcinación.

- 4) Se pesa el precipitado. Esta es la operación de medida del método; en este caso el instrumento de medida es la balanza.

Como se conoce la fórmula química del precipitado y por tanto, la relación del elemento a determinar con respecto a éste, es posible deducir el peso del elemento presente en la muestra inicial.

Las características generales del método gravimétrico y las precauciones que deben tomarse son las siguientes:

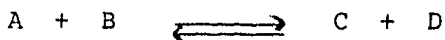
- 1) Desde el punto de vista químico, el método pone en juego reacciones de precipitación. Los razonamientos y los medios que se utilizan para realizar estas reacciones son: producto de solubilidad, exceso de reactivo, solubilidad condicional del precipitado en función del pH y de la formación de complejos, evolución del precipitado, etc. Los medios químicos permiten realizar precipitaciones selectivas al enmascarar, por efecto del pH o de la formación de complejos, a otros elementos susceptibles de precipitar.
- 2) Las operaciones son técnicamente muy delicadas y requieren de especiales cuidados para que la determinación sea precisa, particularmente a escala microanalítica. Uno de los fenómenos especialmente perjudicial es la adsorción de sustancias interferentes sobre el precipitado.

La gravimetría ha perdido actualmente gran parte de su importancia en favor de otras técnicas instrumentales. Esto se debe a que es una técnica delicada y laboriosa que requiere manipulaciones más largas que otras técnicas, además de que existen pocos compuestos cuya solubilidad condicional sea suficientemente pequeña para que la sensibilidad del método sea buena para el análisis de trazas.

En la tabla No. 1 se indican, en forma resumida, algunas de las técnicas gravimétricas que podrían ser utilizadas para la determinación de los elementos estudiados.

2.2.2.2. Determinaciones por titulación o valoración

Las valoraciones se basan en el empleo de reacciones químicas efectuadas en condiciones de perfecto control (conocimiento del equilibrio y velocidad de reacción).



Se hace reaccionar el sustrato (A) con un reactivo titulante (B) y la reacción entre ambos debe llevarse a cabo de manera tal que el equilibrio involucrado sea de estequiometría perfectamente conocida, cuantitativo (K_{eq} grande), rápido y que no existan reacciones secundarias que consuman al reactivo titulante.

El reactivo B se añade en cantidades conocidas, ya

TABLA No. 1. METODOS GRAVIMETRICOS PARA LA DETERMINACION DE CATIONES.

Elemento	Precipitado como:	Pesado como:	Condiciones	Interferencias	Referencia
Ca	$\text{Ca C}_2\text{O}_4$	CaC_2O_4 o calci nado como CaO .	pH = 4.0	Magnesio	85
Ca	tungstato	tungstato de calcio	pH de 7 a 8 80°C	-	85
Mg	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ o cal cinado como $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$	-	-	55, 85
Mg	$\text{Mg C}_2\text{O}_4$	MgO	-	-	55, 85
Mn	MnO_2	Mn_3O_4	medio amonia- cal o medio de $\text{HNO}_3/\text{KClO}_4$	Cr III, Co II, Fe, Al, Ba, Zn, V y Mo.	11, 55, 85
Zn	ZnCO_3 o ZnC_2O_4	ZnO	-	muchos iones	55, 85
Zn	$\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ o $\text{Zn}_2\text{P}_2\text{O}_7$	-	muchos iones	55, 85
Zn	antranilato, quí naldinato o piri dintiocianato.	de la misma forma en que se precipitó	-	-	55, 85

sea por volumetría o por coulombimetría (generado in situ por electrólisis). En el caso de la volumetría, se mide el volumen de la disolución B, de concentración conocida, necesario para consumir el reactivo A contenido en un volumen determinado.

Los equilibrios que generalmente intervienen al realizar una valoración son de: óxido-reducción, complejación, ácido base o de precipitación.

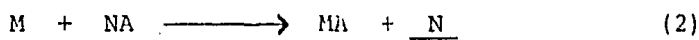
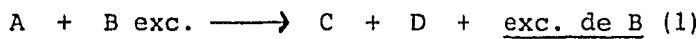
Es necesario seguir el curso de la reacción a lo largo de la valoración, con el fin de determinar su punto final (cercano al punto de equivalencia), lo cual se puede hacer de diversas formas: 1) usando indicadores químicos ó 2) aplicando métodos de medición indicadores, como son: métodos amperométricos, métodos absorciométricos, métodos potenciométricos, métodos conductimétricos, etc...

La operación de medida es la determinación del volumen requerido para llegar al punto final de la valoración y el instrumento generalmente utilizado es una bureta.

Las valoraciones se pueden llevar a cabo directa o indirectamente. En el primer caso se efectúa una sola reacción, tomándose como punto de equivalencia el momento en el que se agota la sustancia a titular.

En el segundo caso se pone un exceso del reactivo titulante y se mide el excedente de éste después del

equilibrio mediante una segunda reacción (1); o bien, se determina alguno de los subproductos formados, que sea proporcional a la sustancia que se desea determinar (ver reacción 2).



Los factores que pueden afectar una valoración son: el pH, el potencial de óxido-reducción, la presencia de agentes complejantes, la fuerza iónica de la disolución, sustancias que pudieran precipitar al elemento que deseamos determinar, iones interferentes (en este caso se puede evitar su efecto ya sea mediante reacciones de óxido-reducción, complejación, precipitación, etc...).

La mayoría de errores en una valoración se debe a la no cuantitatividad de una reacción dada o a que el punto final determinado no corresponda al punto estequiométrico de la reacción, ya sea por el uso de instrumentos e/o indicadores inadecuados o bien, por errores de manipulación.

Las desventajas de este método son su poca sensibilidad para la determinación de trazas y su baja especificidad.

En el cuadro No. 2 se muestran algunas de las valoraciones que podrían ser utilizadas para la determinación de los cationes mencionados.

TABLA No. 2 METODOS DE VALORACIONES VOLUMETRICAS PARA LA DETERMINACION DE CATIONES

Cación	tipo de titulación	titulante	indicador	condiciones	interferencias	referencia
Ca ²⁺	óxido-reducción indirecta	MnO ₄ ⁻	el mismo titulante	60-70°C medio ácido	Mg, Ti, Mn.	7, 85
Ca ²⁺	complejométrica directa	EDTA	calcón o I. de Patton	pH = 10	Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Hg y Mn.	85
Ca ²⁺	complejométrica directa	EGTA	zincón	pH = 10	Ba	85
Fe ²⁺	óxido-reducción	MnO ₄ ⁻	el mismo MnO ₄ ⁻	-	-	85
Fe ²⁺	óxido-reducción	Ce (IV)	o-fenantrolina	-	-	85
Fe ²⁺	óxido-reducción	Cr ₂ O ₇ ⁼	potenciométricamente.	medio ácido	-	85
Mg ²⁺	complejométrica	EDTA	Eriocromo negro T	pH = 10	Ca	85
MnO ₄ ⁻	óxido-reducción	Fe ²⁺	el MnO ₄ ⁻ U o-fenantrolina.	previa oxidación del Mn a MnO ₄ ⁻	Cl ⁻ , HNO ₃ , V, Ce, Cr y Co.	11, 85

Continúa.

Catión	tipo de titulación	titulante	indicador	condiciones	interferencias	referencia
MnO_4^-	óxido-reducción	ác. arsenioso.	el MnO_4^- u o-fenantrolina.	previa oxidación del Mn^{2+} a MnO_4^- .	Cl^- , HNO_3 , Ca y Co .	11, 85
MnO_4^-	óxido-reducción	persulfato	"	"	"	11, 85
MnO_4^-	óxido-reducción indirecta con $C_2O_4^{2-}$	MnO_4^-	el mismo MnO_4^-	70°C	Mg, Zn y Ca	11
Mn^{2+}	óxido-reducción directa	MnO_4^-	el mismo MnO_4^-	pH = 7.0	Cr, Ni , Co y SO_4^{2-}	11
Mn^{2+}	complejométrica indirecta	EDTA	Eriocromo negro T	pH = 10	Mg, Zn y Ca	85
Zn^{2+}	complejométrica indirecta	EDTA	Eriocromo negro T	pH = 10	Mg, Ca y Mn	4, 85
Zn^{2+}	complejométrica directa	EDTA	naranja de xilenol	-	Al, Ba, Th, Sr, Fe(II), Cd, La, Pb, Hg(II) y Cu.	4

2.2.2.3. Determinaciones absorciométricas (10,85).

Estos métodos se basan en la medición de la radiación del espectro electromagnético absorbida por ciertos compuestos y se fundamentan en la ley de Lambert y Beer: "Cuando un haz de radiación monocromático (es decir, de una sola longitud de onda), atraviesa un material absorbente de espesor l , éste absorbe cierta cantidad de radiación, que depende de la concentración de la sustancia absorbente".

Sea:

I_0 = Intensidad de radiación a la entrada de la disolución.

I = Intensidad a la salida.

l = longitud del paso óptico (cm).

C = Concentración de la disolución.

ϵ = Absortividad molar de la sustancia absorbente.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon l C$$

Esta ley puede sufrir desviaciones (positivas ó negativas) debidas a causas inherentes a la propia ley (tales como la no cromaticidad de la radiación), o causas ajenas a la misma (tales como equilibrios químicos, efectos del medio, etc...). El conocimiento de estas causas permite en ocasiones, evitar la desviación y en otras, colocarse en condiciones de medida en las que su efecto sea despreciable.

De todas formas, la ley no siempre se cumple en todos los intervalos de concentración y es necesario para cada caso, determinar cual es éste.

Este método ha adquirido gran importancia, ya que permite alcanzar a veces una precisión mejor que la de los métodos volumétricos corrientes, además de que se tiene el recurso que si las sustancias que se desean determinar, no son absorbentes, se les puede añadir un reactivo conveniente que de un compuesto absorbente.

Es frecuente que haya interferencias de otros iones que también formen compuestos coloridos con el reactivo añadido, pero en la mayoría de los casos se puede evitar su interferencia sin necesidad de separarlos, por medio de cualquiera de los factores utilizados dentro de la química de disoluciones, como son: selección de reactivos de óxido-reducción, fijación del pH, formación de complejos, utilización de disolventes orgánicos o bien, se puede seleccionar una longitud de onda en la que absorba el compuesto que se desea determinar, pero no los interferentes.

Las cuantificaciones pueden llevarse a cabo directa o indirectamente.

Por el método directo se mide la absorbancia (A) de la disolución a analizar y se deduce la concentración (C) por medio de la ecuación $A = \epsilon l C$ o si la ley de Lambert y Beer no se cumple, se interpola el valor en una curva de calibración $A = f(C)$.

En la práctica parte de la radiación se pierde por reflexión en las caras de la celda de muestra y por absorción de sustancias distintas a la que se desea determinar (tales como el disolvente, sales disueltas, etc.). Estos efectos se compensan por comparación con un blanco, que debe encontrarse en una celda idéntica a la de la muestra. El blanco debe contener concentraciones iguales a las de la muestra con excepción de la sustancia a determinar.

En el método indirecto se aprovecha el hecho de que la sustancia que se desea determinar reaccione con algún compuesto absorbente, para formar uno que no absorba. A partir de la disminución en la absorbancia, se puede conocer la concentración del compuesto que se desea determinar.

En general, las determinaciones colorimétricas tienen una gran sensibilidad, aunque no son muy específicas.

Para cada elemento que se desee determinar se necesita dar un tratamiento distinto, lo cual implica mucho gasto de muestras y de reactivos, que en la mayoría de los casos son bastante caros.

En la Tabla No. 3, se muestran en forma resumida, algunos de los métodos colorimétricos que podrían ser utilizados para la determinación de los elementos mencionados.

TABLA No. 3 METODOS COLORIMETRICOS PARA LA DETERMINACION DE CATIONES.

Catión	Reactivo	Longitud de onda (nm)	Condiciones	Intervalo en que cumple la Ley de Beer.	Límite de detección	Interferencias	Referencia
Ca ²⁺	ac. cloránflico (indirecto).	550	-	0 - 280 ppm del ácido.	80 ppm	Fe ³⁺ , Al(III), Cu, Mg, Ba, Sr, K, Na y Mg.	81
Ca ²⁺	Glioxal bis (2-hidroxianil) (GBHA)	520	pH = 12.5	0 - 10 ppm	0.1 ppm	Cd, Ni, Co y Cu.	
Ca ²⁺	8-quinolínol en CHCl ₃ .	400	pH de la extracción = 12.6	-	150 g	Mg, Fe, Be, Al, Mn y muchos más	41
Ca ²⁺	amonio-purpurato (murexida)	490	pH = 11.0 leer antes de 15 min.	0. - 0.8 ppm	0.05 ppm	Zn, Fe(II), Mg Fe(III), Sn.	26
Fe(II)	0-fenantrolina	515	extracción c/ nitrobenzeno pH de 2 a 9.	0 - 6 ppm	0.1 ppm	Ag(I), Bi(III), Cu(II), Ni(II), Co(II), ClO_4^- , CN^- , MoO_4^{2-} , WO_4^{2-} .	7 - 85

Continúa

Catión	Reactivo	Longitud de onda (nm)	Condiciones	Intervalo en que cumple la Ley de Beer.	Límite de detección	Interferencias	Referencias
Fe total	<i>o</i> -fenantrolina	396	pH = 3.9	0 - 6 ppm	0.1 ppm	las mismas que para Fe (II)	85
Fe(II)	batoferantrolina (1)	534	extracción c/ alcohol isoamílico. pH = 4 - 5.	-	0.1 ppm	Ni	19, 56 70
Fe(II)	2,2'-bipiridina	-	-	-	-	Ni, Cd, Zn, Cu, Cr (III).	20
Fe(III)	2,2'-bipiridina/ ác. tioglicólico	-	-	-	-	-	20
Fe(II)	triazina (2)	593	extracción del complejo c/nitrobenzeno. pH de 4 a 5.	-	-	Zn, Mn, Co, Ni, CrO ₄ ⁻	12, 13 77
Fe	acetilacetatos monohidratados de Mg o Zn.	440	extracción c/ CHCl ₃ o con dioxano.	-	1 ppm	F ⁻ , Cr (III)	3

Continua.

Catión	Reactivo	Longitud de onda (nm)	Condiciones	Intervalo en que cumple la Ley de Beer.	Límite de detección	Interferencias	Referencias
Fe(II)	dimetilgloxima	-	medio amoniacal.	0 - 1 ppm	0 ppm	Co, Cu o Ni.	28
Fe(II)	sales nítrico-R (3)	640 - 700	pH de 8 a 10	0 - 50 ppm	0.2 ppm	Co, Cu o Ni.	74, 75
Fe(III)	tenoil trifluoroacetona (TTA) /xileno o benceno	470 ó 510	extracción en medio HNO_3 2M NH_4NO_3 9M.	0 - 10 ppm	0.2 ppm	Zr, Ce	71, 79
Fe(III)	salicilaloxima	-	pH = 7.0	0 - 10 ppm	0.05 ppm	Pb, Zn, Hg, Be, Al, F ⁻ , tartrato, citrato, oxalato, CO_3^{2-} , borato, FO_4^{3-} etc.	31
Fe(III)	ácido kojico (4)	440	pH de 5.5 a 7.0	0 - 20 ppm	0.1 ppm	muchos iones	53
Fe(III)	Tirón (5)	560	pH = 4.7 ⁺ 0.1	0 - 10 ppm	-	Ag^+ , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Ca^{2+} , Ce(IV), Co, etc.	55, 88

Continúa.

Catión	Reactivo	Longitud de onda (nm)	Condiciones	Intervalo en que cumple la Ley de Beer.	Límite de detección	Interferencias	Referencias.
Fe(II) Fe(III)	isonitrosodimetildihidroxoresorcinol.	620 620	pH de 4 a 5 pH = 3.8 - 11.3	0 - 6 ppm 0 - 6 ppm	0.5 ppm 0.5 ppm	citrato ₄ -oxalato, P ₂ O ₇ . Cu, Co o Ni.	65
Mg ²⁺	eriocromo negro T (6)	520	pH = 10.1	0 - 14 ppm	0.2 ppm	Cu, Mn, Fe, Co, Ni, Ca.	30
Mg ²⁺	8-quinolinol.	365	en medio de HCl.	0 - 20 ppm	1 ppm	-	15, 74
Mg ²⁺	R. de Mann y Yoe (7)	510 y 615	pH = 8.95	0 - 0.4 ppm	0.12 ppm	Ca, Al, Cd, Co, Cu(II), Fe(III), Mn(II), Ni(II), y Zn(II).	44, 45
Mg ²⁺	titan amarillo (8)	530	en medio de NaOH.	0 - 5 ppm	-	Mn, Al, Sn, Fe y Ca.	40, 69 85, 87
MnO ₄ ⁻	-	520 ó 546	previa oxidación del Mn a MnO ₄ ⁻	0 - 20 ppm	0.2 ppm	Mo, V, Ti, CN ⁻ Fe(III) y muchos más.	11, 85

Continua.

Catión	Reactivo	Longitud de onda (nm)	Condiciones	Intervalo en que cumple la Ley de Beer.	Límite de detección	Interferencias	Referencias.
Mn(II)	formaldoxima.	450	medio alcalino.	0 - 12 ppm	-	Fe ó PO_4^{3-}	34, 72, 73
MN(II)	trietanolamina	438	pH = 7.5	0 - 70 ppm	6 ppm	Co(II), Ni(II), Cr(III).	54
Zn(II)	ditizona (9)	525	extracción c/ CCl_4 . pH = 5.7	-	0.1 ppm	Ag ⁺ , Hg ²⁺ , Fe ³⁺ , Mn ²⁺ , Mg ²⁺ , Sr ²⁺ , Ca ²⁺ , Cu(II), Cd(III), Bi ³⁺	33, 82
Zn(II)	ditizona/ etilenglicolmonometiléter.	525	pH = 4.0	-	0.1 ppm	"	33, 82
Zn(II)	zincón (10)	610	pH de 8.5 a 9.5	0 - 2.4 ppm	0.1 ppm	Fe, Mg, Ca, P, Cd, Mn, etc.	47, 58, 68
Zn(II)	8-quinolínol	400	pH = 5 - 13 medio clorofórmico.	0 - 10 ppm	1 ppm	Fe, Co, Pb, Bi, Mn, Ni, V y Cd.	48
Zn(II)	dietilditiocarbamato.	448	medio acuoso pH = 9.2 c/g.arábica	0 - 3.5 ppm	0.2 ppm	Cd, Ag, Bi, Cu, Ce, Ni, Fe, Ca, Pb, Ba.	37.

Continúa.

Catión	Reactivo	Longitud de onda (nm)	Condiciones	Intervalo en que cumple la Ley de Beer.	Límite de detección	Interferencias	Referencias.
Zn(II)	dietilditiocarbamato.	262, 280 ó 295	extracción c/éter.	0 - 5 ppm 0 - 10 ppm -	0.01 mg 5 ppm -	Cd, Ag, Bi, Cu, Ce, Ni, Pb, Fe, Ca y Ba.	37
Zn(II)	naranja de xilol.	574	pH = 5.8 - 6.2	0 - 2 ppm	-	Pb, Cu, Al, Fe, Ni, Mn.	78

- NOTAS: (1) 4,7-difenil- 1,10-fenantrolina
 (2) 2,4,6- tri (2-piridil)- 1,3,5-triazina
 (3) 1- nitroso- 2- hidroxil- 3,6-naftaleno sulfato disódico
 (4) 1- hidroxil, etil- 5 - hidroxil- pirona
 (5) 1,2- dihidroxibenceno- 3,5- disulfonato
 (6) -ácido 1-(1- hidroxil- 2- naftilazo)-2- hidroxil-5- nitro-4- naftalensulfónico
 (7) 1- azo-2- hidroxil-3-(2,4- dimetilcarboxanilido)- naftaleno-1'-(2-hidroxibenceno-5-sulfonato).
 (8) dehidro- p- toluidin sulfonato de sodio
 (9) difeniltiocabazona
 (10) 2- carboxil- 2'-hidroxil- 5'- sulfoformazilbenceno.

Existe otro método absorciométrico - absorción atómica-que es muy sensible y altamente específico. En los casos en que se presentan interferencias, sus efectos se pueden eliminar fácilmente ya sea por la adición de agentes liberadores, por selección de la longitud de onda o por el uso de una flama adecuada. En general, se pueden hacer todas las determinaciones que se deseen en una sola disolución de la muestra, con lo que se ahorran muestras, reactivos y tiempo. Por estas razones y como se tenía a la disposición el equipo necesario, se seleccionó este método para hacer las determinaciones de los cationes mencionados.

El fundamento del método así como las condiciones para llevar a cabo las determinaciones serán tratados en el siguiente capítulo.

III. ABSORCION ATOMICA

Cuando una disolución (57, 85) que contiene una sal metálica (o bien algún otro compuesto metálico) se aspira en una flama, se forma un vapor que contiene átomos del metal. Estos átomos en estado basal, son capaces de absorber energía radiante de su propia longitud de onda de resonancia específica, que es en general, la longitud de onda de la radiación que los átomos podrían emitir al regresar del estado excitado al estado basal. Si la energía radiante de longitud de onda igual a la de resonancia se pasa a través de una flama que contiene los átomos en cuestión, parte de esta energía será absorbida y la cantidad de absorción será proporcional al número de átomos en estado basal, presentes en la flama.

La muestra que se aspira, sufre los siguientes cambios:

- 1) Nebulización
- 2) Evaporación del disolvente, dejando un residuo sólido.
- 3) Vaporización del sólido con disociación en sus átomos constituyentes, que inicialmente estarán en el estado basal.

En la Figura No. 7 se esquematizan estos eventos.

3.1. TEORIA ELEMENTAL.

E_0 , representa el estado basal, en el cual el elec

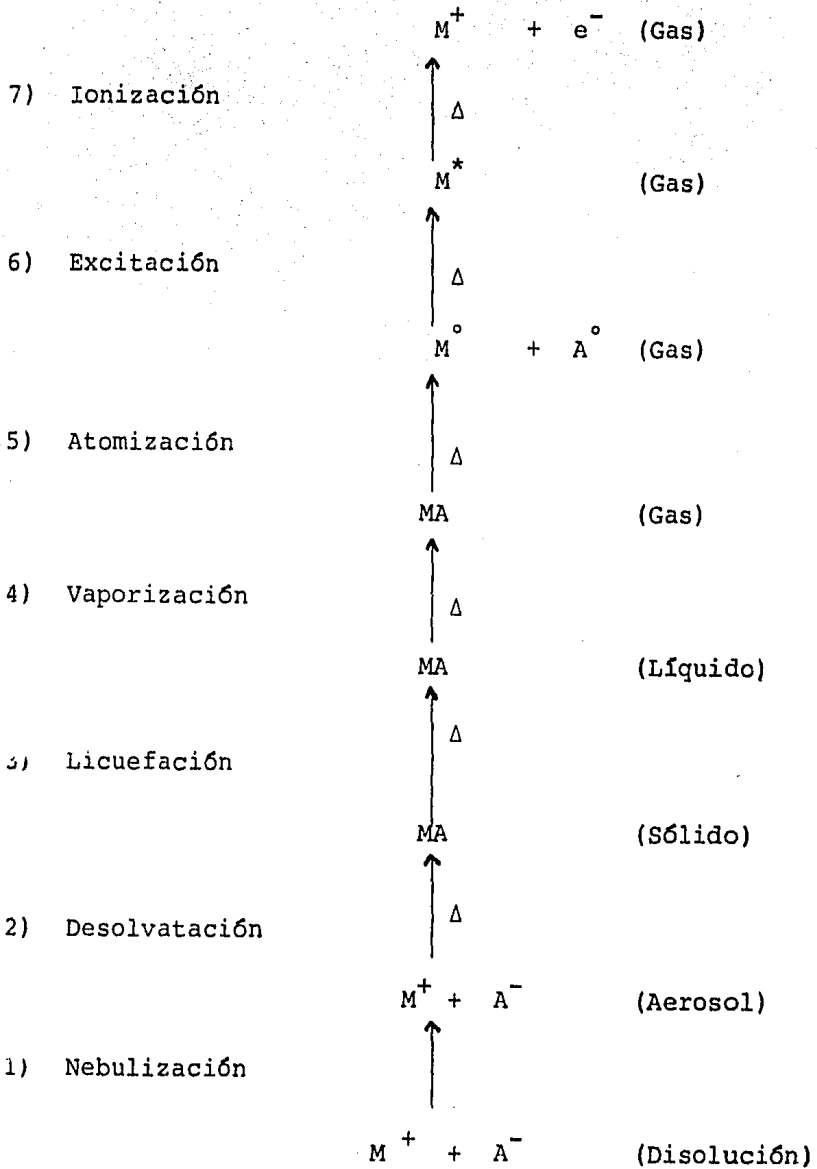
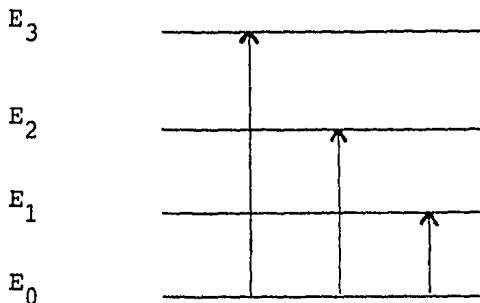


Fig. No. 7 Proceso en la flama (57).

trón de un átomo dado, está en su más bajo nivel de energía y, E_1 , E_2 , E_3 , etc..., representan niveles de energía más altos o excitados.



La transmisión entre dos niveles de energía cuantizados (ejemplo de E_0 a E_1), corresponde a la absorción de energía radiante y la cantidad de energía absorbida (ΔE) es determinada por la ecuación de Bohr:

donde:

c = velocidad de la luz

λ = longitud de onda

$$\Delta E = E_1 - E_0 = h\nu = hc/\lambda$$

ν = frecuencia

h = constante de Plank.

En teoría, es posible que haya absorción de radiación para estados ya excitados, ejemplo de E_1 a E_2 ; E_2 a E_3 , etc..., pero en la práctica, la relación de átomos excitados a átomos en estado basal, es muy pequeña y así, el espectro de absorción de un elemento dado, sólo se asocia con transiciones del estado basal a estados de energía más altos y consecuentemente, es mucho más sim-

ple que el espectro de emisión.

La relación entre la población en estado basal y en estado excitado, está dada por la ecuación de Boltzman:

donde:

N_1 = no. de átomos en estado excitado.

N_0 = no. de átomos en estado basal.

$$N_1/N_0 = (g_1/g_0) e^{-E/KT}$$

g_1/g_0 = relación de peso estadístico para estado basal y excitado.

E = Energía de excitación-
 $h \nu$.

K = constante de Boltzman.

T = Temperatura en °K.

La relación de N_1/N_0 depende de la energía de excitación (ΔE) y de la temperatura (T). Un incremento en la temperatura y una disminución en ΔE , da por resultado un alto valor de la relación N_1/N_0 .

Los cálculos demuestran que sólo una pequeña fracción de los átomos son excitados, aún bajo las condiciones más favorables (a T altas y ΔE bajas).

En espectroscopía de absorción atómica (EAA), como en absorción molecular, la absorbancia (A), está dada por la relación logarítmica de la intensidad de la luz incidente I_0 , a la de la luz transmitida I_t , y es propor

cional al número de átomos del elemento en la flama (Ley de Lambert y Beer):

donde:

K = constante relacionada al coeficiente de absorción.

$$A = \log I_0 / I_t = KLN_0$$

N_0 = la concentración de átomos en la flama.

L = longitud del paso a través de la flama.

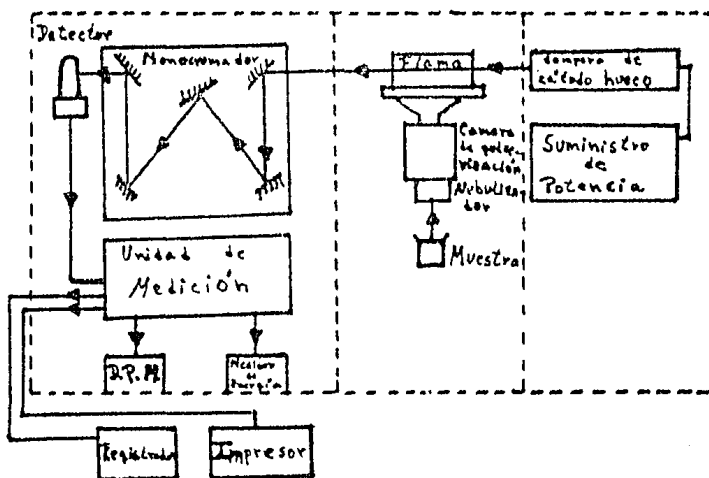
Para pequeños valores de absorbancia, es una función lineal.

3.2 INSTRUMENTACION (57, 85).

Se requiere del siguiente equipo esencial:

- a) Un sistema quemador-nebulizador, que produce átomos metálicos gaseosos por el uso de una adecuada flama de combustión, involucrando una mezcla de gas combustible-oxidante.
- b) Una fuente de línea de resonancia para cada elemento y,
- c) Un sistema espectrofotométrico, el cual incluye: un sistema óptico adecuado, un detector fotosensible y un amplificador apropiado para que mande la señal al detector.

En la Figura No. 8 se muestra el esquema del aparato.



3.3. INTERFERENCIAS. (85).

Los factores que pueden afectar una determinación por absorción atómica, se clasifican en: a) Interferencias espectrales, b) Interferencias químicas y c) Interferencias físicas.

3.3.1 Interferencias espectrales.

Se deben principalmente a la coincidencia entre la frecuencia de una línea de resonancia del elemento por determinar con una línea emitida por algún otro elemento.

Aparte de las interferencias debidas a otros elementos presentes en las sustancias a analizar, pueden prove

nir algunas interferencias del espectro de banda de emisión producido por moléculas o fragmentos moleculares presentes en los gases de la flama; en particular, debidos a los radicales OH^- y cianógeno.

En la mayoría de los casos las interferencias espectrales pueden ser eliminadas. Ya que la amplitud de una línea de absorción es de 0.005 nm, es relativamente fácil seleccionar una línea adecuada, que no coincida con las de bandas moleculares ni con las de otro elemento.

3.3.2. Interferencias químicas.

La producción de átomos gaseosos en estado basal, puede ser inhibida por dos tipos de interferencias químicas: a) por la formación de compuestos estables y b) por ionización.

a) La formación de compuestos estables provoca una incompleta disociación de la sustancia a ser analizada cuando se coloca en la flama o puede dar lugar a la formación dentro de la flama, de compuestos refractarios que no se disocian hasta átomos.

Estas interferencias se pueden eliminar de diferentes formas:

1) Incrementar la temperatura de la flama para ayudar a la formación de átomos libres en estado gaseoso. Por ejemplo, el Al_2O_3 y el aluminato de calcio se disocian mejor en una flama de óxido nitroso - ace

tileno.

- 2) Por el uso de agentes liberadores. Si se tiene un compuesto M-X y se desea determinar M, se agrega un catión R que reaccione con X y deje libre a M.



Mientras mayor sea el exceso de R, habrá una mayor concentración de los átomos metálicos gaseosos, M. Esto será especialmente favorable si el producto R-X es un compuesto estable. Así, en la determinación de Ca en presencia de fosfatos, la adición de un exceso de cloruro de La o de Sr a la disolución prueba, elimina las interferencias debidas a fosfato. También, la adición de EDTA a una disolución de Ca, antes de su determinación, puede incrementar la sensibilidad, lo que posiblemente se debe a la formación de un complejo de EDTA-Ca, que se disocia fácilmente en la flama.

- 3) Extracción del elemento por analizar o de elementos interferentes. Con frecuencia, es suficiente con modificar una extracción de disolvente simple, para separar el mayor porcentaje de una sustancia interferente, de tal manera que la concentración en que queda en la disolución, ya no sea detectable.

- b) La ionización de los átomos gaseosos en estado basal dentro de la flama, provoca una reducción en las lec

turas de absorción, por lo que se deben tomar precauciones, tales como:

- 1) Usar una flama a la temperatura más baja posible, que sea satisfactoria para el elemento a determinar, ya que la alta temperatura de una flama de aire-acetileno o de óxido nitroso-acetileno, puede dar por resultado la apreciable ionización de elementos, tales como los metales alcalinos, Ca, Sr y Ba.

- 2) Por la adición de un exceso de supresor de la ionización, que eventualmente, es una disolución que contiene un catión de más bajo potencial de ionización que el del elemento que se va a determinar. Por ejemplo, una disolución de 2,000 ppm de K, adicionada a una disolución de Ca, Ba o Sr, produce un exceso de electrones en la flama, evitando así que se ionice el metal.

3.3.3. Interferencias físicas.

Estas interferencias también son llamadas interferencias de matriz.

Son principalmente, factores físicos que influyen en la cantidad de muestra que llega a la flama, tales como: la viscosidad, densidad, tensión superficial y la volatilidad del disolvente usado para preparar la disolución prueba.

Estas interferencias se eliminan usando la misma composición de disolvente de los estándares y en la muestra problema.

3.4. FUNDAMENTO DE LOS METODOS DE PRECISION UTILIZADOS PARA LAS DETERMINACIONES POR ABSORCION ATOMICA.

Para las determinaciones realizadas se utilizaron los métodos de curva de calibración y de "adición patrón", los cuales serán discutidos a continuación.

3.4.1. Métodos de curva de calibración (57).

Las determinaciones por absorción atómica, al igual que la mayor parte de las técnicas analíticas, se basan en la comparación con "estándares" de concentración conocida; por tanto, la precisión en esas determinaciones dependerá de la precisión en la preparación de los "estándares" empleados.

En el intervalo de concentración en el cual se cumple la ley de Beer, a condición de conocer la absorptividad molar del compuesto a analizar¹, se puede calcular la concentración en la muestra con solo determinar su absorbancia.

1 Es necesario determinar la absorptividad molar, a partir de una disolución de concentración conocida, bajo las mismas condiciones en que se haga la determinación de la muestra.

Cuando se desea obtener una mayor precisión o cuando se trabaja en un intervalo de concentraciones en donde no se cumple la ley de Beer, se emplea el método de curva de calibración.

Este método consiste en la preparación de disoluciones estándar (las cuales deben ser tratadas en idénticas condiciones que las muestras), en un intervalo de concentraciones en el que queden comprendidas las concentraciones de las muestras a analizar. Es necesario también la preparación de un blanco (el cual es preparado de la misma manera, pero sin contener el elemento a analizar) para el ajuste a cero de la absorbancia en el aparato. Se hacen las lecturas de los estándares. A continuación se hace una representación gráfica de absorbancia en función de concentración en la que se interpolan los valores obtenidos para las muestras analizadas.

3.4.2. Métodos de adición patrón.

Este método se utiliza cuando la concentración del elemento a determinar es muy pequeña; por tanto, se obtienen absorbancias muy bajas y la precisión es mala. La adición del mismo elemento en la muestra, provoca un aumento en la medida de absorbancia y es posible trabajar en intervalos de absorbancia en los que el error sea mínimo.

También se utiliza cuando existen interferencias en las muestras.

El método asume que el elemento adicionado será

afectado por las interferencias en la misma forma y proporción en que es afectado el elemento de la muestra (6). Esto es generalmente válido para interferencias físicas (que afectan el valor de ϵ), pero no siempre lo es para interferencias químicas, en este caso, éstas deben ser eliminadas de una manera apropiada (ya sea con una flama más caliente, por agentes liberadores, etc.).

El método puede efectuarse con una sola determinación o mediante una curva de calibración.

En el primer caso se mide la absorción de la muestra antes y después de la adición de una cantidad conocida de la sustancia por determinar. Si C_0 es el incremento de concentración (corregido de la dilución), se puede decir que:

$$A = \epsilon l C_m \qquad A'' = \epsilon l (C_m + C_0)$$

donde:

ϵ = absorptividad molar de la sust. a analizar

l = longitud del paso óptico

C_m = Concentración de la muestra.

Por lo tanto tenemos:

$$\frac{A}{A''} = \frac{\epsilon l C_m}{\epsilon l (C_m + C_0)} = \frac{C_m}{C_0 + C_m}$$

despejando: $C_m = \left(\frac{A''}{A} - 1 \right) C_o$

Cuando se hace uso de una curva de calibración, el procedimiento general es tomar varias alícuotas de la muestra y adicionar diferentes cantidades del elemento a analizar a cada alícuota, dejando una sin adición. Después de la dilución al volumen final estas disoluciones forman una serie de estándares de diferentes concentraciones. Se realizan las lecturas de absorbancia y se representan gráficamente en función del elemento adicionado (6). La concentración de la muestra se determina extrapolando la curva hasta el eje de las abcisas (57).

En las aplicaciones más comunes de este método, cada muestra debe ser analizada individualmente contra una serie de estándares que son específicos para ella. Hay ocasiones en que un lote de muestras puede analizarse contra una serie de adiciones estándar, pero esto sólo es válido cuando todas las muestras en el lote son química y físicamente similares (6).

En la tabla No. 4 se muestran las condiciones para hacer las determinaciones de los cationes a estudiar.

TABLA No. 4 CONDICIONES PARA LA DETERMINACION DE CATIONES POR ABSORCION ATOMICA

Elemento	Longitud de onda (nm)	Amplitud de paso óptico	Concentracion (µg/ml)	Límite de deteccion (µg/ml)	Flama	Interferencias	Referencias.
Ca	212.0 422.7 239.9	- 0.2 nm 0.1 nm	0 - 10 0 - 4 0 - 800	- 0.021 4.2	aire-acetileno u óxido nítrico acetileno. flama reductora.	Na, K, Li, Mg.	1, 32, 60, 67
Fe	248.3 372.0 386.0 392.0	0.2 nm 0.2 nm 0.2 nm 0.2 nm	0 - 10 0 - 100 0 - 200 0 - 3,200	0.062 0.55 0.90 17.0	flama oxidante de aire-acetileno ó también de óxido nitroso-acetileno.	Acido cítrico.	63, 83
Mg	285.2 202.5	0.5 nm 1.0 nm	0 - 0.4 0 - 20	0.003 0.09	flama oxidante de aire acetileno, ó de óxido nitroso-acetileno.	Metales alcalinos	18, 27, 60
Mn	279.5 403.1 321.7	0.2 nm 0.2 nm 0.1 nm	0 - 4.0 0 - 60 0 - 14,000	0.024 0.30 65	flama oxidante aire-acetileno o de óxido nitroso-acetileno	-	84

Continúa.

Elemento	Longitud de onda (nm)	Amplitud de paso óptico.	Concentración (µg/ml)	Límite de detección (µg/ml)	Flama	Interferencias.	Referencias.
Zn	213.9 307.6	0.2 nm 0.5 nm	0 - 1.6 0 - 14,000	0.009 76	flama oxidante de aire-acetileno.	especies no atómicas.	84

IV. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. MATERIALES

4.1.1. Material biológico

Las muestras de hojas y granos que se utilizaron para las determinaciones, provienen de la localidad de San Antonio Tlacamilco, municipio de Acajete, estado de Puebla y correspondían a dos variedades genéticas diferentes:

- a) Criollo local, variedad que por haber presentado germinación prematura en el año de 1981, se usó en este trabajo, para compararla con otra variedad que no la presentó.
- b) H-139, considerada variedad resistente en la germinación prematura, por lo que se tomó como referencia.

Sin embargo en el transcurso del trabajo, se tuvo la mala sorpresa de que esta variedad supuestamente resistente también germinó.

Las muestras de granos que se recibieron, corresponden a las siguientes etapas de desarrollo de la planta:

- I. Embrión inmaduro
- II. Endospermo lechoso
- III. Endospermo lechoso masoso

IV. Endospermo masoso

V. Semilla madura fisiológicamente

VI. Semilla madura comercialmente

En el caso de las hojas se recibieron muestras de hojas inferiores y superiores de la mazorca, tomadas en dos etapas de desarrollo diferentes:

I. Endospermo inmaduro

II. Endospermo lechoso

4.1.2. Material de laboratorio

- material de vidrio de uso común
- mortero de porcelana
- papel filtro marca Whatmann # 4
- plancha de calentamiento

4.2.2. EQUIPO

- espectrofotómetro de absorción atómica marca Varian modelo AA6
- espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo 303
- balanza analítica marca Mettler tipo H-15
- estufa marca W.C. Heralus GMBH, HANAV
- mufla marca Hevi-Duty

- molino marca SPEX Industries Catálogo # 8000 (recipiente de carburo de tungsteno)
- cámara de refrigeración

4.3. REACTIVOS

- disoluciones tritisol Merck de 1,000 ppm de Ca, Fe, Mg, Mn y Zn
- disolución de lantano Merck al 5%
- ácido clorhídrico Merck (grado reactivo analítico)
- Agua desionizada

4.4. METODOLOGIA

4.4.1. Preparación de las muestras

En el germen y endospermo, se encuentra la mayor parte de los minerales contenidos en el grano de maíz (36). Sin embargo, como se recibieron muestras desde el estado inmaduro, fue poco el material con el que se contaba como para trabajar sólo con el germen o endospermo, por esta razón se decidió usar granos enteros para las determinaciones mencionadas.

Para la preparación de las muestras se utilizaron 10 mazorcas de cada una de las etapas de desarrollo de la planta. Las muestras se prepararon de la siguiente manera: Se eliminó un 20% de cada extremo de las mazorcas tomadas longitudinalmente y se tomaron 10 granos

sanos al azar de la parte central. Los 100 granos obtenidos corresponden a una muestra, la cual se etiquetó con el nombre de la variedad y la etapa de desarrollo perteneciente.

Cabe señalar que como en esta ocasión se observó mayor incidencia de germinación prematura en la variedad H-139 (considerada resistente), que en la de criollo local, se tomaron también granos de mazorcas sanas y germinadas de las dos variedades en la última etapa, la de madurez comercial.

Las muestras se secaron en una estufa calentada a 100°C (aproximadamente 4 días), hasta peso constante para facilitar su molienda. Se observó que después de molidas las muestras aún perdían humedad, por lo que se continuó el secado en las mismas condiciones antes mencionadas, hasta obtener un peso constante; todas las muestras secas se guardaron en un desecador, en espera de ser estudiadas.

Con lo que respecta a las hojas, las muestras recibidas se utilizaron en su totalidad (debido a que era muy poca muestra). Cada muestra se trató individualmente.

Las muestras de hojas fueron lavadas con agua desionizada para eliminar la tierra. Después fueron sometidas al mismo proceso de secado que los granos. Una vez secas, se molieron en un mortero de porcelana, ya que no fue posible molerlas igual que los granos y fue

ron puestas a peso constante y conservadas de la misma manera, en un desecador.

Para llevar a cabo el ataque de muestras, se hicieron pruebas por vía húmeda y por vía seca, tomándose en cada caso aproximadamente 1 g de muestra.

Por vía húmeda se hicieron digestiones: 1) ácido sulfúrico-nítrico (con la cual no se logró disolución total de las muestras), 2) ácido preclórico-sulfúrico (que tampoco logró disolver completamente la muestra), y 3) ácido nítrico-agua oxigenada 3:1 (ésta dió buenos resultados con los granos de maíz, pero al intentar digerir las hojas, había proyecciones repentinas, por lo que no fue posible confiar en esos resultados).

Por vía seca, se calcinó a 750°C durante 24 hr aproximadamente. En algunos casos fue necesario agregar unas gotas de agua para disolver los puntos negros que se formaron.

Después de calcinar se agregaron 5 ml de HCl concentrado y se calentó en baño maría hasta sequedad. En seguida se adicionaron 2 ml más de HCl concentrado para disolver las cenizas y, se filtró cuantitativamente y se lavó con porciones de 2 ml de agua desionizada, recibiendo el filtrado en un matraz volumétrico de 25 ml. Debido a que la técnica seleccionada fue absorción atómica, se requirió la adición de 0.1% de lantano, para eliminar interferencias entre los cationes estudiados. Cabe señalar que las pruebas preliminares indicaban que

los niveles de concentración de manganeso en las muestras eran muy pequeños. Por tal motivo, se adicionó una cantidad conocida de este elemento a cada una de las muestras. Finalmente se completó al volumen con agua desionizada.

Por medio de esta técnica se obtuvieron resultados similares a los obtenidos por ataque con $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$, por lo que se prefirió usar el ataque por vía seca, para que tanto hojas como granos recibieran el mismo tratamiento, sometiendo a calcinación porciones de 1g por triplicado para cada muestra, para su posterior determinación, bajo las siguientes condiciones:

4.4.2 Determinación de los cationes: Ca, Fe, Mg, Mn y Zn

A partir de disoluciones patrón de 1000 ppm de Ca, Fe, Mg y Zn, se preparó una serie de disoluciones de concentraciones variables en ppm. La lectura de la absorbancia de las mismas permitió trazar la curva de calibración. La lectura de absorbancia de la muestra se efectuó en condiciones similares.

En la talba No. 5 se resumen las condiciones utilizadas en cada caso.

La determinación de manganeso, tanto para hojas como para granos, se realizó mediante la técnica de adiciones patrón: para esto, se adicionó a las muestra una cantidad conocida tal que la concentración de manganeso en

la muestra, debida a la adición, fuera igual a 1 ppm. Por otra parte se preparó un control que contenía esta misma cantidad de manganeso.

La lectura de la muestra y del control se efectuaron en el equipo Varian, leyéndose a 279.5 nm con una banda de paso espectral de 0.2 nm y usando una flama oxidante de aire-acetileno.

TABLA No. 5. CONDICIONES USADAS PARA LA DETERMINACION DE LOS CATIONES

Elemento	Muestra	Conc. disoluciones estandar (ppm)	nm	Abertura de paso óptico nm	Flama	Equipo
Ca	granos	0, 1, 3, 5, 7 y 9	422.7	0.2	reductora de oxido nitroso acetileno	Varian AA6
Ca	hojas	0, 1, 2, 3, 4 y 5	211.0	4.0	reductora de aire acetileno	Perkin Elmer 303
Fe	granos	0, 2, 4, 6, 8 y 10	248.3	0.2	oxidante de aire acetileno	Varian AA6
Fe	hojas	0, 0.5, 1, 1.5 2, 3 y 4	248.3	0.2	oxidante de aire acetileno	Varian AA6
Mg	granos	0, 0.5, 1, 1.5 2, y 2.5	285.0	5.0	reductora de aire acetileno	Perkin Elmer 303
Mg	hojas	0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5	285.2	0.5	oxidante de aire acetileno	Varian AA6
Zn	granos	0, 0.3, 0.4, 0.8, 1.2 y 1.6	213.9	0.2	oxidante de aire acetileno	Varian AA6
Zn	hojas	0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 y 1.2	213.9	0.2	oxidante de aire acetileno	Varian AA6

V . RESULTADOS

Para el ataque de las muestras biológicas se probaron varias técnicas: métodos por vía húmeda (digestión) y por vía seca.

Por vía húmeda se hicieron pruebas con diferentes mezclas oxidantes; se obtuvieron buenos resultados únicamente con la mezcla de ácido nítrico-agua oxigenada 3:1.

Por vía seca se llevó a cabo la calcinación de la muestra con su posterior disolución en HCl a ebullición.

A pesar que los resultados obtenidos con estas técnicas fueron comparables, en la digestión de hojas, se tuvieron proyecciones cuyo control resultó en ocasiones muy difícil. Por tanto, se optó por usar la calcinación como método de mineralización de las muestras.

Se optimizaron las condiciones para la determinación de Ca, Fe, Mg, Mn y Zn (en hojas y granos de maíz) por espectroscopía de absorción atómica. Para la determinación de todos los cationes se preparó una sola muestra. En esta muestra se agregó lantano en concentración de 0.1 % (p/v), (1000 ppm). (Ya que por pruebas realizadas se demostró que esta cantidad era suficiente, a pesar de que se recomienda al 1%) para evitar interferencias en la determinación de Ca y Mg. En el caso de Mn, el cual se encontraba en muy baja concentración la cuantificación se hizo por el método de adición patrón.

Los elementos Fe y Zn se determinaron directamente en la muestra resultante de la mineralización sin ningún tratamiento posterior.

Para la determinación de Ca y Mg y debido a que estos elementos se encontraban en concentraciones muy altas, fue necesario diluir.

Se llevaron a cabo las determinaciones de estos ca tiones en hojas y granos de maíz en diferentes etapas del desarrollo de la planta. En las tablas siguientes se expresan de manera resumida las concentraciones de cada uno de estos iones.

Igualmente se determinó la humedad de los granos de maíz a lo largo de su desarrollo. En la tabla No. 13 se expresan sus resultado.

Las determinaciones se hicieron por triplicado y, como regla general, se calculó el promedio entre los resultados obtenidos; en aquellos, casos en los que al gún valor difirió mucho de los otros dos, se eliminó és te y se promedió entre los restantes. En la tabla se dan los valores , promedio y desviación estándar obtenida (ver apéndice I).

En la gráfica No. 1 se observa que el contenido de Ca en las dos primeras etapas, es mayor en la variedad Criollo local; su valor máximo se encuentra en la segun da etapa mientras que Ca la variedad H- 139 se obtiene en la etapa V.

TABLA No. 6 CONCENTRACION DE Ca y Mg EN GRANOS DE MAÍZ,
EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE MADURACION.

Muestra: granos de maíz	Ca µg/g en base seca	Mg µg/g en base seca
I Criollo local	\bar{X} = 563.9 (2) S= 79.9	\bar{X} = 1,096.8 (2) S= 55.7
II Criollo local	\bar{X} = 911.2 (1) S= -	\bar{X} = 1,345.0 (2) S= 315.7
III Criollo local	\bar{X} = 114.8 (3) S= 51.3	\bar{X} = 1,171.9 (3) S= 46.1
IV Criollo local	\bar{X} = 400.1 (2) S= 19.4	\bar{X} = 760.0 (3) S= 139.7
V Criollo local	\bar{X} = 129.9 (2) S= 48.1	\bar{X} = 844.8 (1) S= -
VI Criollo local germinado	\bar{X} = 500.5 (2) S= 64.9	\bar{X} = 770.5 (2) S= 17.8
VI Criollo local sano	\bar{X} = 181.2 (2) S= 72.5	\bar{X} = 1,281.5 (2) S= 22.7
I H-139	\bar{X} = 456.5 (2) S= 40.4	\bar{X} = 1,412.9 (2) S= 57.9
II H-139	\bar{X} = 130.1 (2) S= 29.6	\bar{X} = 1,158.3 (2) S= 47.4
III H-139	\bar{X} = 242.5 (2) S= 67.0	\bar{X} = 979.7 (2) S= 30.1
IV H-139	\bar{X} = 111.7 (2) S= 24.8	\bar{X} = 993.7 (3) S= 54.4
V H-139	\bar{X} = 531.4 (2) S= 76.7	\bar{X} = 1,047.8 (2) S= 73.2
VI H-139 germ.	\bar{X} = 177.5 (1) S= -	\bar{X} = 1,437.2 (1) S= -
VI H-139 sano	\bar{X} = 152.3 (3) S= 70.5	\bar{X} = 803.4 (2) S= 68.2

I Embrión

II Endospermo lechoso

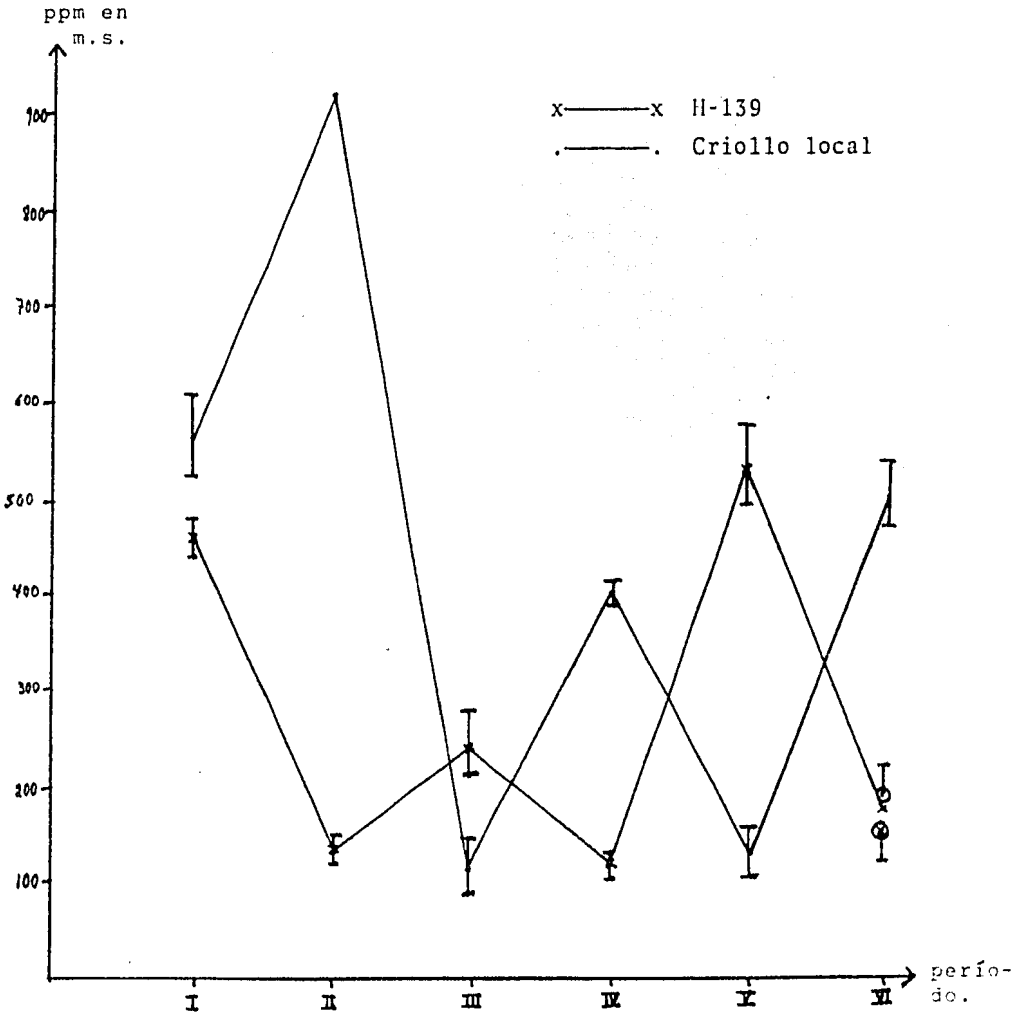
III Endospermo lechoso
masoso

IV Endospermo masoso

V Semilla maduro fisiológico

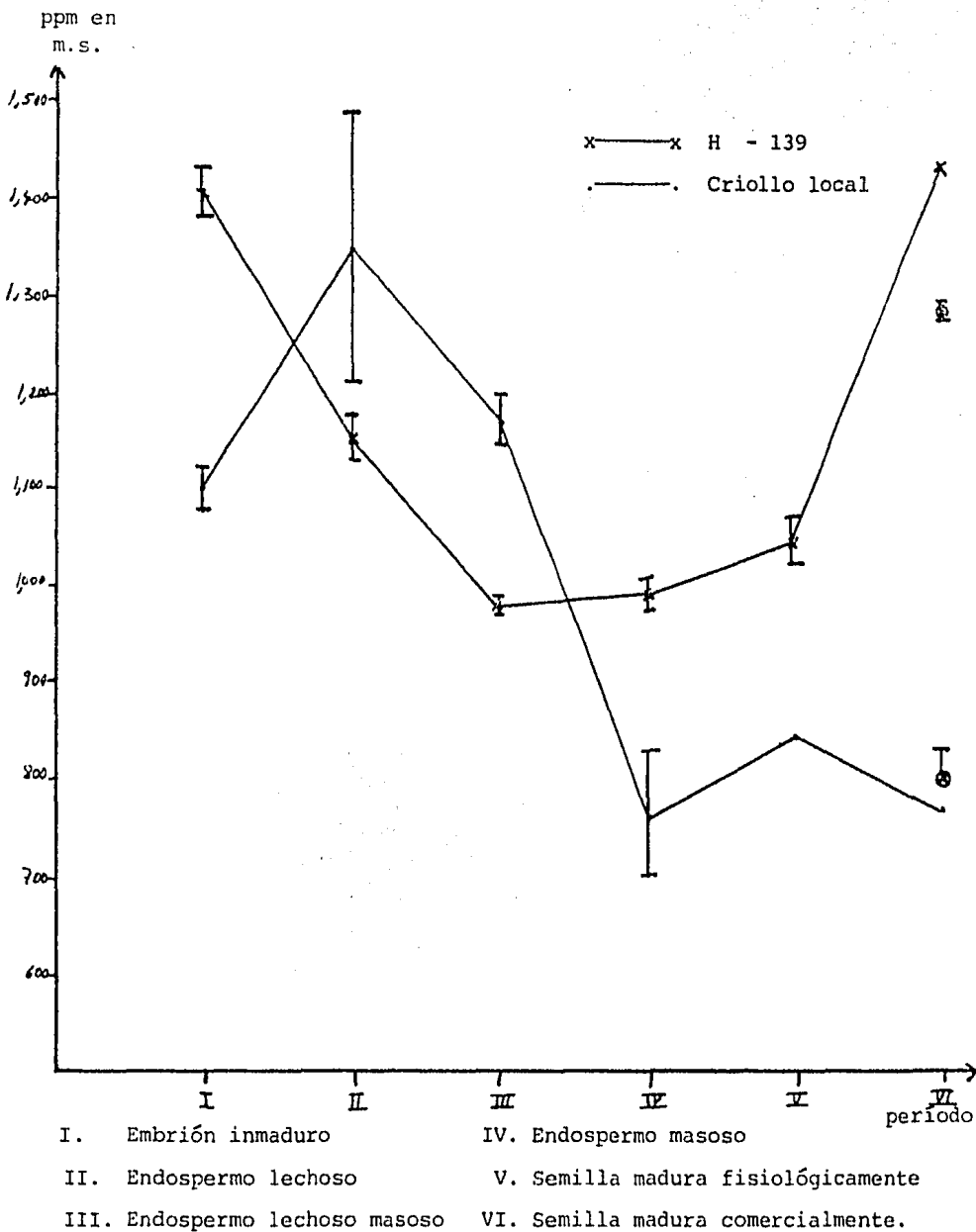
VI Semilla maduro comercial

GRAFICA No. 1 VARIACION DEL CONTENIDO DE Ca EN GRANOS, A LO LARGO DE SU DESARROLLO



- | | |
|--------------------------------|-------------------------------------|
| I. Embrión inmaduro | IV. Endospermo masoso |
| II. Endospermo lechoso | V. Semilla madura fisiológicamente. |
| III. Endospermo lechoso masoso | VI. Semilla madura comercialmente. |

GRAFICA No. 2 VARIACION DEL CONTENIDO DE Mg EN GRANOS A LO LARGO DE SU DESARROLLO.



La variación en el contenido de Ca entre las dos variedades no sigue un patrón definido.

En la variedad Criollo local, el contenido de Ca es mayor en la muestra de granos germinados del período VI que aquellos en los que no presentó el fenómeno; en cambio, en la variedad H- 139 las dos muestras presentan un valor muy cercano y, en base a las desviaciones estándar obtenidas, puede decirse que no existen diferencias entre ellas.

En lo que respecta al contenido de Mg (ver gráfica No. 2) en la variedad H- 139 se observa una disminución considerable de la etapa I a la III, a partir de ésta aumenta ligeramente hasta el período V, para después aumentar notablemente en el período VI, en el que alcanza un valor similar al de la etapa I. La muestra no germinada del período VI tiene un contenido de Mg mucho más bajo que la germinada.

La variedad Criollo local contiene menos Mg que la v. H- 139 en la etapa I. En la etapa II aumenta, alcanzando un valor mayor que H-139 (dudoso por la gran desviación estándar obtenida); esta diferencia se mantiene hasta la etapa III, a partir de la que el contenido de Mg disminuye bastante en la v. Criollo local hasta la etapa IV. Después de este punto Criollo local muestra poca variación y puede considerarse constante por el intervalo de desviación estándar.

En la etapa VI la muestra germinada de Criollo 1

contiene menos Mg que la no germinada; los valores entre la primera mencionada y la muestra no germinada de H-139 son similares.

En las tres primeras etapas la variación en el contenido de Ca y Mg es similar para la variedad Criollo local.

Analizando la gráfica No. 3 se observa que, en las dos primeras etapas las dos variedades muestran una variación similar en el contenido de Fe y que se obtienen valores muy similares para las dos en el tercero y cuarto períodos. A partir de la etapa IV, la v. H- 139 tiende a aumentar ligeramente el contenido de Fe; en la variedad Criollo l. este valor aumenta hasta llegar a un máximo en la etapa V a partir del cual disminuye considerablemente.

En la etapa VI, las muestras de H- 139 presentan valores iguales, mientras que la muestra no germinada de la variedad Criollo l. tiene un mayor contenido que la muestra germinada.

Analizando el contenido de Mn a lo largo del desarrollo del grano se observa que, en general, los valores que se obtienen son muy parecidos para las dos variedades (a excepción del período I, en el que la variedad H- 139 muestra un contenido bastante más alto que la v. Criollo local). En la etapa II el contenido de Mn de H- 139 disminuye y el de Criollo l. aumenta obteniéndose valores muy cercanos para ambos (debido a

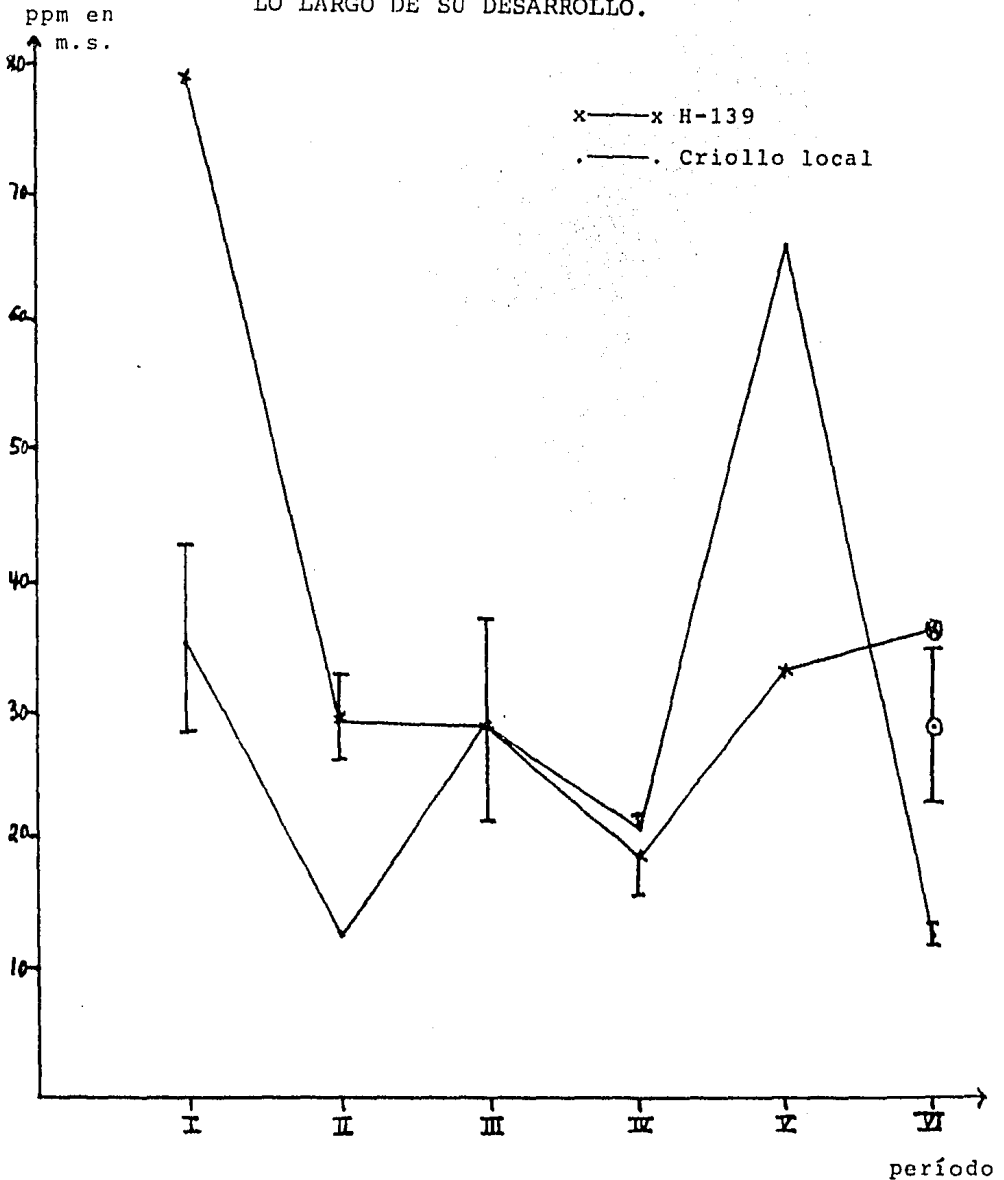
TABLA No. 7 CONCENTRACION DE Fe y Mn EN GRANOS DE MAIZ,
EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE MADURACION

Muestra: granos de maíz	Fe µg/g en base seca	Mn µg/g en base seca
I Criollo local	\bar{X} = 35.4 (2) S= 14.3	\bar{X} = 17.3 (4) S= 3.6
II Criollo local	\bar{X} = 12.3 (1) S= -	\bar{X} = 21.4 (2) S= 8.4
III Criollo local	\bar{X} = 29.0 (3) S= 6.3	\bar{X} = 9.7 (3) S= 3.7
IV Criollo local	\bar{X} = 20.7 (4) S= 0.3	\bar{X} = 12.5 (3) S= 2.0
V Criollo local	\bar{X} = 66.4 (3) S= -	\bar{X} = 11.5 (3) S= 1.9
VI Criollo local germ.	\bar{X} = 13.1 (2) S= 1.2	\bar{X} = 10.6 (2) S= 1.8
VI Criollo local sano	\bar{X} = 28.8 (2) S= 11.8	\bar{X} = 12.9 (3) S= 2.1
I H-139	\bar{X} = 79.1 (1) S= -	\bar{X} = 33.1 (3) S= 5.4
II H-139	\bar{X} = 29.2 (3) S= 6.1	\bar{X} = 19.1 (3) S= 2.3
III H-139	\bar{X} = 29.3 (5) S= 14.8	\bar{X} = 11.1 (3) S= 1.5
IV H-139	\bar{X} = 18.5 (2) S= 5.2	\bar{X} = 14.8 (2) S= 1.4
V H-139	\bar{X} = 33.5 (2) S= -	\bar{X} = 12.8 (4) S= 1.3
VI H-139 germinado	\bar{X} = 36.1 (2) S= -	\bar{X} = 14.0 (2) S= 1.8
VI H-139 sano	\bar{X} = 36.1 (3) S= -	\bar{X} = 11.2 (2) S= 0.1

I Embrión inmaduro
II Endospermo lechoso
III Endospermo lechoso
masoso

IV Endospermo masoso
V Semilla maduro fisiológico
VI Semilla maduro comercial

GRAFICA NO. 3 VARIACION DEL CONTENIDO DE Fe EN GRANOS, A LO LARGO DE SU DESARROLLO.



I. Embrión inmaduro

IV. Endospermo masoso

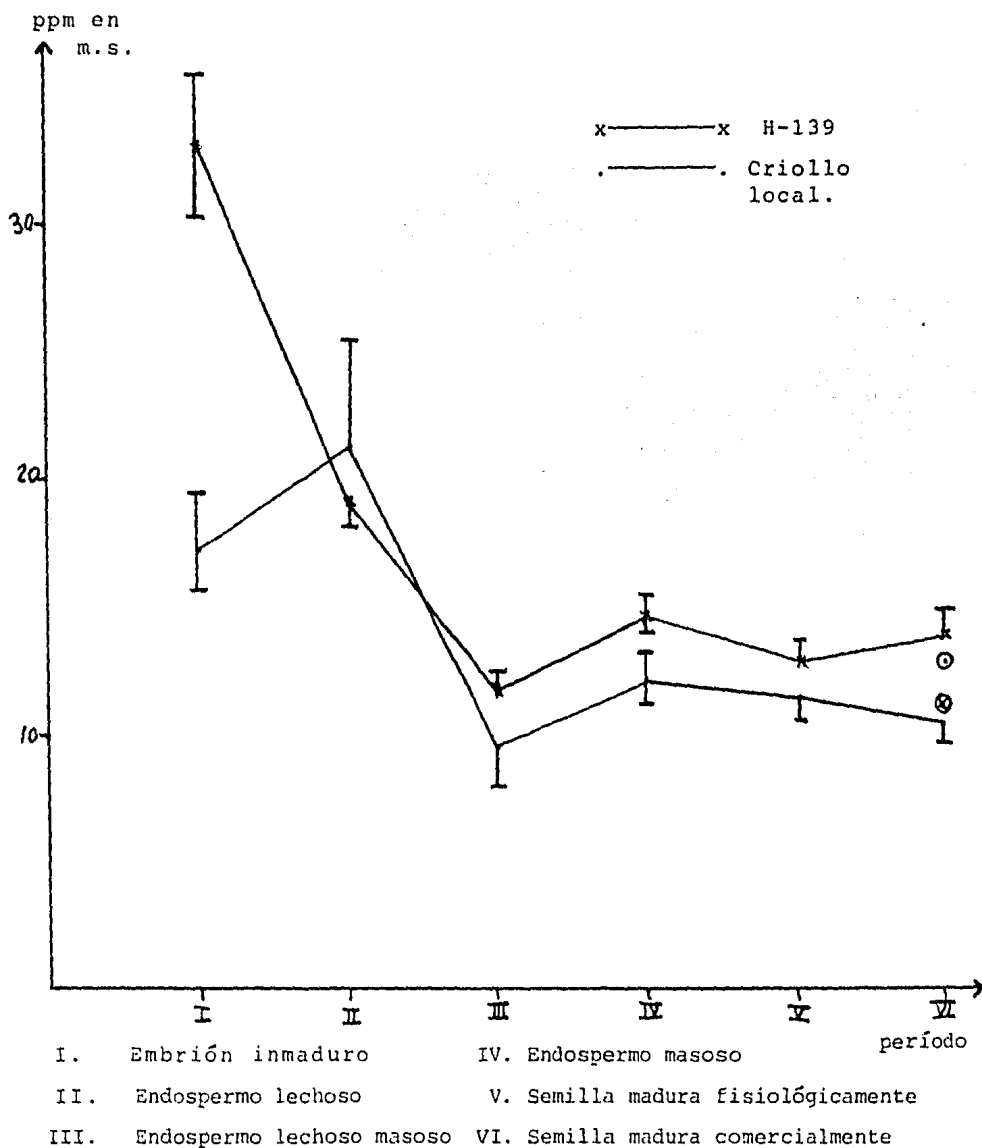
II. Endospermo lechoso

V. Semilla madura fisiológicamente

III. Endospermo lechoso masoso

VI. Semilla madura comercialmente

GRAFICA No. 4 VARIACION DEL CONTENIDO DE Mn EN GRANOS, a LO LARGO DE SU DESARROLLO.



las desviaciones estándar pueden considerarse sin diferencias). En la etapa III, las dos variedades disminuyen su contenido de Mn y a partir de este período, el Criollo local varía poco al igual que el H - 139, se obtienen valores ligeramente mayores para Criollo 1.

Cabe señalar el comportamiento similar que existe en las variaciones del contenido de Fe y Mn entre las 2 variedades. En la primera etapa las concentraciones son mucho mayores para la v. H-139. En la etapa III puede considerarse que el contenido tanto de Fe como de Mn es prácticamente igual en las dos variedades.

Por la importancia de estos elementos en el control del contenido de IAA en la planta, es de interés obtener la relación de Mn / Fe que se encuentra en granos de maíz. En seguida se muestran los resultados obtenidos (Ver tabla No. 8).

En la gráfica No. 5 se puede observar que, en general, las dos variedades muestran un patrón de variación similar hasta la etapa V, después de la cual la v. H-139 aumenta considerablemente su valor, mientras que Criollo 1. tiende a mantenerlo constante.

En la etapa I las dos variedades tienen una relación de Mn/Fe muy similar, siendo un poco mayor para Criollo 1.

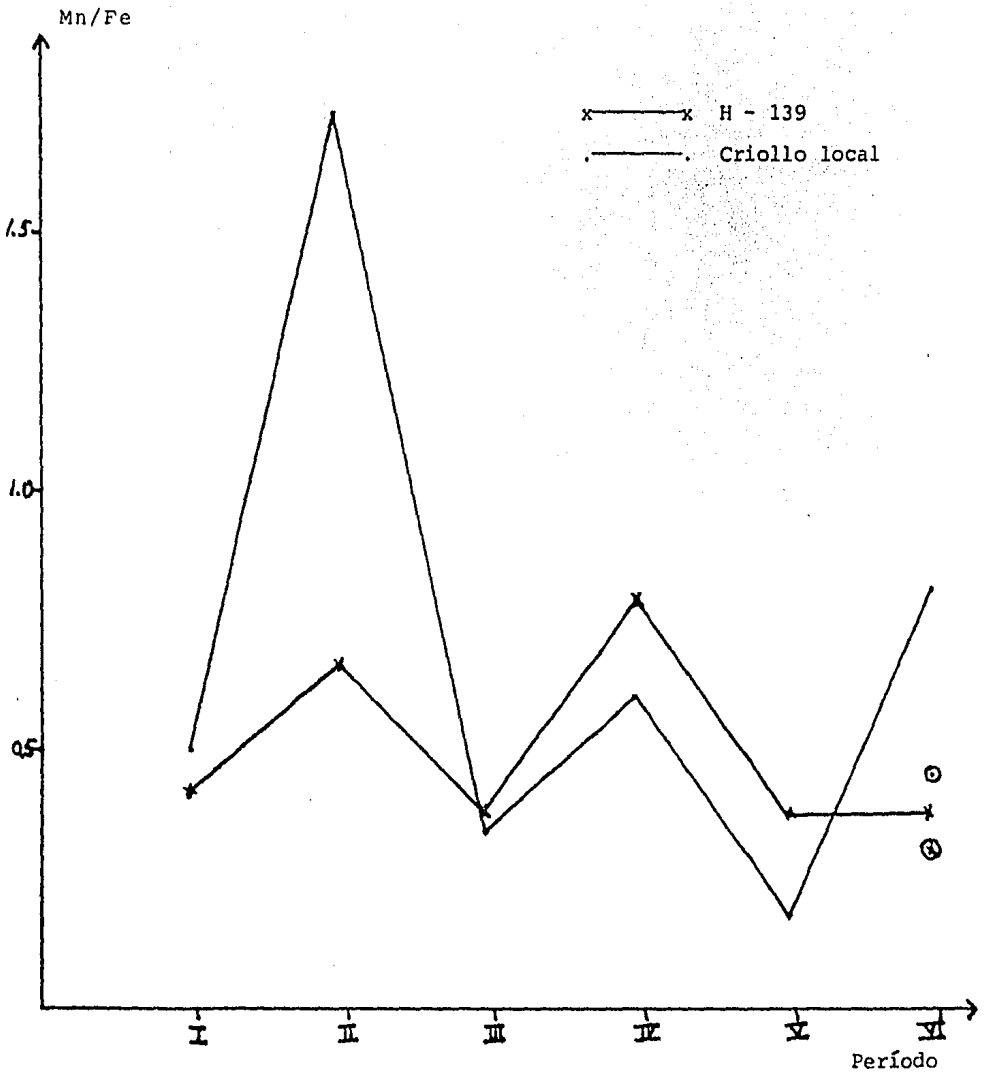
En la etapa II, las dos variedades aumentan su re-

TABLA No. 8 RELACION DE LA CONCENTRACION DE Mn ENTRE LA CONCENTRACION DE Fe EN GRANOS DE MAIZ, EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE MADURACION

Muestra: granos de maíz	Mn $\mu\text{g/g}$ en base seca	Fe $\mu\text{g/g}$ en base seca	Mn/Fe
I Criollo local	17.3	35.4	0.49
II Criollo local	21.4	12.3	1.74
III Criollo local	9.7	29.0	0.33
IV Criollo local	12.5	20.7	0.60
V Criollo local	11.5	66.4	0.17
VI Criollo local germ.	10.6	13.1	0.81
VI Criollo local sano	12.9	28.8	0.45
I H-139	33.1	79.1	0.42
II H-139	19.1	29.2	0.65
III H-139	11.1	29.3	0.38
IV H-139	14.8	18.5	0.80
V H-139	12.8	33.5	0.38
VI H-139 germinado	14.0	36.1	0.39
VI H-139 sano	11.2	36.1	0.31

- I Embrión inmaduro
- II Endospermo lechoso
- III Endospermo lechoso masoso
- IV Endospermo masoso
- V Semilla maduro fisiológico
- VI Semilla maduro comercial

GRAFICA No. 5 VARIACION DE LA RELACION Mn/Fe A LO LARGO DEL DESARROLLO DEL GRANO DE MAIZ.



I. Embrión inmaduro

II. Endospermo lechoso

III. Endospermo lechoso masoso

IV. Endospermo masoso

V. Semilla madura fisiológicamente

VI. Semilla madura comercialmente

lación Mn/Fe, siendo muy considerable el aumento en el Criollo 1; cabe señalar que éste es el único caso en el que la relación Mn/Fe es mayor a 1 (debido a que el contenido de Fe es mínimo en este período para la v. Criollo 1.).

En la etapa III la relación Mn/Fe vuelve a disminuir en las 2 variedades y alcanzan valores muy cercanos entre si.

Al analizar la gráfica No. 6 se observa que en la v. H- 139, el contenido de Zn tiende a disminuir hasta la etapa IV, a partir de la que vuelve a aumentar su valor.

En general se observa que, a lo largo del proceso de desarrollo de la v. Criollo local, existe una tendencia a la disminución del contenido de Zn; sin embargo, en el período III la concentración de este elemento aumenta y alcanza un valor máximo.

En ambas variedades se observa una mayor concentración de Zn en la muestra no germinada que en la germinada; sin embargo, en el caso de la v. Criollo 1., la desviación estándar es tan grande que no permite decir que haya diferencia entre ellas.

Descripción de los resultados de hojas.

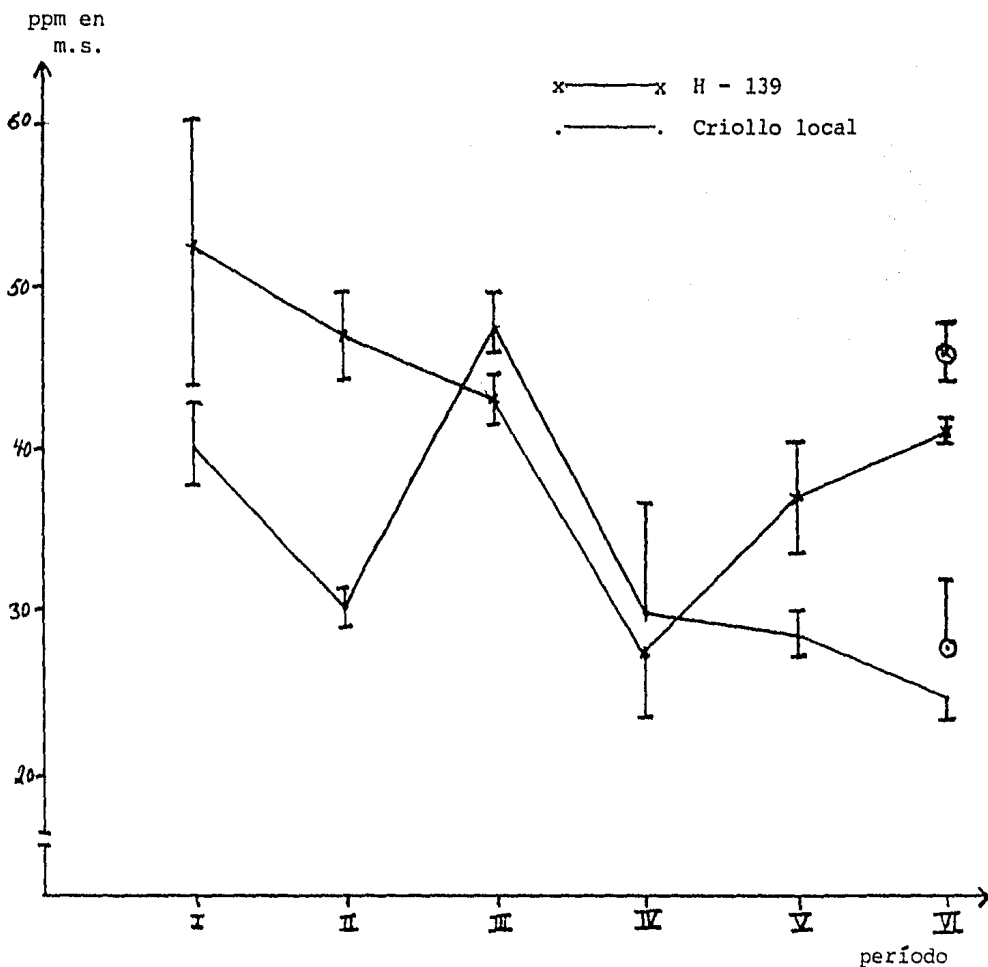
Después de realizar un análisis estadístico de los resultados de Ca (ver anexo I), se encontraron diferen-

TABLA No. 9 CONCENTRACION DE Zn EN GRANOS DE MAÍZ, EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE MADURACION.

Muestra: grano de maíz	Zn µg/g en base seca
I Criollo local	\bar{X} = 40.0 (4) S= 5.8
II Criollo local	\bar{X} = 29.8 (2) S= 2.2
III Criollo local	\bar{X} = 47.7 (3) S= 4.3
IV Criollo local	\bar{X} = 29.9 (4) S= 13.3
V Criollo local	\bar{X} = 28.4 (2) S= 2.3
VI Criollo local germ.	\bar{X} = 24.5 (2) S= 0.8
VI Criollo local sano	\bar{X} = 27.4 (4) S= 8.8
I H-139	\bar{X} = 52.0 (2) S= 16.4
II H-139	\bar{X} = 46.7 (3) S= 5.4
III H-139	\bar{X} = 43.0 (3) S= 3.0
IV H-139	\bar{X} = 27.3 (3) S= 8.1
V H-139	\bar{X} = 36.8 (5) S= 6.9
VI H-139 germinado	\bar{X} = 40.7 (2) S= 1.0
VI H-139 sano	\bar{X} = 45.6 (3) S= 3.5

I Embrión inmaduro	IV Endospermo masoso
II Endospermo lechoso	V Semilla maduro fisiológico
III Endospermo lechoso masoso	VI Semilla maduro comercial

GRAFICA No. 6 VARIACION DEL CONTENIDO DE Zn EN GRANOS,
A LO LARGO DE SU DESARROLLO.



I. Embrión inmaduro

II. Endospermo lechoso

III. Endospermo lechoso masoso

IV. Endospermo masoso

V. Semilla madura fisiológicamente

VI. Semilla madura comercialmente

cias significativas entre variedades, entre etapas (con un 5% de significancia) y entre la interacción variedad-posición (con 5% de significancia); por tanto se puede considerar que, en general, el contenido de Ca tiene tendencia a ser mayor en la variedad Criollo local que en H- 139, así como que hay una tendencia a disminuir del contenido de Mg de la etapa I a la II. (Ver gráfica No. 7).

Se observó también que en las hojas el contenido de Ca (por g de peso seco) fue mayor que en los granos.

No se encontraron diferencias significativas, en relación a las posiciones de las hojas lo cual no concuerda con lo citado en la bibliografía (24) acerca de que el contenido tanto de Ca como de Mg es mayor en hojas inferiores.

Con lo que respecta a Mg (ver gráfica No. 8), su variación es muy similar a la de Ca en los dos genotipos, encontrándose también una tendencia a disminuir la concentración de Mg de la etapa I a la II.

Tampoco en este caso se encontraron diferencias - considerables entre hojas superiores e inferiores.

Se observó que el contenido de Mg fue mayor en granos que en hojas, contrariamente al de Ca.

Analizando los resultados obtenidos para Fe en hojas, se encontraron diferencias significativas entre va

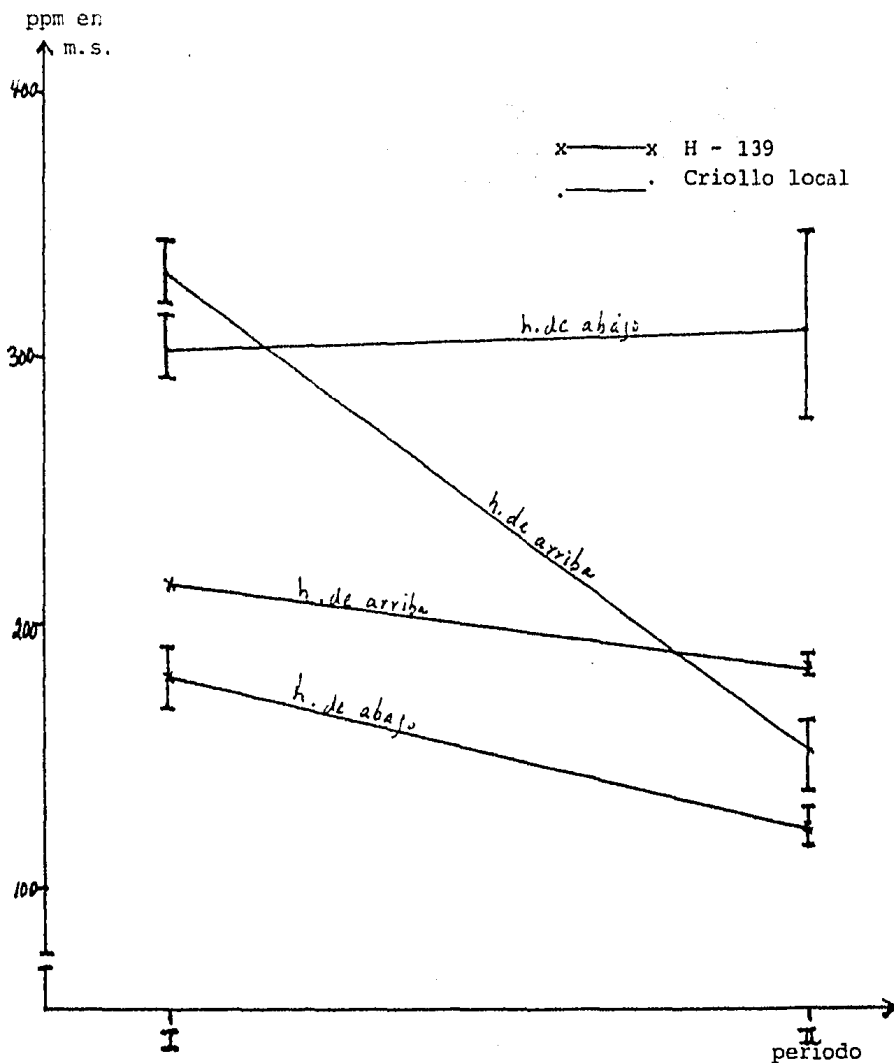
TABLA No. 10 CONCENTRACION DE Ca y Mg EN HOJAS DE MAIZ.

Muestra: hojas de maíz	Ca μ g/g en base seca	Mg μ g/g en base seca
I Criollo local hojas de arriba	\bar{X} = 3,335.8 (3) S= 187.9	\bar{X} = 287.2 (3) S= 49.7
II Criollo local hojas de arriba	\bar{X} = 1,524.4 (3) S= 310.8	\bar{X} = 82.7 (3) S= 5.0
I Criollo local hojas de abajo	\bar{X} = 3,040.2 (3) S= 236.1	\bar{X} = 262.8 (3) S= 37.0
II Criollo local hojas de abajo	\bar{X} = 3,110.2 (3) S= 697.7	\bar{X} = 258.9 (3) S= 59.6
I H-139 hojas de arriba	\bar{X} = 2,174.0 (1) S= -	\bar{X} = 624.9 (1) S= -
II H-139 hojas de arriba	\bar{X} = 1,843.5 (3) S= 52.0	\bar{X} = 105.3 (3) S= 7.6
I H-139 hojas de abajo	\bar{X} = 1,792.1 (3) S= 203.9	\bar{X} = 99.3 (3) S= 6.7
II H-139 hojas de abajo	\bar{X} = 1,230.7 (3) S= 148.3	\bar{X} = 49.1 (3) S= 3.7

I Embrión inmaduro

II Endospermo lechoso

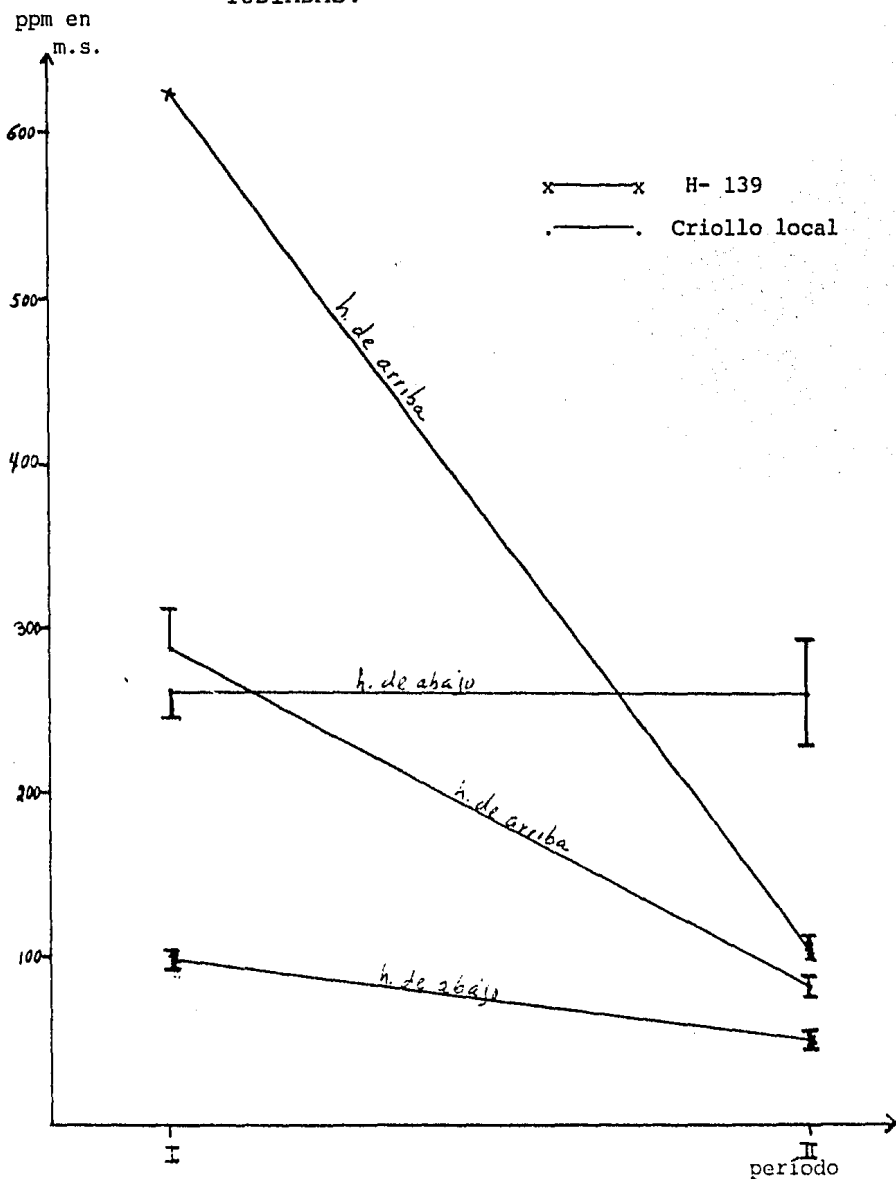
GRAFICA No. 7 VARIACION DEL CONTENIDO DE Ca EN HOJAS SUPERIORES E INFERIORES DE LAS DOS VARIEDADES ESTUDIADAS.



I. Etapa correspondiente a embrión inmaduro

II. Etapa correspondiente a endospermo lechoso

GRAFICA No. 8 VARIACION DEL CONTENIDO DE Mg EN HOJAS SUPERIORES E INFERIORES DE LAS VARIETADES ES TUDIADAS.



I. Etapa correspondiente a embrión inmaduro

II. Etapa correspondiente a endospermo lechoso

riedades, posición y entre las interacciones variedad - posición y etapa - posición. (ver anexo I).

En general, en lo que respecta a variedades, se puede observar en la gráfica No. 9 un contenido más alto - para la variedad Criollo 1. En el caso de posiciones, - el contenido de Fe es mayor en hojas inferiores.

Además se observa un comportamiento definido en la interacción etapa - posición: Las hojas superiores muestran tendencia a disminuir su concentración de Fe de la etapa I a la II, mientras que las hojas inferiores tienden a aumentarla.

Al llevar a cabo el análisis estadístico correspondiente a los resultados de Mn no se encontraron diferencias significativas entre ninguno de los parámetros estudiados. (Ver anexo I).

Como se puede observar en la gráfica No. 10, no existe un patrón definido en la variación de la concentración de Mn, además de que prácticamente todos los valores se encuentran cercanos a excepción de la muestra I H- 139 h. superiores, que tiene un concentración mucho mayor que las demás (resultado no muy confiable debido a que solo se dispuso de muestra para una determinación).

En el caso de los resultados obtenidos para Zn, como se puede ver en la gráfica No. 11 y como lo muestra el análisis estadístico, la variabilidad entre los re-

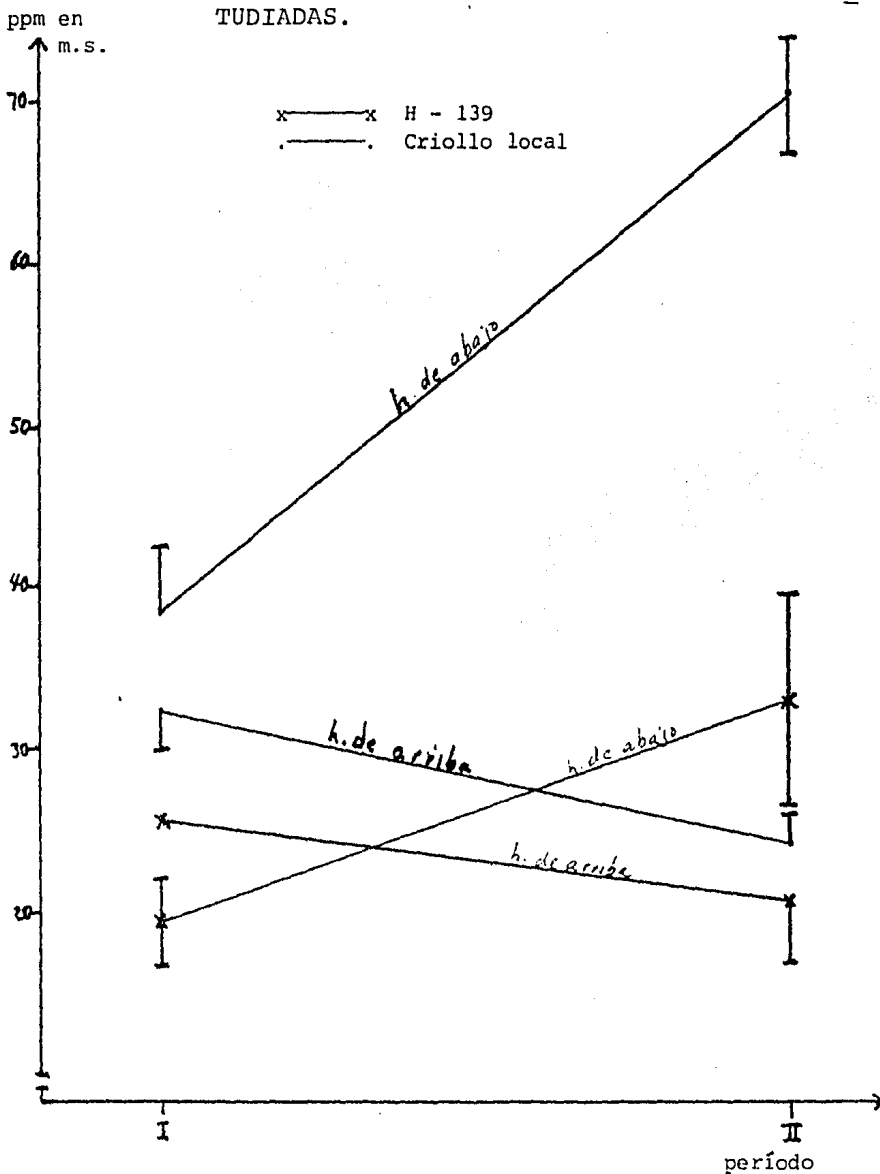
TABLA No. 11 CONCENTRACION DE Fe y Mn EN HOJAS DE MAIZ

Muestra: hojas de maíz	Fe μ g/g en base seca	Mn μ g/g en base seca
I Criollo local hojas de arriba	\bar{X} = 32.6 (3) S= 5.6	\bar{X} = 10.6 (3) S= 1.7
II Criollo local hojas de arriba	\bar{X} = 24.4 (3) S= 3.6	\bar{X} = 15.7 (3) S= 3.17
I Criollo local hojas de abajo	\bar{X} = 38.7 (3) S= 3.7	\bar{X} = 14.4 (3) S= 1.7
II Criollo local hojas de abajo	\bar{X} = 70.5 (3) S= 6.6	\bar{X} = 9.0 (3) S= 1.3
I H-139 hojas de arriba	\bar{X} = 25.7 (1) S= -	\bar{X} = 25.5 (1) S= -
II H-139 hojas de arriba	\bar{X} = 20.7 (3) S= 7.5	\bar{X} = 8.6 (3) S= 1.1
I H-139 hojas de abajo	\bar{X} = 19.5 (3) S= 5.3	\bar{X} = 13.2 (3) S= 1.0
II H-139 hojas de abajo	\bar{X} = 33.2 (3) S= 12.9	\bar{X} = 11.5 (3) S= 0.8

I Embrión inmaduro

II Endospermo lechoso

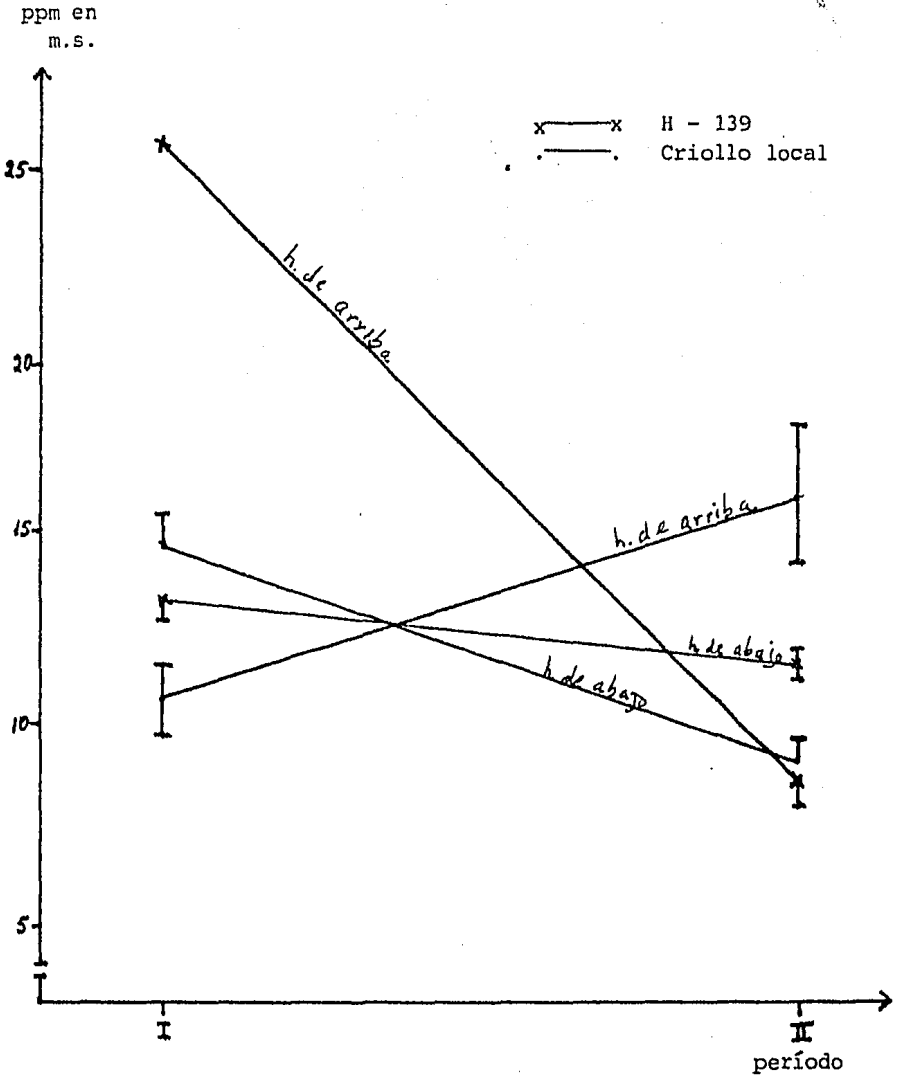
GRAFICA No. 9 VARIACION DEL CONTENIDO DE Fe EN HOJAS SUPERIORES E INFERIORES DE LAS VARIEDADES ESTUDIADAS.



I. Etapa correspondiente a embrión inmaduro

II. Etapa correspondiente a endospermo lechoso

GRAFICA No. 10 VARIACION DEL CONTENIDO DE Mn EN HOJAS SUPERIORES E INFERIORES DE LAS VARIEDADES ESTUDIADAS.



I. Etapa correspondiente a embrión inmaduro
 II. Etapa correspondiente a endospermo lechoso

sultados no permite decir que muestre un patrón definido de variación.

Por otro lado, y tomando en cuenta que la humedad es un factor esencial en el proceso de germinación, se calculó ésta en los granos de maíz a lo largo del proceso de desarrollo mediante la pérdida de peso después del secado.

En la table No. 13 se muestran los resultados obtenidos. En el período VI no se recibieron mazorcas, sino los granos ya secos, por lo que no se pudo determinar la humedad en este período.

En la gráfica No. 12 se puede observar que los resultados encontrados son los esperados, ya que presentan una tendencia a disminuir el contenido de humedad a lo largo del desarrollo.

Sólo en la muestra V de la variedad Criollo local se observa un aumento en el % de humedad.

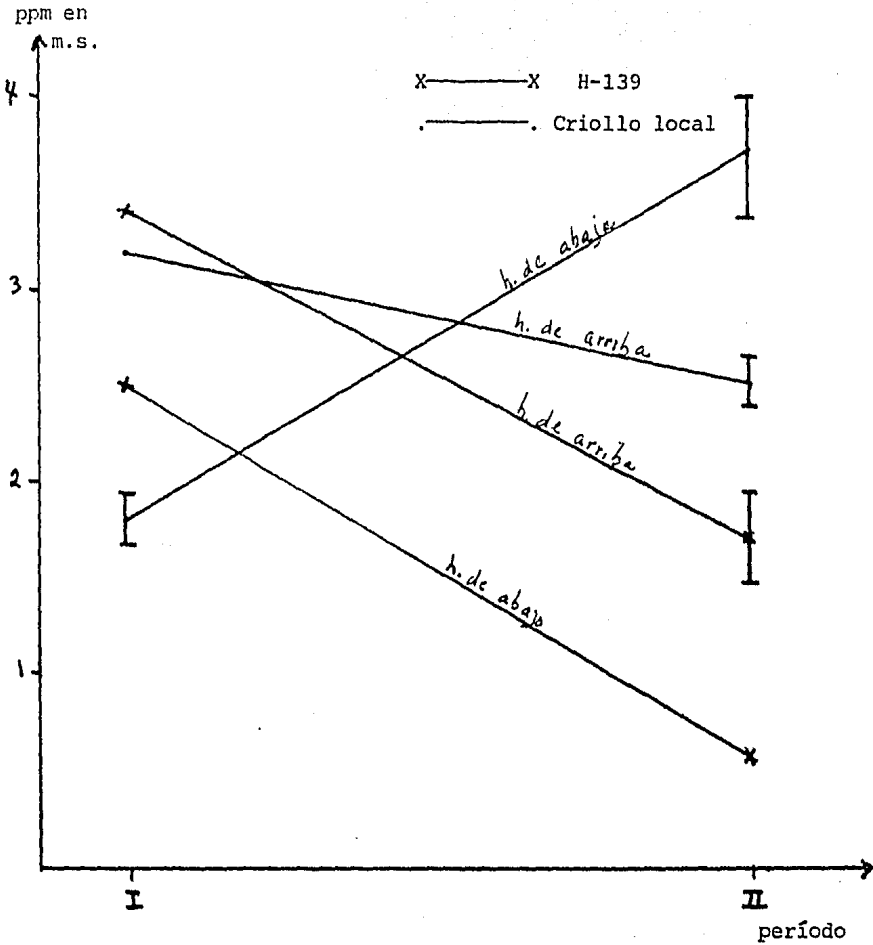
TABLA No. 12 CONCENTRACION DE Zn EN HOJAS DE MAÍZ.

Muestra: hojas de maíz	Zn µg/g en base seca
I Criollo local hojas de arriba	\bar{X} = 3.2 (3) S= 1.63
II Criollo local hojas de arriba	\bar{X} = 2.5 (3) S= 0.25
I Criollo local hojas de abajo	\bar{X} = 1.8 (3) S= 0.35
II Criollo local " hojas de abajo	\bar{X} = 3.7 (3) S= 0.62
I H-139 hojas de arriba	\bar{X} = 3.4 (1) S= -
II H-139 hojas de arriba	\bar{X} = 1.7 (3) S= 0.45
I H-139 hojas de abajo	\bar{X} = 2.5 (3) S= 2.8
II H-139 hojas de abajo	\bar{X} = 0.6 (3) S= 0.001

I Embrión inmaduro

II Endospermo lechoso

GRAFICA No. 11 VARIACION DEL CONTENIDO DE Zn EN HOJAS SUPERIORES E INFERIORES DE LAS VARIETADES ESTUDIADAS.



I. Etapa correspondiente a embrión inmaduro

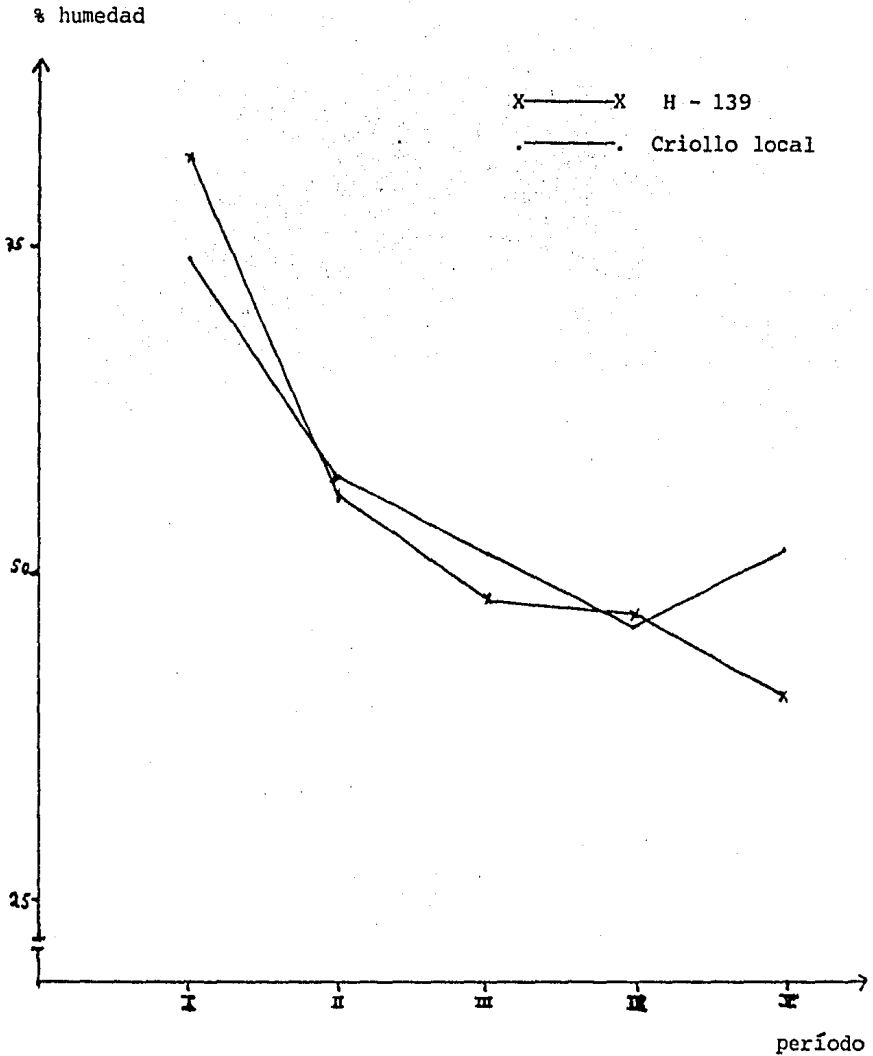
II. Etapa correspondiente a endospermo lechoso

TABLA No. 13 PORCIENTO DE HUMEDAD DE LOS GRANOS DE MAIZ,
EN LAS DIFERENTES ETAPAS DE MADURACION

Muestra : granos de maíz	% de humedad
I Criollo local	74.16
II Criollo local	57.40
III Criollo local	51.54
IV Criollo local	45.97
V Criollo local	51.68
VI Criollo local germ.	-
VI Criollo local sano	-
I H-139	81.94
II H-139	60.85
III H-139	47.94
IV H-139	46.98
V H-139	40.64
VI H-139	-
VI H-139	-

- I. Embrión inmaduro
- II. Endospermo lechoso
- III. Endospermo lechoso masoso
- IV. Endospermo masoso
- V. Semilla maduro fisiológico
- VI. Semilla maduro comercial

GRAFICA No. 12 VARIACION DE HUMEDAD EN GRANOS DE MAIZ A LO LARGO DE SU DESARROLLO.



- | | |
|--------------------------------|------------------------------------|
| I. Embrión inmaduro | IV. Endospermo masoso |
| II. Endospermo lechoso | V. Semilla madura fisiológicamente |
| III. Endospermo lechoso masoso | |

DISCUSION DE RESULTADOS

Para la mineralización de las muestras de granos se probaron métodos de vía seca (calcinación directa) y de vía húmeda (ataque con ácidos sulfúrico-nítrico, perclórico-sulfúrico y nítrico-agua oxigenada). En general, se observó que había coincidencia en los resultados; sin embargo, cabe señalar que a pesar de la constante vigilancia no siempre fue posible eliminar las proyecciones en los ataques por vía húmeda (particularmente en hojas) por lo que se optó por el método de calcinación.

Una vez calcinadas las muestras, se disolvieron con ácido clorhídrico (llevados a ebullición) y se completaron a un volumen dado; éstas constituyeron las muestras originales.

En Fe y el Zn se determinaron directamente en la muestra original ya que se encontraban dentro del intervalo de concentraciones en que se sigue la ley de Lambert y Beer (0-10 ppm para Fe y de 0 - 1.6 ppm para Zn). Se utilizó el método de curva patrón.

Dado que Ca y Mg son macronutrientes de la planta, las concentraciones en la muestra original fueron tan altas que se salían del intervalo en que se cumple la Ley de Lambert y Beer; por tanto fue necesario diluir dicha muestra para realizar las determinaciones. También se usó el método de curva estándar.

En lo que respecta a manganeso y dado que la concentración de este elemento en la muestra original era muy pequeña para ser determinado directamente con presición, se utilizó el método de adición patrón.

Cabe señalar que para evitar errores por dilución, la determinación de Ca y Mg podría haberse hecho a partir de muestras originales en las que se utilizaran cantidades de muestra menores o volúmenes mayores. Sin embargo, esto significaría pérdida de presición en el peso, tiempo mayor de preparación y mayor consumo de muestra; los resultados obtenidos utilizando una única mineralización mostraron una desviación estándar que no es tan grande, lo que indica que los resultados son confiables.

En lo que respecta a resultados del contenido de metales en granos no se pudo llevar a cabo un análisis estadístico ya que se contraba con poca muestra y, aunque de todas las muestras se hicieron un mínimo de tres determinaciones, hubo necesidad de desechar algunos resultados en los que se tenía conciencia de errores accidentales. De esta manera, se trabajó con los promedios de las determinaciones restantes y en algunos casos con un solo valor.

En general, las desviaciones estándar de los resultados obtenidos no son tan grandes ($\sim 10\%$) por lo que puede considerarse confiables.

De los resultados obtenidos es importante mencio-

nar que tanto Ca como Mg se eleva considerablemente en la v. Criollo l. en la etapa II, mientras que en la v. H-139, disminuyó en esta etapa.

Se encontró también una estrecha relación entre Fe y Mn, siendo particularmente notable el elevado contenido de estos elementos en la variedad H-139, en la etapa I, con respecto a la variedad Criollo local.

Por otro lado se observa que las dos variedades presentan contenidos prácticamente iguales de estos elementos en la etapa III, coincidiendo también con el ser el único período en que la relación Mn/Fe son casi iguales.

Es importante mencionar que en este período se observa una disminución considerable en el contenido de Mn en las dos variedades lo que coincide con el momento en el que se inicia el proceso de maduración del grano y en el que, por tanto, debe también iniciarse la degradación (vía oxidación) de ác. indolacético para dar 3-metil - oxindol (64, 65) para que el grano se desarrolle normalmente.

En el caso del Zn no se encontró un patrón definido.

En el caso de hojas se llevó a cabo un análisis estadístico de los resultados obtenidos. Cuando se tomó solo el valor promedio de cada muestra, no se encontraron diferencias significativas, por lo que se introdujo las variables réplicas en el análisis estadístico (ver apén

dice I), con lo que obtuvieron diferencias significativas en el contenido de Ca entre: variedades, etapas (con 5% de significancia) y la interacción variedad-posición (con 5% de sig.). También se encontraron diferencias significativas en el contenido de Mg entre las dos etapas. Se observó un patrón de variación similar para estos dos elementos. Por último, se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de Fe entre: variedades, posición y en las interacciones variedad-posición (con 5% de sig) y etapa-posición, encontrándose un patrón definido en el que se observa que las hojas inferiores tienden a aumentar su contenido de Fe de una etapa a otra y que en hojas superiores tienden a disminuirlo.

En los contenidos de Mn y Zn, no se encontraron diferencias significativas entre ninguno de los parámetros estudiados por lo que no puede decirse que presenten un comportamiento definido.

En el caso de granos no se observaron desviaciones estándar tan grandes en las determinaciones de Zn, pero en hojas, las concentraciones encontradas, a pesar de que estaban dentro del intervalo en que se cumple la ley de Lambert y Beer, eran muy bajas; obteniéndose mala precisión debido al instrumento y desviaciones estándar muy altas, por lo que sería recomendable determinar Zn en hojas por el método de adición, para aumentar la precisión.

VI . CONCLUSIONES

-El método de calcinación de la muestra y disolución de las cenizas con HCl, puede ser utilizada en forma satisfactoria para la determinación por Espectroscopia de absorción atómica de los elementos metálicos no volátiles estudiados.

-El Fe y el Zn fueron determinados directamente en la solución original de las muestras por el método de curva estándar. Las concentraciones de Zn encontradas en hojas fueron muy bajas por lo que se recomienda determinarlas por adición patrón.

-Ca y Mg fueron determinados por el método de curva estándar después de diluir la disolución original.

-Mn fue determinado por el método de adición patrón.

-Se demostró que con agregar solo 1000 ppm de La a la muestra era suficiente para eliminar interferencias.

-Las concentraciones obtenidas para los cationes es estudiados en granos y hojas de maíz, se encuentran dentro de los intervalos citados en la literatura.

-En el período III se observa una disminución en el contenido de Mn así como en la relación de Mn/Fe, lo que coincide con el momento en que debe bajar el nivel de ácido indolacético (IAA) para que el desarrollo del grano se lleva a cabo normalmente. (60,61).

-Se encontró un aumento en el contenido de Ca y Mg en el período II para los granos de la variedad Criollo local, lo que coincide con la observación visual del inicio de brotes en los granos.

-Debido a que solo hubo muestras de hojas de dos estadios, no es posible establecer comparaciones entre los resultados obtenidos para éstas y para granos.

-Como continuación a este trabajo se propone:

Estudiar el contenido de Ca, Fe, Mg, Mn y Zn en diferentes períodos de maduración en granos de mazorcas germinadas y no germinados.

Relacionar la variación en el contenido de Fe y Mn en grano, con los niveles de IAA y de 3-metilen oxindol a lo largo del desarrollo del mismo (efectuado un muestreo de mazorcas germinadas y no germinadas).

APENDICE I

Se llevó a cabo un análisis estadístico de los resultados obtenidos.

En granos, dado que en muchos casos se tenían pocos datos para efectuar un análisis estadístico, sólo se obtuvo la media aritmética y la desviación estándar (cuando se disponía de más de un valor).

Nota: En los casos en los que se obtuvo la desviación estándar de dos datos, puede considerarse más bien como un intervalo de variación, ya que no tiene ningún sentido sacar desviación estándar entre dos valores.

Solo se hizo para que todo recibiera el mismo tratamiento.

Las fórmulas usadas fueron las siguientes:

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{n}$$

donde \bar{X} = media aritmética

X_i = los valores obtenidos para una muestra dada

n = No. de determinaciones de esa muestra

y

$$S = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n}$$

donde S = desviación estándar

X_i = valores obtenidos para una muestra dada

\bar{X} = media aritmética de esa muestra

n = No. de determinaciones de esa muestra

En el caso de hojas, se dispuso de más datos por lo que tenía más sentido hacer un análisis estadístico.

Se obtuvieron también la media y la desviación estándar, además de llevar a cabo un análisis de varianza.

En un principio se tomó solamente el promedio de cada muestra para realizar el análisis de varianza, pero de esta manera no se obtuvieron diferencias significativas, por lo que se introdujo la variable réplicas para aumentar los grados de libertad residual y de ésta manera si se encontraron diferencias significativas.

Cabe señalar que la muestra I-H139 de hojas superiores era muy pequeña, por lo que sólo alcanzó para hacer una determinación, así que el resultado obtenido se consideró válido y se repitió tres veces con el fin de poder llevar a cabo el análisis, que a continuación se describe.

En seguida se expresan los cálculos para obtener el factor de corrección y la suma de cuadros total; los cuales serán resumidos en una tabla junto con el resto de los cálculos:

$$F.C. = \frac{(\sum X)^2}{n}$$

en donde n = al no. de determinaciones totales y x = los valores de c/una.

$$S.C.T = \Sigma X^2 - F.C.$$

El siguiente paso es sacar la suma de cuadrados de: variedades, etapas, posición y réplicas:

$$SC_V = \frac{(\Sigma \text{Criollo I.})^2 + (\Sigma \text{H-139})^2}{12} - F.C. =$$

en donde 12 se refiere al no. de determinaciones por variedad.

$$SC_E = \frac{(\Sigma \text{I})^2 + (\Sigma \text{II})^2}{12} - F.C. =$$

en donde 12 se refiere al no. de determinaciones por etapa.

$$SC_P = \frac{(\Sigma \text{h. sup.})^2 - (\Sigma \text{h. inf})^2}{12} - F.C. =$$

en donde 12 se refiere al no. de determinaciones por posición.

$$SC_R = \frac{(\Sigma 1)^1 + (\Sigma 2)^2 + (\Sigma 3)^2}{8} - F.C. =$$

en donde 8 se refiere al no. de determinaciones por replicado.

En seguida se muestran los cálculos de las sumas de cuadrados de las diferentes interacciones entre las variables:

$$SC_{V \times E} = \frac{(\Sigma \text{I Criollo})^2 + (\Sigma \text{II Criollo})^2 + (\Sigma \text{I H-139})^2 + (\Sigma \text{II H-139})^2}{6}$$

$$- F.C. - SC_V - SC_E =$$

en donde 6 se refiere al no. de determinaciones por cada interacción variedad-etapa.

$$SC_{VxP} = \frac{(\sum \text{Criollo sup.})^2 + (\sum \text{Criollo inf.})^2 + (\sum \text{H-139 sup.})^2 + (\sum \text{H-139 inf.})^2}{6} - F.C. - SC_V - SC_P =$$

en donde 6 se refiere al no. de determinaciones por cada interacción variedad-posición.

$$SC_{VxR} = \frac{(\sum 1 \text{ Criollo})^2 + (\sum 2 \text{ Criollo})^2 + (\sum 3 \text{ Criollo})^2 + (\sum 1 \text{ H-139})^2 + (\sum 2 \text{ H-139})^2 + (\sum 3 \text{ H-139})^2}{4} - F.C. - SC_V - SC_R =$$

en donde 4 se refiere al no. de detmns. por cada interacción variedad-réplica.

$$SC_{ExR} = \frac{(\sum 1 \text{ I})^2 + (\sum 2 \text{ I})^2 + (\sum 3 \text{ I})^2 + (\sum 1 \text{ II})^2 + (\sum 2 \text{ II})^2 + (\sum 3 \text{ II})^2}{4} - FC - SC_E - SC_R =$$

La suma de cuadrados media se obtiene dividiendo la suma de cuadrados entre los grados de libertad de cada parámetro:

$$SCM_V = \frac{SC_V}{GL_V} =$$

En los casos en los que los grados de libertad sean

uno, la suma de cuadrados media es igual a la suma de cuadrados, en los casos en que interviene el parámetro réplicas se tiene que dividir entre dos:

$$SCM_R = \frac{SC_R}{GL_R}$$

$$SCM_{ExR} = \frac{SC_{ExR}}{GL_{ExR}}$$

$$SCM_{VxR} = \frac{SC_{VxR}}{GL_{VxR}}$$

$$SCM_{PxR} = \frac{SC_{PxR}}{GL_{PxR}}$$

La suma de cuadrados del error residual se obtiene de restar todas las sumas de cuadrados de la suma de cuadrados total:

$$SC_{res} = SC_T - SC_V - SC_R - SC_P - SC_R - SC_{VXE} - SC_{VXP} - SC_{VXR} - SC_{EXP} - SC_{EXR} - SC_{PxR} =$$

Resultado del análisis de varianza de los resultados obtenidos sobre el contenido de Ca en hojas de maíz.

En la siguiente tabla se muestran los resultados de los tres valores encontrados para cada muestra.

	Criollo local			H-139		
	1	2	3	1	2	3
h. super. I	3,121.43	3,306.97	3,578.93	2,173.95	2,173.95	2,173.95
h. super. II	1,582.24	1,118.21	1,872.95	1,791.42	1,824.69	1,914.51
h. infer. I	3,240.07	3,171.88	2,708.54	2,044.10	1,544.95	1,787.25
h. infer. II	2,124.78	3,638.70	3,566.97	1,028.83	1,380.67	1,282.60

En el siguiente cuadro se muestran los resultados del análisis de varianza para Ca:

Fuente	G.L.	S.C.	S.C.M.	F. calc.	Fteó 5%	Fteó 1%
Variedad (V)	1	5,911,131.53	5,911,131.53	18.169	5.12	10.56
Etapas (E)	1	2,600,021.70	2,600,021.70	7.992	5.12	10.56
Posición (P)	1	32,718.51	32,718.51	0.101	5.12	10.56
Réplicas (R)	2	200,010.67	100,005.335	0.307	4.26	8.02
V X E	1	270,627.27	270,627.27	0.832	5.12	10.56
V X P	1	1,957,548.1	1,957,548.1	6.017	5.12	10.56
V X R	2	169,838.16	84,919.08	0.261	4.26	8.02
E X P	1	1,021,317.02	1,021,317.02	3.139	5.12	10.56
E X R	2	401,944.23	200,972.12	0.6177	4.26	8.02
P X R	2	194,011.44	97,005.72	0.298	4.26	8.02
Error resid.	9	2,928,019.31	325,333.48			
Total	23	15,687,187.94				

El valor de F se calcula dividiendo la suma de cuadrado media de cada parámetro entre el valor de la suma de cuadrados media residual (325,33.48) y el valor calculado debe ser menor al teórico para que no existan diferencias significativas entre los parámetros estudiados. En este caso se observa que hay diferencias significativas entre las variedades, entre etapas (con un 5% de significancia y entre la interacción de variedad por posición (con un 5% de significancia).

Análisis de varianza de los resultados obtenidos sobre el contenido de Fe en hojas de maíz.

En la siguiente tabla se muestran los resultados de los tres valores encontrados para cada muestra

	Criollo local			H-139		
	1	2	3	1	2	3
h. super. I	28.082	29.196	40.545	25.669	25.669	25.669
h. super. II	29.235	20.633	23.275	10.519	23.469	28.247
h. infer. I	38.769	48.108	29.368	12.642	20.167	25.651
h. infer. II	78.134	71.150	62.076	49.487	17.957	32.293

En el siguiente cuadro se muestran los resultados del análisis de varianza para Fe.

Fuente	G.L.	S.C.	S.C.M.	F calc	5% F teó	1% F teó
Variedad (V)	1	1,685.587	1,685.587	17.352	5.12	10.56
Etapa (E)	1	391.557	391.557	4.031	5.12	10.56
Posición (P)	1	1,284.719	1,284.719	13.226	5.12	10.56
Réplicas (R)	2	16.966	8.489	0.087	4.26	8.02
V X E	1	80.410	80.410	0.827	5.12	10.56
V X P	1	789.870	789.870	8.131	5.12	10.56
V X R	2	106.976	53.488	0.551	4.26	8.02
E X P	1	1,288.379	1,288.379	13.263	5.12	10.56
E X R	2	180.926	90.463	0.931	4.26	8.02
P X R	2	181.410	90.705	0.934	4.26	8.02
Error resid.	9	874.247	97.139			
Total	23	6,881.058				

El factor F se calcula dividiendo la suma de cuadrados media de cada variable entre la del error residual y en este caso se encontró que hay diferencias significativas entre variedades, posiciones y entre las interacciones variedad-posición (con un 5% de significancia) y etapa-posición

Análisis de varianza de los resultados obtenidos sobre el contenido de Mg en hojas de maíz.

En la siguiente tabla se muestran los resultados de los tres valores encontrados para cada muestra.

	Criollo local			H-139		
	1	2	3	1	2	3
H. super. I	217.96	332.27	311.37	624.9	624.9	624.9
H. super. II	87.23	75.78	85.21	94.64	109.62	111.74
H. infer. I	314.74	231.55	241.96	107.5	90.99	99.42
H. infer. II	174.81	324.86	297.09	53.74	48.96	44.64

Fuente	G.L.	S.C.	S.C.M.	Fcal	Fteo 5%	Fteo 1%
Variedad	1	61.986	61.986	0.0014	5.12	10.56
Etapa	1	227007.731	227007.731	5.1100	5.12	10.56
Posición	1	69364.453	69364.453	1.5614	5.12	10.56
Réplicas	3	1682.361	941.180	0.0189	4.26	8.02
VxE	1	48997.806	48997.806	1.1029	5.12	10.56
VxP	1	201785.017	201785.017	4.5422	5.12	10.56
VxR	2	1852.862	926.431	0.0209	4.26	8.02
ExP	1	168341.85	168341.85	3.7894	5.12	10.56
ExR	2	1102.269	551.134	0.0124	4.26	8.02
PxR	2	608.284	304.142	0.0068	4.26	8.02
Residual	9	44424.601				
Total	23	765229.220				

Como se puede ver en la tabla anterior, no existe diferencia significativa de ninguna de las variables. Se puede apreciar sin embargo, que en la etapa la F cal. y

la F teo al 5% son casi iguales, por tal motivo conside
ramos como residual todas las interacciones:

Fuente	G.L.	S.C.	SCM	Fcal	Fteo 5%	Fteo 1%
Variedad	1	61.986	61.984	0.0024	4.41	8.28
Etapa	1	227007.731	227007.731	8.7476	4.41	8.28
Posición	1	69364.453	69364.453	2.6729	4.41	8.28
Réplica	2	1682.361	841.180	0.0324	3.55	6.91
Residual	18	467112.689	25950.705			
Total	23	765229.22				

Por lo tanto tenemos que hay diferencia significati-
va en la etapa al 5% y al 1%.

Análisis de varianza de los resultados obtenidos so
bre el contenido de Mn en hojas de maíz.

En la siguiente tabla se muestran los resultados de
los tres valores encontrados para cada muestra.

	Criollo local			H-139		
	1	2	3	1	2	3
H. super. I	12.550	10.802	8.436	25.509	25.509	25.509
H. super. II	13.402	20.561	13.264	7.401	8.242	10.079
H. infer. I	12.402	14.289	16.599	11.685	13.922	14.013
H. infer. II	7.530	8.794	10.712	10.490	12.420	11.655

En la siguiente tabla se muestran los resultados del análisis de varianza para Mn.

Fuente	G.L.	S.C.	SCM	Fcal	F teo 5%	Fteo 1%
Variedad	1	30.5846	30.5846	0.966	5.12	10.56
Etapas	1	133.8356	133.8356	4.229	5.12	10.56
Posición	1	56.2826	56.2826	1.778	5.12	10.56
Réplicas	2	12.0353	6.0176	0.190	4.26	8.02
VxE	1	126.2481	126.2481	3.989	5.12	10.56
VxP	1	15.6413	15.6413	0.494	5.12	10.56
VxR	2	2.7263	1.3631	0.043	4.26	8.02
Exp	1	8.2334	8.2334	0.260	5.12	10.46
ExR	2	4.959	2.4295	0.077	4.26	8.02
PxR	2	11.8977	5.9489	0.188	4.26	8.02
Residual	9	284.8277	31.6475			
Total	33	687.1716				

Como se puede ver en la tabla anterior, ninguno presenta diferencia significativa.

Análisis de varianza de los resultados obtenidos sobre el contenido de Zn en hojas de maíz.

En la siguiente tabla se muestran los resultados de los tres valores encontrados para cada muestra.

	Criollo local			H-139		
	1	2	3	1	2	3
H. sup. I	1.963	5.533	2.202	3.404	3.404	3.404
H. sup. II	2.696	2.114	2.541	2.168	1.474	1.065
H. inf. I	1.315	1.941	2.144	8.343	3.008	1.939
H. inf. II	2.885	3.822	4.395	0.602	0.605	8.254

Fuente	G.L.	S.C.	S.C.M.	Fcal	Fteo 5%	Fteo 1%
Variedad	1	0.7060	0.7069	0.142	5.12	10.56
Etapas	1	1.4895	1.4895	0.299	5.12	10.56
Posición	1	2.2113	2.2113	0.444	5.12	10.56
Réplicas	2	1.0465	0.5232	0.105	4.26	8.02
VxE	1	6.7088	6.7088	1.347	5.12	10.56
VxP	1	2.9252	2.9253	0.587	5.12	10.56
VxR	2	7.7470	3.8735	0.778	4.26	8.02
ExP	1	3.9407	3.9407	0.791	5.12	10.56
ExR	2	13.7759	6.8880	1.383	4.26	8.02
PxR	2	7.1584	3.5792	0.7186	4.26	8.02
Residual	9	54.8283	4.9809			
Total	23	92.5386				

Como su puede observar en la tabla anterior, ninguna de las variables presenta diferencia significativa.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Adams, P.B., Passmore, W.O., Critical Factors in the Determination of the Alkaline Earth Elements in Glass by Atomic Absorption Spectrometry. Anal. Chem. 38 (4): 630-633, 1966.
- 2) Allan, J.E., The preparation of agricultural samples for Analysis for Atomic Spectroscopy, Ed. Varian Techtron PTY-LTD, New Zeland, 1971, pp 5-7, p.
- 3) Aly, M.M., Spectrophotometric determination of trace quantities of iron (III) by an exchange reaction with metal acetylacetonates. Anal. Chim. Acta. 58: 467-469, 1972.
- 4) Ashton, A.A., Titrimetric microdetermination of copper and zinc with EDTA. Anal. Chim. Acta, 28: 296-298, 1063.
- 5) Beaty, R.D., Concepts Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry, Perkin- Elmer Corporation, U.S.A., 1978, pp 3-9, 23-28, 49 p.
- 6) Bennet, P.A., Rothery, E., Introducing Atomic Absorption Analysis, Varian Techtron Pty Limited, Australia, 1983, pp 80-83, 105 p.
- 7) Brumblay, R.U., A first course in Quantitative Analysis, Ed. Adisson-Wesley Publishing Company, E.U.A., 1970, pp 329-335, 375-376, 420 p.
- 8) Castro Ibarra, A.C., Tesis de licenciatura: Estudio de la relación fierro y managaneso en la germinación prematura del maíz, Facultad de Química, UNAM, 1983,

- pp 44-45, 59 p.
- 9) Chandra Shome, S., Colorimetric determination of Iron with Isonitroso-dimethyldihydroresorcinol. *Anal. Chem.* 20: 1205-1208, 1948.
 - 10) Charlot, G., Chimie Analytique Quantitative I, Masson et cie Editeurs, Paris, 1974, pp. 131, 133, 133-138, 199-209, 325 p.
 - 11) Charlot, G. & Bézier, D., Quantitative Inorganic Analysis, John Wiley & sons, Inc., London, 1957, pp 453-454, 90-92, 366-371, 470-482, 632-635, 691 p.
 - 12) Collins, P.F., Harvey, D., 2, 4, 6-tripyridyl-5- triazina as a reagent for iron. *Anal. Chem.* 31: 1862-1867, 1959.
 - 13) Collins, P.F., Harvey, D., Determination of Iron in wine using 2, 4, 6-tripyridyl-5- triazine. *Anal. Chim. Acta.* 22: 125-127, 1960.
 - 14) De la Fuente, R.K., Leopold, A.C., A role for Calcium in Auxin transport. *Plant Physiology*, 51: 845-847, 1973.
 - 15) Deterding, H.C., Determination of Magnesium in Aluminium Alloys. *Ind. and Eng. Chem. Analytica.* 18: 127-129, 1946.
 - 16) Díaz del Pino, A., El Maíz, Ed. Truco, México, 1964 pp 229-234, 297 p.
 - 17) Dungan & Lang, You can grow more Corn, The Good heart Willcox, Co., Chicago, 1953, pp 45-49, 252 p.
 - 18) Firman, R.J., *Spectrochim. Acta*, 21: 341, 1965.

- 19) Forrester, J.S. & Jones, J.L., Rapid Chemical Determination of iron, nickel and vanadium in petroleum oils. *Anal. Chem.*, 32: 1443-1446, 1960.
- 20) Fritz, F. & Alcides, C., Detection of traces of Iron. *Anal. Chem.*, 29: 580-582, 1957.
- 21) Fuehring, H.D. & Soofi, G.S., Nutrition of Corn on calcareous soil: II Effect of zinc on the Yields of grain and stover in relation to other micronutrients. *Soil Science Society of America Proceedings*, 28 (1): 79-82, 1964.
- 22) Gastélum y Romero, C., Etiología de la germinación prematura del maíz en Huamantla, Tlaxcala. *Agrociencia*, 43: 81-87, Enero-Marzo, 1983.
- 23) Goldstein, D. & Stark Mayer, C., New specific test for Calcium. *Anal. Chim. Acta*, 19: 437-439, 1958.
- 24) González, C. y Rodríguez, M., La nutrición mineral del maíz. *Agricultura Técnica*, 35 (1): 29-34, 1975.
- 25) Goodwin, T.W. and Mercer, E.I., Introduction to Plant Biochemistry, Pergamon Press, Germania, 1972, pp 272-273, 331-333, 324-329, 359 p.
- 26) Gorsuch, T.T., Posner, A.M., Colorimetric Determination of microquantities of calcium. *Nature*, 176 (4475): 268, 1955.
- 27) Halls, D.J. & Townshend, A., A study of some interferences in the atomic absorption spectrophotometry of magnesium. *Anal. chim. Acta*, 36: 278-285, 1966.
- 28) Hall, W.T., Colorimetric determination of small

- quantities of iron in water with dimethylglyoxime.
Chem. Abst., 42: 2542 c, 1948.
- 29) Harald Kaldewey, Yusut Vardor; Harmonal Regulation in Plant Growth and Development; Verlay Chemie: Germany, 1972 pp 246-147 y 524 p.
- 30) Harvey, A.E., Jr. & Komarmy, J.M. & Wyatt, G.M., Colorimetric determination of Magnesium with Eriochrome Black T. Anal. Chem., 25: 498, 1953.
- 31) Howe, D.E., Mellon, M.G., Colorimetric determination of iron with salicylaloxime. Ind. and Eng. Chem., Analytical, 13: 612-614, 1941.
- 32) Hwang, J.Y., Sandonato, L. Anal. Chim. Acta, 48: 188, 1969.
- 33) Kägi, J.H.R., Valle, B.L., Determination of zinc by direct extraction urine with Diphenyithiocarbazone. Anal. Chem., 30: 1951-1954, 1958.
- 34) Katsumi, G., Tsuyoshi Komatso, Rapid Colorimetric Determination of manganese in waters containing iron. Anal. Chim. Acta, 27: 331-334, 1962
- 35) Kenneth, T.W., John, R.W., Colorimetric Determination of ultramicroquantities of Calcium, using glyoxal bis (2-hydroxyanil). Anal. Chem., 33: 244-245, 1961.
- 37) Kress, K.E., Photometric Determination of zinc oxide in Rubber Products. Anal. Chem., 30: 432-440, 1958.
- 38) Krishnamoorthy, Gibberellins and Plant Growth, John Wiley & sons, India, 1975, pp 71-72, 356 p.
- 39) Levitt, J., Introduction to Plant Physiology, Mosby

- Company, 2^a Ed, U.S.A., 1974, pp 303-343, 457 p.
- 40) Ludwig, E.E. & Johnson, C.R., Spectrophotometric Determination of Magnesium by Titan yellow. Ind. and Eng. Chem., Analytical, 14: 895-897, 1942
 - 41) Luke, C.L., Spectrophotometric determination of Calcium, with 8- Quinolinol. Anal. Chim. Acta, 32: 221-226, 1965.
 - 42) Maclachlan, G.A. and Waygoog, E.R., Kinetics of the enzymically- catalyzed oxidation of indoleacetic acid. Can. J. Biochem. and Physiol. 34: 1233-1250, 1956.
 - 43) Mangelsdorf, P.C., The Inheritance of Dormancy and Premature germination in maize. Genetics, 15: 462-494, 1930.
 - 44) Mann, C.K. and Yoe, J.H., Spectrophotometric determination of Magnesium with sodium-1- azo-2- hidroxy-3- (2,4- dimethylcarboxamilide)- naphtalene- 1'- (2- hidroxybenzene-5- sulfonate). Anal. Chem., 28: 202-205, 1956.
 - 45) Mann, C.K. and Yoe, J.H., Spectrophotometric Determination of Magnesium with 1- azo- 2- hidroxy-3- (2,4- dymethylcarboxamilide)- naphtalene- 1'- (- hidroxybenzene). Anal. Chim. Acta, 16: 155-160, 1957.
 - 46) Mayer, A.M., Poljakoff- Mayber, The germination of seeds, Pergamon Press, 2^a Ed, Gran Bretaña, 1975, pp 70-73, 126-134, 192 p.
 - 47) Mc Call, J.T. and Davis, G.K., Spectrophotometric Determination of copper and zinc in Animals tissues.

- Anal. Chem., 31: 1226-1228, 1959.
- 48) Medlin, N.L., Colorimetric Determination of zinc and cadmium with 8- Quinolinol. Anal. Chem., 32: 632-634, 1960.
- 40) Melsted, S.W., Some Observed Calcium Deficiencies in Corn under field conditions. Soil Science Society Proceeding, pp 52-54, 1953.
- 50) Metzler, D.E., Biochemistry: The Chemical Reactions of living cells, Academic Press, E.U.A., 1977, pp 1006-1007, 1129 p.
- 51) Milligam, C.W. and Lindstron, F., Colorimetric Determination of calcium using reagents of the Glyoxal Bis (2- hidroxyánil) calss. Anal. Chem., 44: (11): 1822-1829, 1972.
- 52) Milton, R.F., Waters, W.A., Methods of Quantitative Micro Analysis, Ed. Edward Arnold, London, 2^a Ed., 1955, pp 307, 742 p.
- 53) Moss, M.L. & Mellon, M.G., Colorimetric Determination of iron with Salicylaloxime. Ind. and Eng. Chem., Analytical, 13: 612-614, 1941.
- 54) Nightingale, E.R., Rapid Spectrophotometric Determination of Manganese. Anal. Chem., 31: 146-148, 1959.
- 55) Orozco, D.F., Análisis Químico Cuantitativo, Ed. Porrúa, México, 10^a Ed., 1981, pp 101-107, 308-315, 323-324, 362-364, 448 p.
- 56) Peterson, R.E., Improved Spectrophotometric Procedure for Determination of Serum Iron. Anal. Chem. 25: 1337-1339, 1953.

- 57) Pinta, M., Spectromètre D' absorption atomique, Tome I, Ed. Masson Et cie, Parfs. 1971, 285 p.
- 58) Platte, J.A. & Marcy, V.M., Photometric Determination of zinc with Zincon. Anal. Chem., 31: 1226-1228, 1959.
- 59) Potter, G.V. and Armstrong, C.E., Spectrophotometric Determination of iron and titanium in cathode nickel. Anal. Chem., 20: 1208-1209, 1948.
- 60) Ramakrishna, T.V., West, P.W., Robinson, J.W., The determination of calcium and magnesium in acetylene flames. Anal. Chim. Acta, 40: 347-350, 1968.
- 61) Raven, P.H. & Curtis, H., Biologia Vegetal, Ed. Omega, España, 1975, pp 162-179, p.
- 62) Roca, J. y Ordanza, R., Estudio sobre la actividad enzimática en el proceso de germinación V. Anales del Instituto de Biología de México, XXIV (1): 15-21, 1953.
- 63) Roos, J.T.H., Price, W.J. Spectrochim, Acta 26 B: 279-284, 1971.
- 64) Routchenko & Seyer, Sur les causes de la germination sur plantes des grains immatures de mais. Résultats préliminaires. Ann. Agron., 22 (2): 241-255, 1971.
- 65) Routchenko & Soyer, Causes de la germination sur plaint de grains immature de mais. Ann. Agron., 23 (4): 445-459, 1972.
- 66) Rowe, C.J., Food Analysis by Atomic Absorption Spectroscopy, Varian Techtron PTY, LTD, Australia, 1973,

pp 7-10, 12-15, 48 p.

- 67) Sastri, V.S., Chakrabarti, C.L., Willis, D.E., Some aspects of "chemical" interferences in atomic absorption spectroscopy. *Talanta*, 16: 1093-1098, 1969.
- 68) Scroggie, L.E. and Dean, J.A., Extraction of zinc with tri (iso- octyl) amine in methyl isobutyl ketone and colorimetric determination with zincon in the organic phase. *Anal. Chim. Acta*, 21: 282-288, 1959.
- 69) Sherman, G.W., A photometric Method for the Determination of Magnesium. *Ind. and Eng. Chem., Analytical*, 13: 499-501, 1041.
- 70) Short, F.R., Eyster, H.C., Spectrophotometric Determination of parts- per- billion Iron in high- temperature in hydrocarbon Jet Fuels. *Anal. Chem.* 39: 251-253, 1967.
- 71) Shripad, M., Khopkar and Anil, K.D., Rapid extraction of iron (III) with 2- thenoyl trifluoroacetona. *Anal. Chim. Acta*, 22: 223-228, 1960.
- 72) Sideris, C.P., Colorimetric Microdetermination of manganese. *Ind. and Eng. Chem. Analytical*, 9: 445-446, 1937.
- 73) Sideris, C.P., Improvements of Formaldoxime colorimetric Method for Manganese. *Ind. and Eng. Chem., Analytical*, 12: 307, 1970.
- 74) Sideris, C. P., Colorimetric Microdetermination of Magnesium. *Ind. and Eng. Chem., Analytical* 12: 232-233, 1940.

- 75) Sideris, C.P., Colorimetric Microdetermination of iron. Ind. and Eng. Chem., Analytica, 14: 756-758, 1942.
- 76) Sideris, C.P. & Young, H.Y., Improvements in the determination of Iron by the mitroso R salts Method. Ind. and Eng. Chem., Analytical, 16: 276, 1944.
- 77) Stephens, A.G., Felkel, H.G., Spectrophotometric Determination of copper and iron subsequent to the simultaneous extractions of bis (2,9-dimethyl- 1,10-fenantroline) copper I and bis (2,4,6- tri (2-pyridyl)- 1,3,5- triazine) iron II into propylene carbonato. Anal. Chem., 46: 692-696, 1974.
- 78) Studlar, K. and Janousek, I., The Photometric Determination of zinc with Xilenol orange. Talanta, 8: 203-208, 1961.
- 79) Testa, C., Liquid- Liquid Extraction fo iron (III) with 2- thenoyltrifluoroacetona form a nitrate system, and direct colorimetric determination in the organic phase. Anal. Chim. Acta, 25: 525-532, 1961.
- 80) Townshend, A. & Vaughan, A., Applications of enzyme-catalysed reactions in trace analysis. Talanta, 17: 289-298, 1970.
- 81) Tyner, E.H., Determining small amounts of calcium in plant materials. Anal. Chem., 20: 76, 1948.
- 82) Valle, B.L., Determination of zinc by dithizone in a monophas waterer- glycol system. Anal. Chem., 26: 914-917, 1954.
- 83) Van Loon, J.C., Parisis, C.M. Analyst, 94: 1057-1062, 1969.

- 84) Varian Techtron; Analytical Methods for Flame Spectroscopy.
- 85) Vogel's, Textbook of Quantitative inorganic analysis, Ed. Longman, Londres, 4^a Ed., 1978, 925 p.
- 86) Walter, A. y Hueslen, Sweet Corn, Ed. Interscience, U.S.A., 1954, pp 151-185, 211-227, 354 p.
- 87) Wesemael, J.C., The Determination of magnesium with Titan yellow. Anal. Chim. Acta, 25: 238-247, 1961.
- 88) Joe, J.H., Armstrong, A.R., Colorimetric determination of titanium with disodium- 1,2- dihidroxybenzene- 3,5- disulfonate, Anal. Chem., 19: 100-102, 1947.
- 36) Kent, N.L., Tecnología de los Cereales., Ed. Acribia., España, 1971, pp 39-40., 267 p.