

23  
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**COMPARACION DE LA  
GERMINACION DE LINEAS  
DE MAIZ BAJO DIFERENTES  
CONDICIONES DE  
ALMACENAMIENTO**

**Tesis Profesional**

Que para Obtener el Título de:

**Biólogo**

**PRESENTA**

**José Alberto Camas Reyes**

México, D. F.,

Noviembre de 1982



## **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.

COMPARACION DE LA GERMINACION DE LINEAS DE MAIZ  
BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

I N D I C E

	Pag.
I.- RESUMEN	1
II.- INTRODUCCION	2
III.- ANTECEDENTES	4
Calidad o Vigor	4
Parámetros de Evaluación de Vigor	6
Empleo de Parámetros de Vigor en Maiz	14
IV.- OBJETIVO	16
V.- MATERIALES Y METODOS	17
Líneas Utilizadas	17
Condiciones de Almacenamiento	17
Parámetros de Vigor	19
Diseño Estadístico	20
Almacenamiento de las Semillas	21
Valor de Germinación	24
VI.- RESULTADOS	26
Almacenamiento en Condiciones Adversas	
Curvas de Supervivencia	26
Valor de Germinación	30
Longitud de Coleoptilo	34
Longitud de Radícula	38
Conductividad Eléctrica	42
Contenido de Humedad	46
Almacenamiento en Condiciones Normales	47
VII.- DISCUSION Y CONCLUSIONES	49
VIII.- LITERATURA CITADA	58
IX.- APENDICE	61

## I.- RESUMEN

El presente trabajo de tesis se ubica dentro de la problemática de pérdidas cualitativas y cuantitativas postcosecha de granos y semillas; los granos y semillas pierden su calidad y poder germinativo por factores diversos físicos y bióticos, externos e internos al metabolismo de las semillas, incrementándose estas pérdidas por las malas condiciones ambientales durante su almacenamiento, sobretodo en las zonas tropicales donde la temperatura y humedad ambientales favorecen el deterioro de las semillas. Durante esta investigación se comparó la calidad de las líneas de maíz B-4 y B12, bajo condiciones adversas y normales de temperatura y humedad, siendo estas de 40 °C y 75 % de humedad relativa y 25 °C y 75 % de humedad relativa, respectivamente. El objetivo fue el de investigar algunos parámetros de calidad o vigor para lograr identificar o diferenciar genotipos resistentes o susceptibles a la pérdida de viabilidad y vigor. Los parámetros comparados fueron viabilidad, valor de germinación, tasas de crecimiento y de conductividad eléctrica entre ambas líneas. La prueba de conductividad eléctrica se manifestó como una prueba promisoría para diferenciar entre genotipos resistentes y susceptibles a la pérdida de su calidad bajo las condiciones de almacenamiento mantenidas en este experimento. Las condiciones de almacenamiento adversas y normales señaladas arriba, afectaron de manera similar la viabilidad y las tasas de crecimiento de ambas líneas y, se sugiere para lograr diferenciar las más claramente, efectuar pruebas de vigor en condiciones menos drásticas de almacenamiento que las empleadas aquí, así como investigar otros indicadores de vigor.

## II.- INTRODUCCION

Uno de los problemas más importantes en el área de la alimentación y la agricultura es el mantenimiento de la calidad de los granos y semillas durante su almacenamiento.

En 1974, la Dirección General de Economía Agrícola de la Secretaría de Agricultura y Ganadería, en colaboración con Almacenes Nacionales de Depósito S. A. (ANDSA) y el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), realizaron un encuesta para estimar las mermas de la cosecha de maíz, encontrando que las pérdidas por prácticas deficientes de almacenamiento eran del 30 % para el sector rural, representando para ese año poco más de un millón de toneladas, equivalentes a la producción de esta especie en el ciclo de invierno y al volumen de maíz importado entonces. En 1983 el Programa Nacional de Alimentación señaló que en México por deficiencias en la infraestructura y en los servicios para la recepción, acondicionamiento, almacenamiento, transporte, distribución y comercialización de los granos, se generan mermas del orden del 10 % de las cosechas; de este modo, en un volumen de 12 millones de toneladas de maíz se perderían más de 34 mil millones de pesos en un solo cultivo (Moreno, 1984).

Las causas de las pérdidas cualitativas y cuantitativas de las cosechas en los almacenes son originadas por factores físicos como la humedad y la temperatura que a niveles altos aceleran el deterioro fisiológico de los granos y semillas, y

por factores bióticos como los insectos y hongos además de pájaros y roedores.

Las pérdidas en los almacenes aunadas a las pérdidas sufridas durante la cosecha y el transporte hacen el problema todavía más crítico. Para colaborar en la solución del mismo es necesario capacitar personal que proporcione asistencia técnica y que genere conocimiento a través de investigación básica y tecnológica, lo cual seguramente repercutirá en una mejor calidad y en una mayor disponibilidad de alimentos.

La pérdida de viabilidad de las semillas es un problema de gran importancia en las regiones tropicales y subtropicales; ya que bajo esas condiciones climáticas los procesos deteriorativos de las semillas se ven favorecidos por la alta humedad y la alta temperatura. Además bajo tales condiciones ambientales el desarrollo de hongos e insectos agravan el problema de la conservación de las semillas y los granos.

Una de las alternativas para prevenir o aminorar la pérdida de viabilidad de las semillas es la de formar variedades más resistentes a condiciones adversas de almacenamiento, humedad, temperatura y hongos. Ante esta alternativa, el presente trabajo se enfocó a obtener información sobre ciertos parámetros de calidad de una línea resistente, B-4, y una susceptible, B-12, a perder la viabilidad, con el fin de encontrar la manera de diferenciarlas; lo cual sería de gran utilidad en

los programas de mejoramiento tendientes a incorporar genotipos mas tolerantes a las condiciones adversas de almacenamiento.

### III.- ANTECEDENTES

#### Calidad o Vigor

Históricamente, Heydecker (1972) señala que Hiltner en 1911 fué el primero que usó el término vigor, "triebkraft", designando así a la capacidad de germinación de semillas de cereales infectadas con el hongo *Fusarium*, pero cuyas plántulas eran incapaces de penetrar una capa delgada de 30-40 mm de polvo de ladrillo bajo condiciones específicas de humedad y temperatura. El concepto de "triebkraft" fué posteriormente utilizado para denotar aquellas semillas que además de germinar podían llevar a cabo su crecimiento satisfactoriamente. El término de "triebkraft" fué traducido al francés y al inglés como "vigueur" y "vigour", respectivamente.

La primera connotación del término vigor en francés y en inglés fué la de vigor de plántula: capacidad de una plántula para crecer normal y rápidamente (Heydecker, 1972).

Actualmente se considera al vigor como la propiedad que permite un funcionamiento satisfactorio en las semillas; su antítesis es referida frecuentemente como "debilidad" y en estos

dos términos ha sido ampliamente utilizado.

El término calidad de una semilla ha sido utilizado como sinónimo de vigor; la calidad de una semilla puede ser afectada por factores diversos que conducen a diferencias de vigor entre variedades y lotes distintos (Maguire, 1980).

A pesar de que existen pruebas de vigor y que este concepto ha sido revisado por muchos investigadores, aún hay desacuerdos en su significado y se han publicado muchas definiciones (Heydecker, 1972). Maguire (1980) incluye la definición de vigor de un lote como "aquellas condiciones de la semilla que permiten su germinación rápida y uniforme con una producción uniforme de plántulas". Por tanto las semillas vigorosas son "aquellas libres de enfermedades, que germinan pronto en el tiempo requerido según la especie y establecen plántulas que son capaces de emerger del suelo bajo condiciones ambientales favorables y desfavorables para su desarrollo".

El vigor o calidad es susceptible de ser afectado desde el cultivo y la cosecha, el manejo posterior de las semillas y por factores extrínsecos e intrínsecos al metabolismo de las mismas (Moreno, 1979). Cuando las semillas llegan a la madurez fisiológica, presentan su máxima calidad, la cual se va perdiendo en función del tiempo en que permanecen almacenadas, transformándose en un proceso irreversible (Heydecker, 1972), e inherente al genotipo de las semillas, siendo acelerado por

la humedad y la temperatura del almacén y por factores fisiológicos, bioquímicos y genéticos (Roberts y Ellis, 1982). La tasa de deterioro de las semillas está básicamente determinada por factores genéticos, por su manejo y por el ambiente en que se mantienen antes y durante el almacenamiento; estos factores influyen en las diferencias entre lotes de semillas y aún de semillas individuales dentro del mismo lote y la pérdida de germinación es una indicación clara de la pérdida de vigor pero también significa la muerte de la semilla. Muchos cambios importantes de deterioro se llevan a cabo antes de que las semillas pierdan su capacidad para germinar. Entre estos cambios comúnmente se reportan el decaimiento en el metabolismo respiratorio, pérdida de integridad en las membranas, el aumento en la permeabilidad de las mismas y la reducción de la síntesis de proteínas y carbohidratos en el proceso de germinación (Abdul-Baki y Anderson, 1973).

#### Parámetros de Evaluación de Vigor

Entre los diferentes métodos propuestos para evaluar la calidad de las semillas se han llevado a cabo pruebas en frío, conductividad eléctrica de lixiviación de metabolitos, tinción con cloruro de trifeníl tetrazolium combinado con tasas de crecimiento, envejecimiento acelerado y evaluación de la plántula,

prueba de GADA, determinación de consumo de oxígeno y porcentajes de emergencia de las plántulas. Varios de ellos han dado buenos resultados en maíz, soya, cacahuete, chícharo, algodón y lechuga (Maguire, 1980). Bajo los siguientes subtítulos se describen algunos de ellos:

#### Viabilidad

Se asume frecuentemente que el porcentaje de germinación de lotes de semillas en el laboratorio, refleja el establecimiento en el campo y que existe correlación entre la condición del lote y su porcentaje de germinación (Heydecker, 1972). Sin embargo, a menudo los lotes tienen germinación similar sin ser de la misma calidad, por lo que es necesario manejar los datos de germinación para obtener la tasa con que germinan y así tener un parámetro adicional para diferenciar entre calidades de lotes.

El ensayo más común para obtener viabilidad, es la exposición de las semillas a condiciones óptimas de humedad y temperatura en el laboratorio (Mackay, 1972).

#### Envejecimiento Acelerado

Este almacenamiento es un tratamiento que envejece rápidamente

a las semillas, permitiendo reflejar el vigor de almacenamiento de los lotes, es decir, su capacidad para sobrevivir cuando son almacenados bajo condiciones drásticas de humedad y temperatura durante cierto tiempo. En pocas semanas o días en condiciones de adversas de almacenamiento en altas humedades y altas temperaturas, se logran altos índices de deterioro de las semillas (Heydecker, 1972).

El envejecimiento acelerado asume básicamente que el proceso en el cual se deterioran las semillas es similar al que ocurre en condiciones normales, únicamente que la tasa de deterioro se incrementa en forma considerable. Este método incluye la exposición de pequeñas muestras de semillas a condiciones adversas de almacenamiento en alta temperatura y alta humedad relativa por un período de tiempo específico; después del tratamiento de envejecimiento acelerado, el porcentaje de semillas que sobreviven de los diferentes lotes es determinado por un ensayo de germinación estándar. Se pueden utilizar temperaturas de 40 a 45 °C con períodos de exposición de 2 a 8 días. En algunos casos, regímenes menos severos de 30 °C y 75 % de humedad relativa, con períodos de 6 a 24 semanas dan mejores resultados para evaluar el deterioro de los lotes. El envejecimiento acelerado es realizado en una cámara en la cual deben mantenerse las condiciones ambientales deseadas, por lo que la temperatura y la humedad relativa deben permanecer constantes y

todas las semillas deben estar igualmente accesibles a las condiciones ambientales impuestas (Delouche y Baskin, 1973).

### Velocidad de Germinación

Haciendo excepción de las semillas de especies silvestres y cultivadas que presentan latencia, las semillas de un lote no latente que germinan rápidamente son consideradas como semillas vigorosas. En el almacenamiento, un lote de semillas puede perder su velocidad de germinación conforme transcurre el tiempo que es almacenado, representando este proceso, una pérdida de vigor en las semillas. De hecho, al comparar la germinación de un lote a tiempos distintos de almacenamiento en las mismas condiciones de humedad relativa y temperatura, un retraso en la velocidad de germinación expresará el deterioro de ese lote.

El conocimiento de la velocidad de germinación también puede servir para diferenciar la calidad de lotes de semillas distintos que presentan el mismo porcentaje de germinación. Es por eso necesario utilizar como parámetro de vigor, un índice que sirva para comparar la velocidad de un lote, así como de distintos lotes entre sí a diferentes tiempos de almacenamiento.

### Tasa de Crecimiento

La tasa de crecimiento de las plántulas es un parámetro indicador de la calidad de la semilla, el cual, incluso bajo condiciones óptimas de germinación puede revelar diferencias en vigor no detectadas por los registros de porcentaje de germinación. Para determinar la tasa de crecimiento, una de las formas es medir el incremento en longitud del eje principal de la plántula, aunque este método no toma en cuenta el crecimiento en grosor, el cual no es siempre proporcional al crecimiento en longitud. Otro de los métodos es medir la tasa a la cual las plantas incrementan en peso seco y, el uso de cualesquiera de ellos puede indicar el vigor de un lote (Woodstock, 1969).

Al realizar la medición del crecimiento de las plántulas se debe evaluar también el desarrollo normal de ellas juzgándolo por el exámen de su sistema radicular y aéreo (Mackay, 1972; Moreno, 1984).

### Conductividad Eléctrica

La membrana plasmática además de servir de protección a la célula, entre otras funciones proporciona mecanismos bioquímicos funcionales que regulan los solutos y iones que son transportados hacia el interior y hacia el exterior de la misma, y

cuando se deteriora deja escapar solutos hacia el exterior de la célula entre otras manifestaciones de deterioro. La medición de la conductividad eléctrica de los solutos escapados de la membrana, proporciona una base para evaluar la calidad de la semilla. Para realizar el registro, las semillas se agitan en una cantidad determinada de agua durante cierto tiempo; al término de este, el agua de lavado se agita y decanta para después medir su conductividad eléctrica. Entre mayor sea la cantidad de electrolitos disueltos en la lixiviación de la semilla, más débiles serán las membranas y, por tanto, mayor será la conductividad del agua. La medición es rápida y fácil de realizar y existen evidencias de que el escape de metabolitos es representativo, de manera general, de la calidad de la membrana (Heydecker, 1972).

Maguire en 1980 sintetiza resultados obtenidos con distintos indicadores de vigor utilizados para evaluar lotes de semillas, mencionando los autores y el año en que se publicaron:

-Actividad Respiratoria-

Woodstock y Feeley (1965) usaron el crecimiento temprano de plántulas de maíz y tasas de respiración inicial como indicadores potenciales de vigor.

Maguire, en 1968, reporta diferencias respiratorias entre variedades distintas de pasto azul kentucky y lotes de semillas pertenecientes a la misma variedad con respecto a la velocidad de germinación y tasas de crecimiento de las plántulas. En el mismo año MacDaniel y Sarkissian, presentaron evidencias de la asociación de la respiración mitocondrial con el vigor de las plántulas en maíz. Posteriormente Ching y Kronstad, que en 1972 evaluaron diferencias en potencial de crecimiento, nivel de energía de adenilato y carga energética en trigo, encontraron que el nivel de energía y carga energética fueron superiores en las plántulas más vigorosas, reflejando mayor eficiencia fosforilativa y fotosintética.

#### -Carbohidratos-

En cuanto a la utilización de los carbohidratos como indicadores de vigor, Takayanagi y Murakami en 1969, usaron papel para análisis de orina en exudados de semillas sumergidas, detectando azúcar en el agua. Anderson y Abdul-Baki en 1969, por su parte, encontraron que el escape de carbohidratos en trigo y cebada fueron indicativos de la reducción de la viabilidad que ocurre por el daño mecánico.

### -Conductividad Eléctrica-

Maguire et al. (1973) utilizaron la conductividad eléctrica para evaluar semillas de chícharo y encontraron que las semillas de color pálido tuvieron menor germinación que las de color verde y se deterioraron rápidamente durante el almacenamiento. Trabajando con este mismo indicador, Mathews y Bradnock (1967), detectaron chícharos de bajo valor para ser cultivados. Helmer et al. (1962) diferenciaron entre lotes de alto y bajo vigor de trébol Crimsom. Las mediciones de conductividad eléctrica realizadas en el agua de lixiviación de semillas, indicaron el vigor de estas. Al identificar el tipo de sustancias e-luídas encontraron que la semilla de baja calidad presentaba mayor pérdida de aminoácidos, azúcares y otros electrolitos. Edje y Burris (1970), utilizando varios criterios para evaluar el vigor de soya, correlacionaron la pérdida de viabilidad debida a envejecimiento con la reducción de longitudes de plántula, el aumento en permeabilidad de membranas (medida por conductividad eléctrica) y la susceptibilidad al ataque de microorganismos. Finalmente, Abdul-Baki y Anderson (1973) también usaron pruebas múltiples para determinar vigor de soya; entre ellos investigaron la respiración, la incorporación de isótopos de azúcares y aminoácidos y la integridad de membranas celulares en los embriones de las semillas.

y por la evaluación de las tasas de crecimiento a los 7 días de edad por el método de peso seco. Gelmond, en 1976, investiga sobre la tasa de respiración, conductividad eléctrica y actividad de azúcares reductores de lixiviados de semillas; mide la actividad de la enzima descarboxilasa del ácido glutámico (GADA) y evalúa germinación bajo condiciones adversas de almacenamiento en maíz. Al realizar estas pruebas encuentra que to dos los parámetros medidos en laboratorio se correlacionaron con la calidad de la semilla en condiciones de campo, tomando en cuenta 17 días después de la siembra. Lozano et al. (1985) utilizaron 30 °C y 75 % de humedad relativa para comparar el vi gor de dos líneas de maíz, realizando pruebas de conductividad eléctrica, consumo de oxígeno y valor de germinación (V. G.) como índices de vigor. A los siete días de almacenamiento encontraron diferencias notables en ambas líneas por medio de los diferentes parámetros usados, las cuales habían tenido viabili dad similar al inicio del almacenamiento.

Por otra parte, se obtuvieron notables diferencias en vigor entre líneas y variedades en cuanto al daño producido por hongos de almacén (Moreno y Christensen, 1971) y por condiciones adversas de temperatura y humedad favorables al ataque por hongos (Moreno et al., 1978). Estas diferencias se manifestaron en lotes de semillas resistentes, intermedios y susceptibles a perder su viabilidad, evidenciando la variabilidad existente

entre diferentes maíces en cuanto a su capacidad de mantener viabilidad en el almacenamiento.

#### IV.- OBJETIVO

En el presente trabajo de tesis se investigaron diferentes parámetros de vigor para lograr por medio de ellos identificar o diferenciar genotipos de semillas resistentes o susceptibles a la pérdida de su calidad durante el almacenamiento.

### Líneas de Maíz Utilizadas

Las líneas usadas fueron proporcionadas por el laboratorio de Fitopatología del Depto. de Botánica del Instituto de Biología de la UNAM. Fueron sembradas en el mismo ciclo de cultivo y en las mismas condiciones de suelo y ambiente en los campos experimentales de la Productora Nacional de Semillas (PRONASE) en Tepalcingo, Edo. de Morelos. Se cosecharon en Abril de 1982 y fueron mantenidas en las mismas condiciones ambientales de almacenamiento. Ambas líneas se usan para la producción de híbridos de alturas medias, Bajío y regiones similares; la línea B-4 y la línea B-12 se clasificaron como resistente y susceptible a la pérdida de su viabilidad, respectivamente, en condiciones adversas de almacenamiento con alta humedad relativa y en presencia de hongos de almacén por períodos de 60 días, en una investigación previa realizada por Moreno et al. en 1978.

Al recibirse para el presente trabajo, la línea B-4 exhibió 87 % de germinación y la línea B-12, mostró el 65 %.

### Condiciones de Almacenamiento

Las condiciones de almacenamiento experimentadas para ambas líneas fueron :

- a) Almacenamiento en condiciones adversas de temperatura y humedad, 40 °C y 75 % de humedad relativa, respectivamente.
- b) Almacenamiento en condiciones normales, no severas, con 25 °C y 75 % de humedad relativa.

Almacenamiento en condiciones adversas, 40 °C y 75 % de humedad relativa.- Ambas líneas fueron sometidas a estas condiciones de almacenamiento cuya temperatura es muy alta y por tanto, favorece el deterioro de las semillas; se utilizó una humedad relativa de 75 %, la cual es baja, pero favorable al deterioro de las semillas combinada con 40 °C de temperatura, confiriendo así a las semillas un condición adversa de almacenamiento ocasionándoles una disminución de su viabilidad en un período de unos cuantos días.

Almacenamiento en condiciones normales de 25 °C y 75 % de humedad relativa.- Este período en condiciones "normales", fué utilizado como una estimación de referencia con el cual contrastar los resultados del almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C y comparar los resultados de éste con la capacidad de almacenamiento de las semillas durante períodos mas largos. Usando una temperatura de 25 °C no hay disminución inmediata de viabilidad y combinada con 75 % de humedad relativa no

resulta favorable para el deterioro rápido de las semillas, siendo lenta la pérdida de viabilidad en estas condiciones, y por lo mismo, los ensayos de vigor podrían prolongarse por un período mínimo de 5 meses.

En ambas condiciones, adversas y normales, la humedad relativa utilizada confiere un contenido de humedad a las semillas de alrededor del 14 al 15 %. Este fué determinado durante el almacenamiento por el método de secado en estufa, 103 °C/72 hrs (Moreno, 1984).

#### Parámetros de Vigor

Los parámetros de vigor evaluados para los distintos períodos de almacenamiento en condiciones normales de 25 °C y adversas de 40 °C de temperatura fueron :

- 1.- Evaluación de Viabilidad.
- 2.- Valor de Germinación.
- 3.- Tasas de Crecimiento.
- 4.- Conductividad Eléctrica.

- 1.- Con el registro de viabilidad se obtuvieron las curvas de sobrevivencia, señaladas como porcentaje de germinación contra el tiempo de almacenamiento en los resultados.
- 2.- Los datos de viabilidad se manejaron para obtener las tasas de germinación en cada período de almacenamiento, que a su vez, sirvieron para elaborar el índice de valor de germinación.
- 3.- La evaluación de las plántulas sirvió para estimar las tasas de crecimiento de los coleoptilos y las radículas durante el almacenamiento.
- 4.- Por medio de los registros de conductividad eléctrica se obtuvo el incremento en escape de metabolitos de las semillas durante el tiempo de almacenamiento.

#### Diseño Estadístico

Se repitieron de manera independiente tres veces las condiciones de almacenamiento, tomando por tanto, tres muestras por cada período de almacén de 0 a 120 hrs para evaluar los diferentes parámetros de vigor mencionados anteriormente.

Los resultados se analizaron aplicando un modelo estadístico de regresión a los datos experimentales para verificar la dependencia de cada parámetro evaluado con respecto al tiempo de almacenamiento. Este modelo se evaluó por medio de un análi

sis de varianza (ANOVA) para obtener el nivel de significancia con el cual los datos experimentales son explicados por el modelo teórico obtenido (Sokal y Rohlf, 1973; Little y Jackson, 1979).

#### Almacenamiento de las Semillas

El procedimiento que se describe a continuación fué el mismo para los lotes que se almacenaron a 40 y 25 °C con 75 % de humedad relativa de ambas líneas.

Para eliminar microorganismos presentes en la superficie de las semillas, se lavaron y desinfectaron en un filtro Millipore, dándoles un baño de agua inicial para disminuir tensión superficial. La desinfección se realizó con una solución de hipoclorito de calcio  $\text{Ca}(\text{OCl})_2$  al 5 % dos veces de tres minutos cada una, con un enjuague intermedio y final de ácido clorhídrico ( $\text{HCl}$ ) 0.01 N estéril, para eliminar huellas de hipoclorito sobre las semillas. Finalmente se enjuagaron 6 veces con agua destilada estéril (Abdul-Baki, 1974).

Las semillas desinfectadas se colocaron dentro de cámaras de humedad con solución salina saturada previamente esterilizada, F (Fig. 1); la solución saturada se preparó con cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ) en exceso, para formar una atmósfera de 75 % de humedad relativa (Winston y Bates, 1960). En seguida las cámaras se sellaron perfectamente, cuidando que las semillas nunca

entraran en contacto con la solución salina, y se mantuvieron en refrigeración a 5 °C para que no se deterioraran mientras alcanzaban la humedad deseada. Las semillas se removieron de vez en cuando para que todas tuvieran la misma oportunidad de estar en contacto con la humedad de la cámara y así lograr un contenido de humedad en equilibrio con la humedad relativa de 75 %. Durante el período en el cual se estableció el equilibrio de la humedad se tomaron muestras periódicamente para evaluar el contenido de humedad de las semillas y en cuanto este permaneció aproximadamente en el 15 % se hizo el primer muestreo, el cual se contó como período (tiempo) de cero horas de almacenamiento. Inmediatamente las cámaras se colocaron en incubación a 40 °C, según el tiempo de almacenamiento, y a partir de este momento se tomó en cuenta el tiempo. A intervalos de 24 hrs. se obtuvieron las muestras para los lotes que permanecieron en condiciones adversas y de cada quince días para los que estuvieron en condiciones normales. Tanto el tratamiento anterior, como la toma de muestras y la siembras de las semillas se realizaron en condiciones estériles en una campana de flujo laminar.

Las semillas de cada muestra se utilizaron en cada prueba de la manera siguiente:

Por cada repetición se usaron 20 semillas para evaluar viabilidad en cajas de Petri con 4 capas de papel filtro Whatman No. 1 humedecido de tal manera que al oprimirlo con la yema

del dedo no formara agua alrededor de las semillas. Se incubaron a 25 °C en oscuridad, agregando agua cada tercer día. El conteo se realizó cada 24 hrs hasta el término de la prueba a los 7 días. Las semillas se consideraron germinadas cuando la radícula alcanzó 3 mm de longitud.

Se usaron 20 semillas para evaluar el crecimiento de las plántulas a los 7 días de edad, por el método de "muñeca" de acuerdo a las recomendaciones de la ISTA (Moreno, 1984). La longitud se consideró desde el cuello del epicotilo hasta la punta del coleoptilo. Para la radícula se tomó en cuenta la medición, desde el nodo del eje embrionario.

En otra prueba se tomaron aproximadamente 5.0 gr de semilla, los cuales fueron puestos a elución con 5 ml de agua por cada gramo de semilla en un matraz Erlenmeyer y se mantuvieron en agitación con un agitador magnético durante 20 hrs. Al término de este tiempo se hicieron los registros de conductividad eléctrica en un Puente de Conductividad con una constante de celda igual a 1.0  $\text{cm}^{-1}$ .

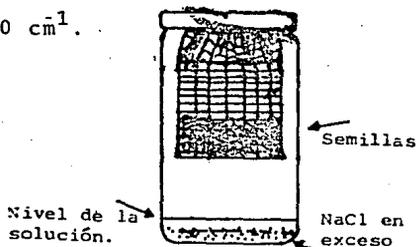


Fig. 1. Cámara de humedad con solución salina sobre saturada para equilibrio de humedad.

## Valor de Germinación

En cada período de muestreo de viabilidad, las semillas se dejaron germinar siete días tomando cada 24 hrs las lecturas de germinación hasta completar 168 hrs, tiempo en que se consideró terminada la prueba. El máximo porcentaje de germinación logrado en cada prueba sirvió para la elaboración de las curvas de sobrevivencia, pero como es obvio, este máximo porcentaje es logrado con cierta velocidad. El valor de germinación ( V. G.) propuesto por Czabator en 1962 y modificado por Lozano-R (1985), es un índice que relaciona la velocidad de germinación y la máxima germinación alcanzada por un lote de semillas. Este ha resultado ser un buen indicador de vigor para diferenciar lotes de semillas con comportamientos resistentes y susceptibles a la pérdida de su calidad en el almacenamiento (Lozano-R. et al., 1985) La manera de determinar valor de germinación se presenta en el apéndice 1.

El valor de germinación se empleó para comparar la velocidad con que germinaron las muestras en los diferentes períodos de tiempo. Para esto se determinó la velocidad a la cual germinó la muestra de tiempo cero de almacenamiento, es decir, antes de ser sometida a condiciones adversas, funcionando esta velocidad como testigo. Por ejemplo, el tiempo máximo con que germinó la línea B-4 en el período de cero hrs de almacenamiento

(136 hrs) sirvió de referencia para comparar los períodos de 24 a 120 hrs. Así el 91 % de germinación máxima determinada analíticamente para B-4 fué contrastada a las 136 hrs con el porcentaje de germinación alcanzado a las 24 hrs de almacenamiento, en seguida con el de las 48 hrs, y así sucesivamente.

Almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C y 75 % de humedad relativa.

#### Curvas de Supervivencia

Los datos de porcentaje de germinación se muestran en el cuadro No. 1 y se grafican en las Figs. 2 y 3 para ambas líneas, mostrando la ecuación que describe el comportamiento de cada una.

En las tablas 1 y 2 se presenta el análisis de varianza realizado, el cual muestra el nivel de significancia con que los datos experimentales son descritos por el modelo teórico de regresión.

Cuadro No. 1

t hrs	B-4 % G	B-12 % G
0	90	55
24	78	26
48	73	26
72	72	24
96	50	19
120	48	11

Datos experimentales de porcentaje de germinación para ambas líneas en los distintos períodos de almacenamiento en condiciones adversas.

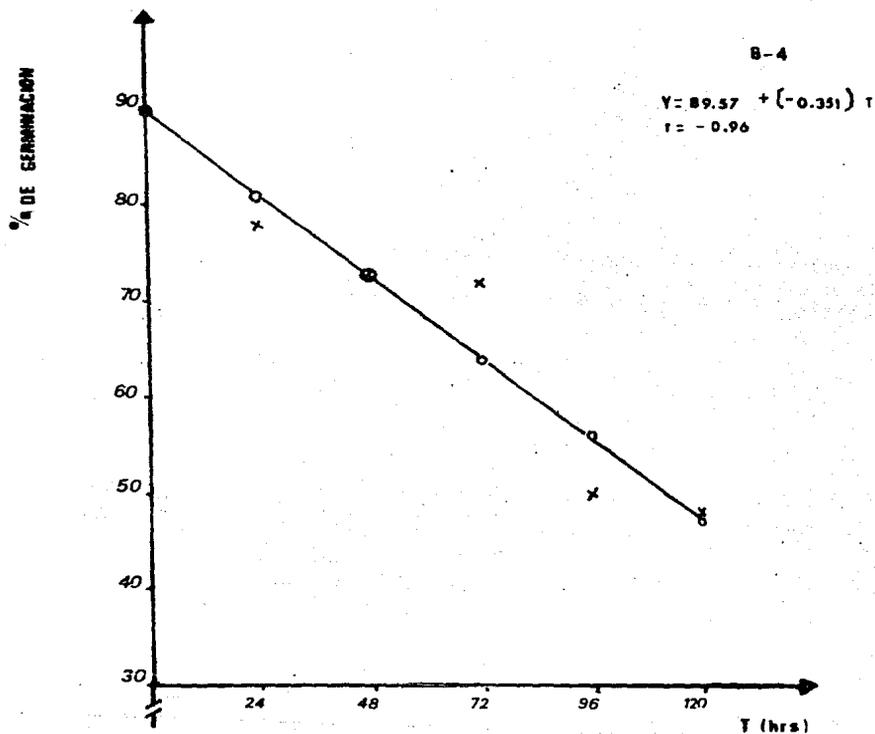


Fig. 2. Gráfica de valores de porcentaje de germinación vs tiempo de almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C y 75 % de humedad relativa. (x)=valores reales; (o-o)= curva teórica.

(+) = promedio de tres repeticiones.

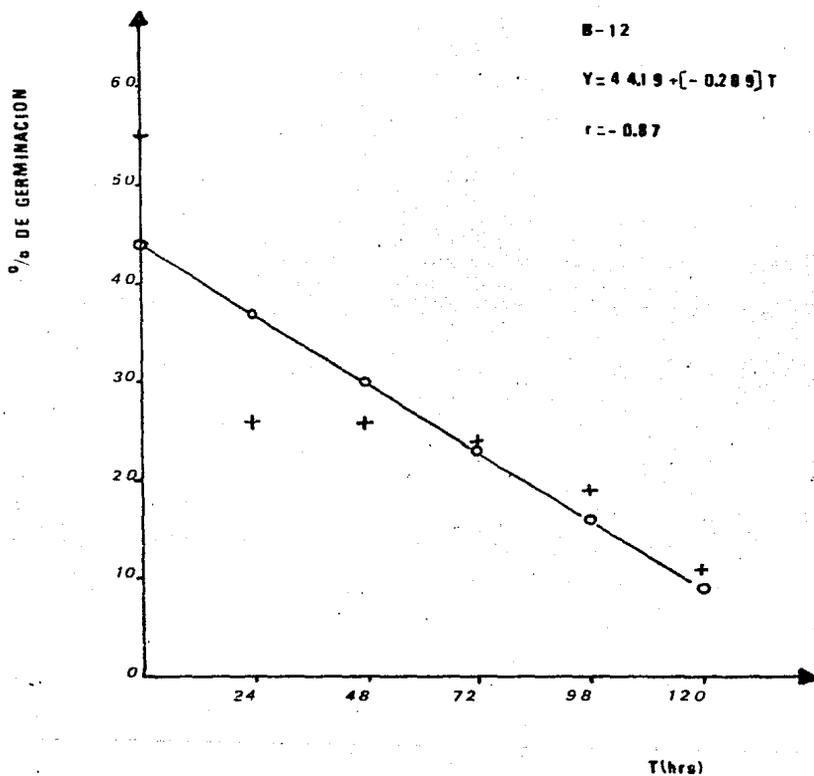


Fig. 3. Gráfica de valores de porcentaje de germinación vs tiempo de almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C y 75 % de humedad relativa. (+)=valores reales; (o-o)= curva teórica.

(+)= promedio de tres repeticiones.

## CURVAS DE SOBREVIVENCIA

TABLA 1 DE ANOVA PARA LA LINEA B-4

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 5 %
TOTAL	5	1347.49998			
REGRESION	1	1243.21429	1243.21429	47.685*	7.71
DESVIACION	4	104.285698	26.0714244		

\* significativo al 5 %.

TABLA 2 DE ANOVA PARA LA LINEA B-12

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 5 %
TOTAL	5	1114.83334			
REGRESION	1	843.557145	843.557145	12.438*	7.71
DESVIACION	4	271.27619	67.81904		

\*significativo al 5 %.

### Valor de Germinación

Los datos de valor de germinación de cada línea se presentan en el cuadro No. 2 y se grafican con respecto al tiempo de almacenamiento en las Figs. 4 y 5 con sus respectivas ecuaciones.

Las tablas 3 y 4 muestran los resultados del análisis de varianza practicado para evaluar el análisis de regresión correspondiente.

Cuadro No. 2

t hrs	B-4 V. G.	B-12 V. G.
0	0.286	0.066
24	0.159	0.014
48	0.150	0.011
72	0.112	0.003
96	0.054	0.004
120	0.085	0.002

Datos reales de los valores de germinación (V.G.) para ambas líneas en los distintos períodos de almacenamiento en condiciones adversas.

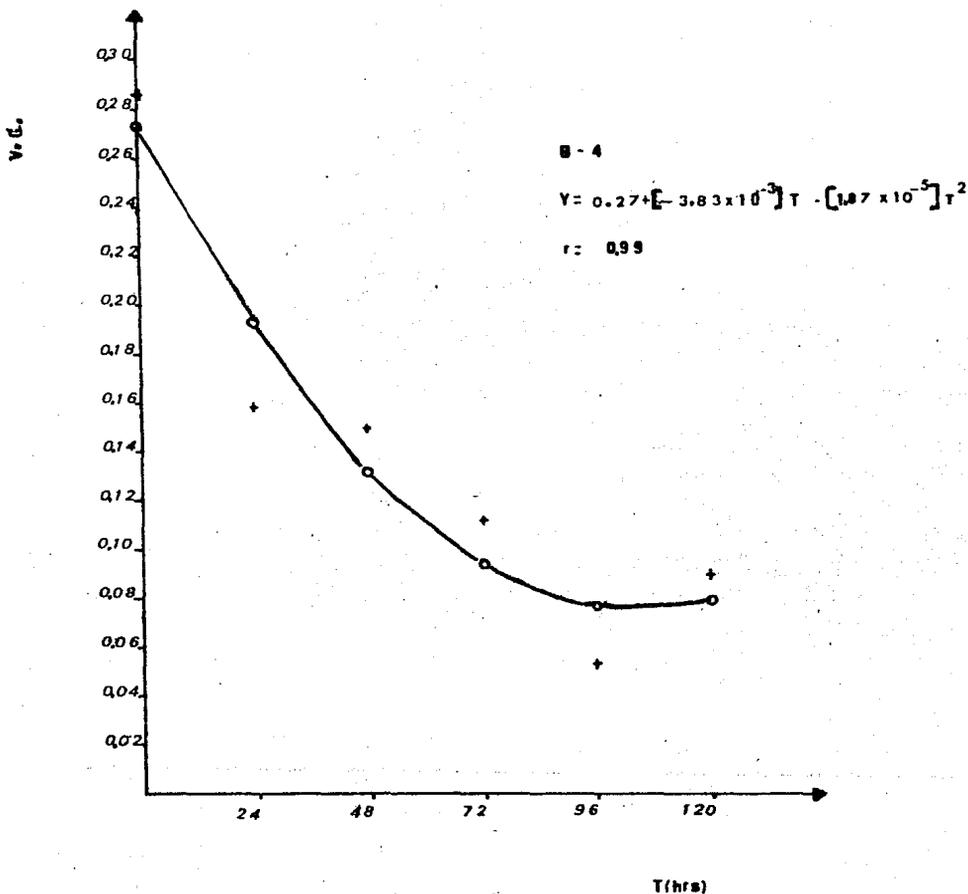


Fig. 4. Gráfica de los datos de Valor de Germinación vs tiempo de almacenamiento en 40 °C y 75 % de humedad relativa. (+)=valores reales; (o-o)= curva teórica.

(+)= promedio de tres repeticiones.

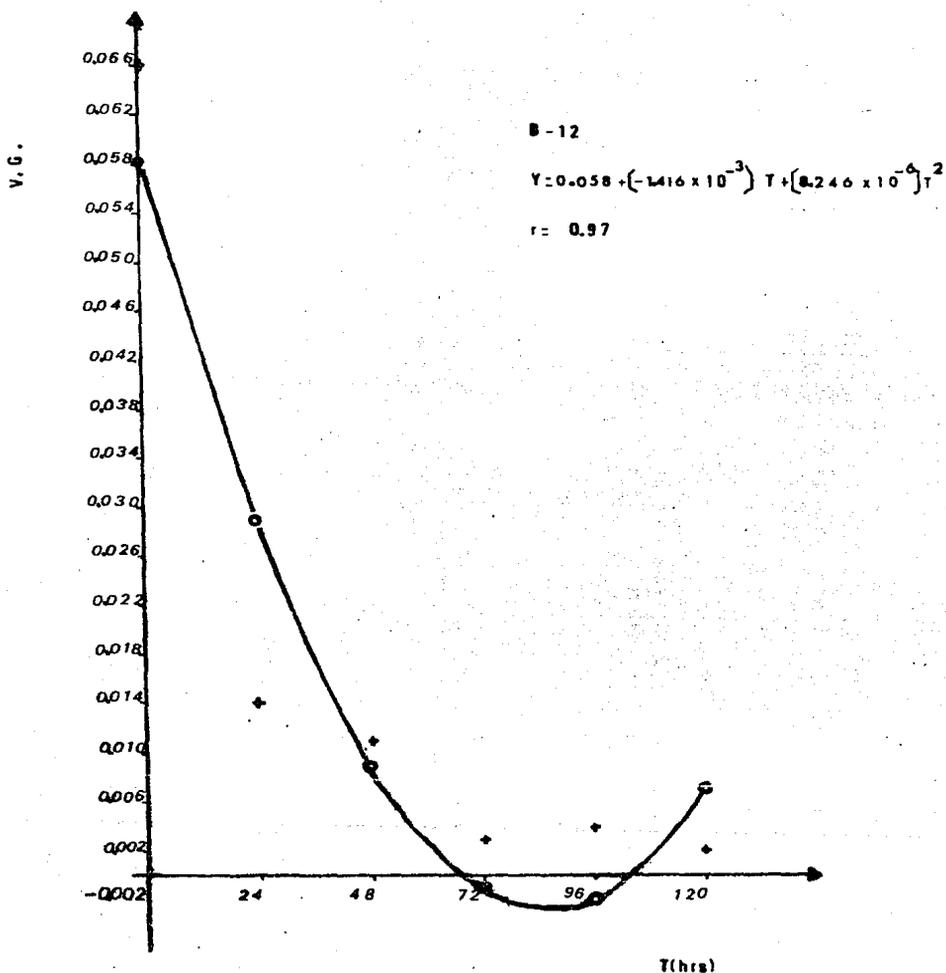


Fig. 5. Gráfica de los datos de Valor de Germinación vs tiempo de almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C y 75 % de humedad relativa. (+)=valores reales; (o)= curva teórica.

(+)= promedio de tres repeticiones.

VALOR DE GERMINACION  
 TABLA 3 DE ANOVA PARA LA LINEA B-4

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 1 %
TOTAL	5	1.6402630			
REGRESION	2	1.63783265	.81891632	1010.85*	30.82
DESVIACION	3	2.43037E-03	8.101238E-04		

\* significativo al 1 %.

TABLA 4 DE ANOVA PARA LA LINEA B-12

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 1 %
TOTAL	5	8.2310097			
REGRESION	2	8.23064769	4.1153238	34096.8*	30.82
DESVIACION	3	3.620857E04	1.20695E-04		

\* significativo al 1 %.

### Tasas de Crecimiento

Longitud del Coleoptilo.- Los valores obtenidos para la longitud del coleoptilo a los 7 días de edad de las dos líneas se presentan en el cuadro No. 3. Estos valores se graficaron en función del tiempo de almacenamiento en las Figs. 6 y 7 con sus ecuaciones correspondientes.

En las tablas 5 y 6 se presenta el análisis de varianza realizado para la regresión que describe los datos reales.

Cuadro No. 3

t hrs	B-4 Long. $\pm$ 0.5 mm	B-12 Long. $\pm$ 0.5 mm
0	162.2	118.3
24	136.6	81.0
48	114.3	68.6
72	103.2	47.4
96	95.0	50.2

Datos reales de las medidas de la longitud del coleoptilo de plántulas de 7 días de edad en los diferentes periodos de almacenamiento en condiciones adversas.

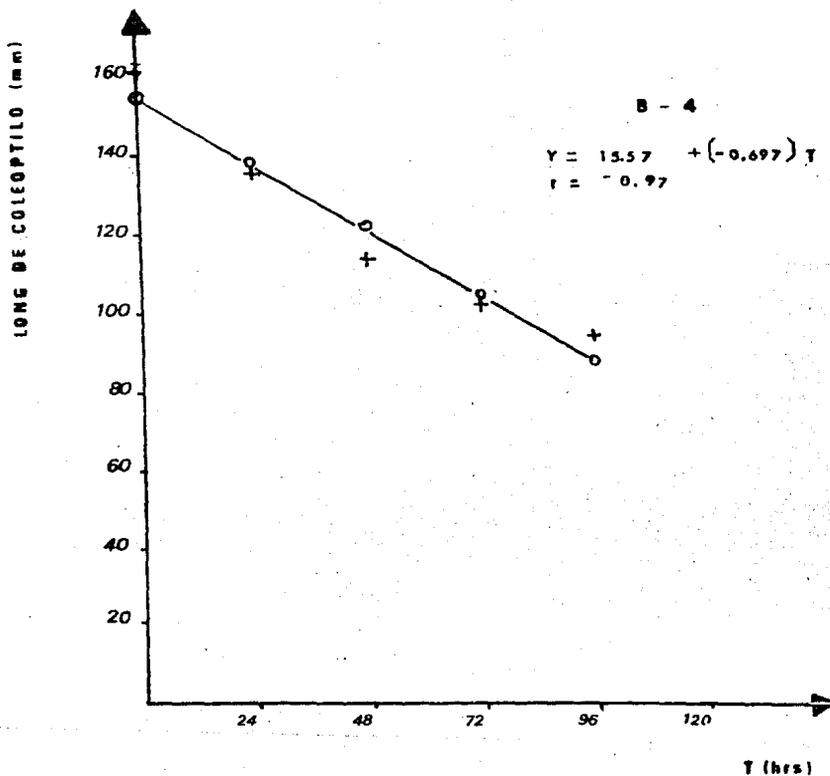


Fig. 6. Gráfica de las Longitudes del coleoptilo (mm) vs tiempo de almacenamiento en 40 °C y 75 % de humedad relativa.  
 (+) = valores reales; (o-o) = curva teórica.

(+) = promedio de tres repeticiones.

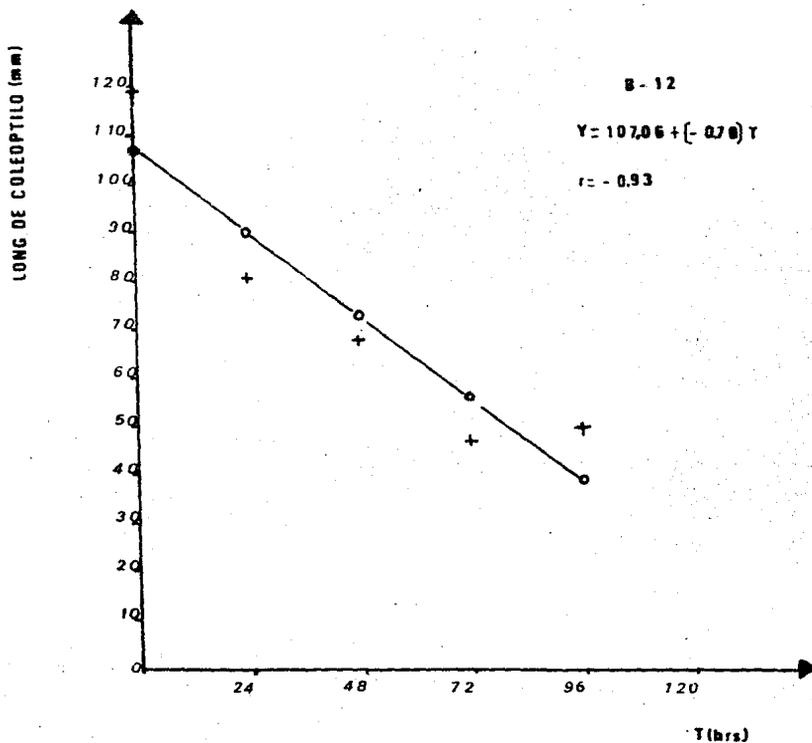


Fig. 7. Gráfica de las longitudes del coleoptilo (mm) vs tiempo de almacenamiento en 40 °c y 75 % de humedad relativa. (+)=valores reales; (o-o)= curva teórica.

(+)= promedio de tres repeticiones.

TASAS DE CRECIMIENTO  
 TABLA 5 DE ANOVA PARA LA LINEA B-4

MEDICION DEL COLEOPTILO					
Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 5 %
TOTAL	4	29.524835			
REGRESION	1	27.991077	27.99177	54.750*	10.13
DESVIACION	3	1.5337581	0.5112527		

\* significativo al 5 %.

TABLA 6 DE ANOVA PARA LA LINEA B-12

MEDICION DEL COLEOPTILO					
Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 5 %
TOTAL	4	33.090904			
REGRESION	1	28.818457	28.8184573	29.236*	10.13
DESVIACION	3	4.2724472	1.42414905		

\* significativo al 5 %.

Longitud de la Radícula.- Los valores obtenidos experimentalmente para este parámetro se muestran en el cuadro No. 4 para ambas líneas y se graficaron con respecto al tiempo de almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C en las Figs. 8 y 9.

Las tablas 9 y 10 muestran el análisis de varianza realizado para evaluar el análisis de regresión aplicado.

Cuadro No. 4

t	B-4	B-12
hrs	Long. $\pm$ 0.5 mm	Long. $\pm$ 0.5 mm
0	156.9	89.0
24	115.2	55.1
48	83.1	36.5
72	77.2	12.4

Datos reales obtenidos de las mediciones de crecimiento de la radícula de plántulas de 7 días de edad en los distintos períodos de almacenamiento de semillas en condiciones adversas.

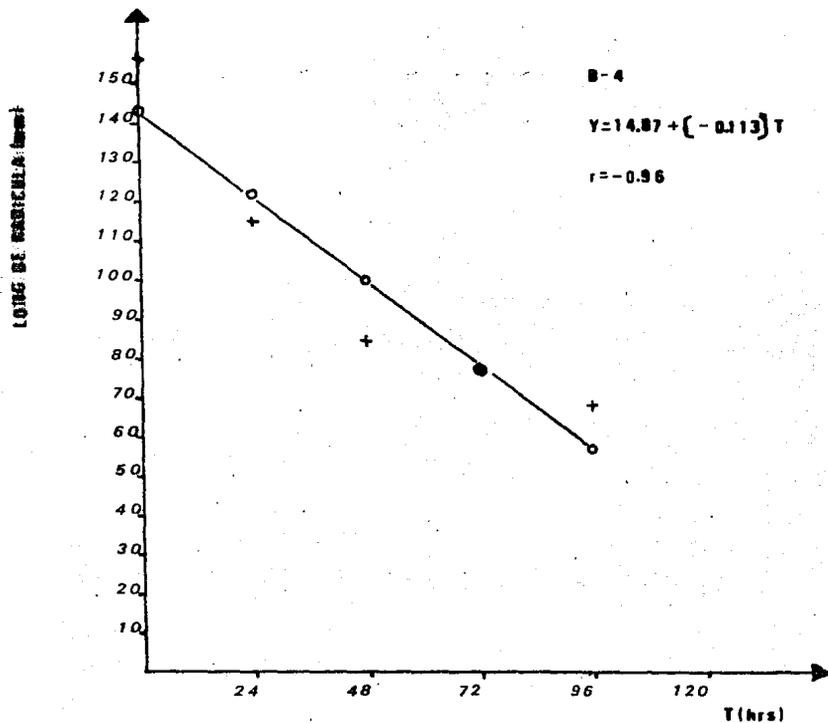


Fig. 8. Gráfica de las longitudes de la radícula (mm) vs tiempo de almacenamiento en 40 °C y 75 % de humedad relativa. (+) = valores reales; (o-o) = curva teórica.

(+) = promedio de tres repeticiones.

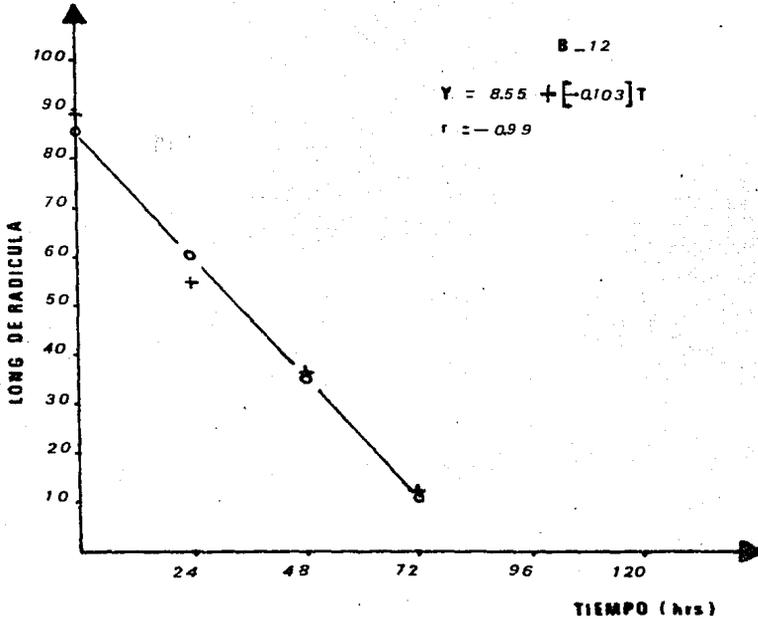


Fig. 9. Gráfica de las longitudes de la radícula (mm) vs tiempo de almacenamiento en 40 °C y 75 % de humedad relativa.  
 (+)= valores reales; (o-o)=curva teórica.

(+)= promedio de tres repeticiones.

## TASAS DE CRECIMIENTO

TABLA 7 DE ANOVA PARA LA LINEA B-4

MEDICION DE LA RADICULA					
Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 5 %
TOTAL	3	40.090394			
REGRESION	1	36.7368522	36.7368522	21.909*	18.51
DESVIACION	2	3.35354186	1.67677093		

\* significativo al 5 %

TABLA 8 DE ANOVA PARA LA LINEA B-12

MEDICION DE LA RADICULA					
Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 5 %
TOTAL	3	31.3034168			
REGRESION	1	30.8438285	30.8438285	134.22*	18.51
DESVIACION	2	.459588233	.229794117		

\* significativo al 5 %.

## Conductividad Eléctrica

En el cuadro 5 se indican los resultados experimentales obtenidos de las mediciones de conductividad eléctrica para ambas líneas, presentados en  $\text{mScm}^{-1}$  (mmho). En las Figs. 10 y 11 se graficaron los datos de conductividad contra tiempo de almacenamiento.

En las tablas 9 y 10 se dan los resultados del análisis de varianza realizado para la regresión de este parámetro.

Cuadro No. 5

t hrs	B-4 Cond. $\text{mScm}^{-1}$	B-12 Cond. $\text{mScm}^{-1}$
0	0.214	0.255
24	0.256	0.278
48	0.272	0.494
72	0.292	0.352
96	0.283	0.303

Registros de conductividad eléctrica para los diferentes períodos de almacenamiento en condiciones adversas.

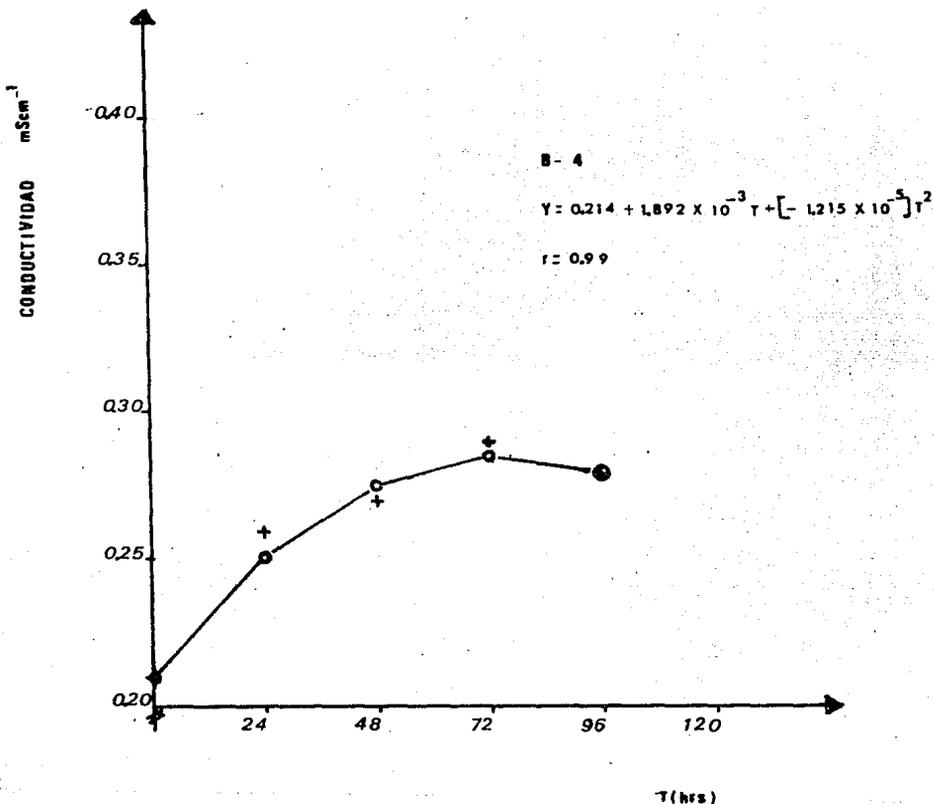


Fig. 10. Gráfica de los valores de conductividad eléctrica de de lixiviación de las semillas (mScm<sup>-1</sup>) vs tiempo de almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C y 75 % de humedad relativa. (+)=valores reales; (o-o)= curva teórica.

(+)= promedio de tres repeticiones.

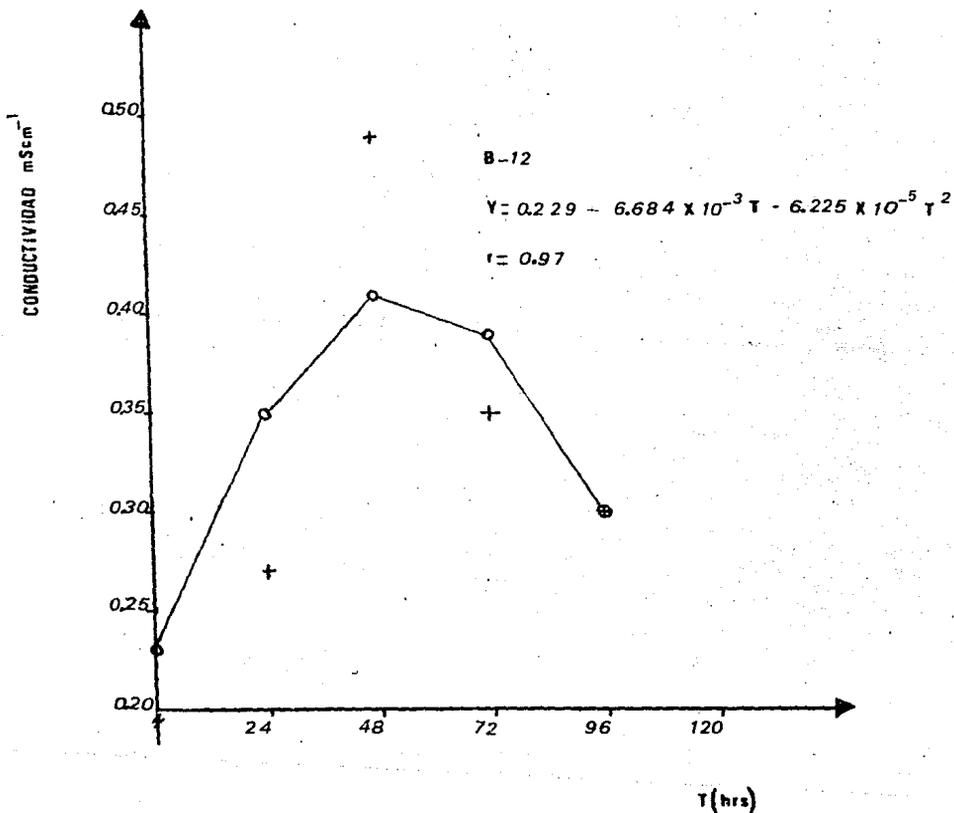


Fig. 11. Gráfica de los valores de conductividad eléctrica de lixiviación de semillas ( $\text{mScm}^{-1}$ ) vs tiempo de almacenamiento en condiciones adversas de  $40^\circ\text{C}$  y 75 % de humedad relativa. (+)=valores reales; (o-o)= curva teórica.

(+)= promedio de tres repeticiones.

## CONDUCTIVIDAD ELECTRICA

TABLA 9 DE ANOVA PARA LA LINEA B-4

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 1 %
TOTAL	4	.06058882			
REGRESION	2	.060531222	.03026561	1050.89*	99.00
DESVIACION	2	5.76 E-05	2.88E-05		

\* significativo al 1 %.

TABLA 10 DE ANOVA PARA LA LINEA B-12

Fuente de Variación	g.l.	S.C.	C.M.	F obs	F requerido 10 %
TOTAL	4	.26966022			
REGRESION	2	.25431730	.127158653	16.576*	9.0
DESVIACION	2	.01534291	7.671457E-03		

\* significativo al 10 %.

## Contenido de Humedad

En el cuadro No. 6 se presentan los valores de contenido de humedad obtenidos en los diferentes muestreos para el almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C y 75 % de humedad relativa. Los contenidos de humedad se expresan en porcentaje en base al peso húmedo de la semilla.

Cuadro No. 6

t hrs	B-4 C.H. %	B-12 C.H. %
0	16.0	16.0
24	14.0	14.0
48	15.0	16.0
72	14.0	14.0
96	14.0	14.0
120	14.0	14.0

Registros de contenido de humedad de las semillas de ambas líneas expresado en base húmeda para los diferentes períodos de almacenamiento.

Almacenamiento en Condiciones Normales con 25 °C de temperatura y 75 % de humedad relativa.

Para este almacenamiento largo, únicamente se contó con los resultados de 3 repeticiones de los distintos parámetros cuyas muestras fueron tomadas a los 75 días. Cada valor representa el promedio de las 3 repeticiones.

#### Viabilidad

Debido a que no se tuvieron las repeticiones suficientes de los registros de viabilidad en el transcurso de los 75 días de almacenamiento, no se obtuvieron las curvas de sobrevivencia y, por lo mismo, tampoco se obtuvieron las tasas de pérdida del porcentaje de germinación. A los 75 días de almacenamiento la línea B-4 mostró 58 % de germinación y la línea B-12, 25 %.

#### Longitud del Coleoptilo

El promedio de la longitud del coleoptilo de plántulas de 7 días de edad para línea B-4 fué de 86.614 mm  $\pm$  0.5 mm y para B-12 de 58.647  $\pm$  0.5 mm

### Longitud de la Radícula

El promedio de la longitud de la radícula a los 75 días de almacenamiento para la línea B-4 fué de  $86.093 \pm 0.5$  mm y para la línea B-12, de  $56.967 \pm 0.5$  mm.

### Conductividad Eléctrica

El promedio de tres repeticiones de 75 días de almacenamiento para la línea B-4 fué de  $0.38 \text{ mScm}^{-1} \pm 0.5 \text{ mScm}^{-1}$ , y para la línea B-12 de  $0.312 \pm 0.5 \text{ mScm}^{-1}$ .

## VII.- DISCUSION Y CONCLUSIONES

Almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C.

Viabilidad

Existen diferencias en viabilidad entre las dos líneas antes de ser sometidas a experimentación y después del período de equilibrio de humedad, a 1 tiempo cero de almacenamiento. En este tiempo, la línea B-4 tuvo 90 % de germinación y la B-12 55 %, cuya viabilidad resultó ser muy baja. Se puede observar que en el almacenamiento en condiciones adversas de 40 °C, ambas líneas reducen su viabilidad notablemente; la línea B-4, del 90 % de germinación inicial disminuye su viabilidad hasta 48 % a las 120 hrs de almacenamiento y la línea B-12, de 55 % a 11 %, en el mismo tiempo.

Aparentemente la línea B-12 perdió su capacidad para germinar más que la línea B-4, pero comparando detenidamente los valores reales correspondientes a cada línea, nos damos cuenta de que ambas líneas pierden de manera similar su capacidad de germinación. La B-4, lo hace en 42 % y la B-12 en 44 % y, además disminuyen su viabilidad a una tasa semejante descrita por un comportamiento aproximado a un modelo lineal,  $F_{[1,4]} P \leq 5 \%$ .

## Valor de Germinación

Comparando en tiempos iguales, una misma línea, la velocidad de germinación de semillas tratadas con almacenamiento a 40 °C, es menor que la velocidad de germinación alcanzada por el testigo. La línea B-4 mostró siempre valores más altos de valor de germinación que la B-12 y el modelo que más se ajusta a los valores reales es un modelo polinómico cuadrático  $F_{[2,2]}$   $P \leq 1 \%$ , cuya ecuación cuadrática expresa la naturaleza en que ambas líneas pierden el valor de germinación en función del tiempo de almacenamiento, aunque la tasa de disminución es más rápida para la línea B-4, los valores de esta línea tienen unidades mayores por lo que no puede decirse que sea menos vigorosa que la B-12.

## Tasas de Crecimiento

### Longitud del Coleoptilo

Los datos experimentales muestran que disminuyó más la longitud del crecimiento de los coleoptilos de la B-12 con respecto a su valor inicial, después de 96 hrs de almacenamiento. De un valor inicial de 118.3 mm hasta 50.2 mm, redujo la longitud de su crecimiento en 68 mm. La B-4, redujo su longitud en un va

lor. ligeramente menor, 66.9 mm.

La ecuación que describe el ajuste de los datos reales a un modelo lineal  $F_{[1,3]}$   $P \leq 5 \%$ , establece que la pérdida de la tasa de crecimiento es constante durante el tiempo de almacenamiento y es similar en ambas líneas.

#### Longitud de la Radícula

En 72 hr de almacenamiento la línea B-4 siempre tuvo valores mayores de longitud de radícula que la B-12. Ambas redujeron aproximadamente 80 mm su longitud, y la pérdida de la tasa de crecimiento de la radícula descrita por un comportamiento lineal, es muy aproximado en ambas líneas.

#### Conductividad Eléctrica

Por medio de esta prueba se registraron diferencias entre ambas líneas, presentando valores mayores la B-12, indicando mayor pérdida de electrolitos de la semilla durante el tiempo de almacenamiento.

El ajuste de los valores reales de la línea B-4 a un polinomio cuadrático  $F_{[2,3]}$   $P \leq 5 \%$ , muestra una relación más estrecha entre el tiempo de almacenamiento y los registros de conductividad eléctrica. Sin embargo, el ajuste para la línea B-12

también descrito por una función cuadrática,  $F_{[2,3]} P \leq 10 \%$ , señala que la relación existente entre la conductividad eléctrica y el tiempo de almacenamiento de esta línea, es menos estrecha, es decir, describe con menor confiabilidad a los valores reales. Esto podría ser explicado por la alta dispersión mostrada por los valores reales de la conductividad en la B-12 y también, al poco número de pares de observaciones con las cuales se realizó el análisis de varianza.

Los resultados experimentales señalan que existe una tasa superior en conductividad para la línea B-12, en su primera componente, presentándose durante las 48 hrs de almacenamiento. Después de dicho período hay una disminución, aunque menos pronunciada en la B-4, que amerita tomarse en cuenta en futuras investigaciones, pues se esperaba un aumento continuo de la conductividad hacia las 96 hrs de almacenamiento en ambas líneas. Esto último, porque a mayor tiempo de almacenamiento, ocurre mayor deterioro y por tanto, mayor registro de conductividad es esperado. Una posible explicación a este fenómeno es que el valor de conductividad se baja con la presencia de moléculas como aminoácidos, azúcares u otros metabolitos que interfieren con la migración de los electrolitos de la lixiviación hacia los electrodos de registro. Si bien los electrolitos no disminuyen, quizá conforme avanza el tiempo de almacenamiento salgan de la semilla metabolitos de mayor peso mo-

lecular y por ello bajen las lecturas de conductividad. En de terminado momento, este hecho apoyaría más aún la pérdida de integridad de las membranas de las semillas, reflejada por los datos experimentales de conductividad y se esperaría que sucediese en mayor proporción en la línea B-12. Sin embargo ello no podría afirmarse hasta que se identifique el tipo de moléculas que escapan de las células durante la lixiviación de las semillas, lo cual se recomienda realizar en atención al fenómeno observado y su posible relación a la calidad de los lotes de semillas.

Almacenamiento en condiciones normales de 25 °C.

#### Viabilidad

En este almacenamiento ambas líneas perdieron de manera similar su viabilidad, como en el almacenamiento en condiciones adversas a 40 °C. La B-4 disminuyó de 90 a 58 % su porcentaje de germinación y la B-12, de 55 a 25 %, siendo esta dismi nución del orden del 30 % en ambas líneas.

Al contrastar las condiciones adversas de 40 °C y normales de 25 °C, notamos que a B-4, 96 hrs de almacenamiento en condi ciones adversas, afectan su viabilidad como si hubiera estado dos meses y medio en el almacenamiento en condiciones de 25 °C.

En el caso de la línea B-12, condiciones de almacenamiento de 40 °C durante 72 hrs, afectan su viabilidad de la misma forma que 75 días de almacenamiento en 25 °C.

Comparando ambas líneas apreciamos que aún en condiciones distintas de almacenamiento la viabilidad se afecta de manera similar.

#### Longitud del Coleoptilo

Resultó mayor el valor de la longitud del coleoptilo que alcanzó la línea B-4 con respecto al valor logrado por la B-12, aunque la B-4 disminuyó en 77.6 mm su longitud y la B-12 en 59.6 mm.

#### Longitud de la Radícula

Con respecto a este parámetro, la línea B-4 disminuyó su valor inicial de longitud en 70.8 mm a los 75 días de almacenamiento y la B-12, en 32.0 mm

#### Conductividad Eléctrica

En cuanto a la conductividad eléctrica la línea B-4 aumentó de  $0.214 \text{ mScm}^{-1}$  a  $0.380 \text{ mScm}^{-1}$  y la B-12 de  $0.255 \text{ mScm}^{-1}$  a  $0.312 \text{ mScm}^{-1}$ , siendo al final de los 75 días, más alto el valor de conductividad registrada para B-4. Estos resultados pueden

0.312 mScm<sup>1</sup>, siendo al final de los 75 días, más alto el valor de conductividad registrada para B-4. Estos resultados pueden ser analizados bajo la misma perspectiva que los del almacenamiento en condiciones de 40 °C.

Hciendo un análisis general de ambos tipos de almacenamiento, encontramos que las curvas de sobrevivencia de ambas líneas en condiciones adversas de 40 °C y en condiciones normales de 25 °C, indican que la disminución del porcentaje de germinación y las tasas de la pérdida de viabilidad son muy similares aún cuando la línea B-4 exhibia valores mayores.

En condiciones de 40 °C la tasa de crecimiento de los coleoptilos se reduce de igual manera en ambas líneas sin lograr diferenciarlas en resistentes o susceptibles. La pérdida de las tasas de crecimiento de radícula y valor de germinación también disminuyen de manera parecida.

En 25 °C los valores de crecimiento de la B-12 reducen menos la longitud de las plántulas, aunque B-4 presente valores en unidades más altas; lo que hace que no represente una diferencia clara entre ambas líneas para ser considerada como resistentes o susceptibles.

En lo que respecta a la conductividad eléctrica, esta prueba, expresa promisoriamente a la línea B-4 con una mejor

calidad que la B-12 manifestándose como un buen indicador de la misma, que amerita mayor interés.

Como se mencionó en la descripción de las líneas utilizadas en este trabajo, la línea B-4 es clasificada como resistente y la B-12 como susceptible a la pérdida de su viabilidad en condiciones adversas de almacenamiento (Moreno, 1978); debido a ello, se esperaba que el comportamiento de la B-4 en todos los parámetros tuviera valores mas constantes o que al menos disminuyeran notablemente menos que los de la línea B-12, excepto en la prueba de conductividad eléctrica. Sobretudo porque ambas líneas tenían porcentajes de germinación y tamaños de plántula muy distintos al inicio del almacenamiento. En este mismo sentido, era necesario evaluar dos líneas o variedades a partir de viabilidades iniciales distintas bajo parámetros de vigor, y conocer su expresión en condiciones artificiales de almacenamiento, de resistencia o susceptibilidad a la pérdida de su calidad. Sin embargo, la comparación de las líneas llevada a cabo en este trabajo, con viabilidades iniciales diferentes fué un factor que influyó en que casi todos los parámetros ensayados no reflejaran diferencias entre genotipos resistentes o susceptibles.

Por otra parte, la temperatura empleada en el almacenamiento en tiempo corto, pudo haber resultado tan alta que el daño fisiológico causado a las semillas ocurrió a una tasa si

milar sin importar el empleo de lotes o líneas diferentes.

De acuerdo a lo anterior, podemos concluir que las condiciones de almacenamiento mantenidas en esta investigación afectaron de manera similar la viabilidad de las semillas de ambas y líneas y, que exceptuando la prueba de conductividad, las curvas de sobrevivencia y las tasas de crecimiento no reflejan el comportamiento resistente o susceptible para B-4 y B-12, respectivamente, los cuales se esperaban muy claros en todas las pruebas al término del experimento, por las fuertes diferencias exhibidas en viabilidad y crecimiento inicial entre ambas. Es posible que la temperatura de 40 °C resulte tan alta que el daño sufrido por las semillas ocurrirá a la misma tasa no reflejando diferencias entre los lotes; a estas temperaturas las funciones de las enzimas se perturban, pues pierden fácilmente su conformación nativa, disminuyendo su actividad o siendo inactivadas totalmente. Por tanto, en estas condiciones los parámetros medidos exhiben similar comportamiento, por lo mismo, se recomienda utilizar para maíz las condiciones de 30 °C y 75 % de humedad relativa que proponen Delouche y Baskin (1973). También se recomienda investigar otros parámetros que pudieran resultar más potentes que los investigados aquí. Por último, se recomienda para pruebas de vigor el que se comparen las diferentes variedades o líneas a partir de viabilidades similares al inicio del almacenamiento

## VIII.- LITERATURA CITADA

- Abdul-Baki, AA and Anderson, JD. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop Sci.* 13:630-633.
- Abdul-Baki, AA. 1974. Hypochlorite and tissue sterilization. *Pflanzl. Züchtung* (Berlin) 115:373-376.
- De Bueche, JC and Baskin, CC. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. Technol.* 1:427-452.
- Gelmond, H. 1976. Special Publication, Volcani Center, 54:35-39. Div. of Seed Res., Agric. Res. Org., Volcani Cent., Bet Dagan, Israel.
- Heydecker, W. 1972. Chap. 8. Vigour. In Roberts, EH. *Viability of Seeds*. Chapman and Hall, London Great Britain. I-IX. 448 pp.
- Likhachev, BS. 1977. Doklady Vsesoyuznoi Ordena Lenina Akademii Sel'skokhozyaistvennykh Nauk Imeni V. I. Lenina. 4: 38-40.
- Little, TM and Jackson, FH (1979). Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Trillas, México. 270 pp.
- Lozano-R, JL et al. 1985. Comportamiento de líneas de maíz en consumo de oxígeno, lixiviación de metabolitos y en va Dr de germinación durante su a macenamiento en condiciones adversas. 2a. Reunión Nacional de Bio-

química Vegetal y Cultivo de Tejidos. Jardín Botánico, Unidad de Seminarios. UNAM. México, D.F.

- Lozano-R, JL. 1985. Determinación analítica del valor de germinación para estimar el vigor de lotes de semillas. Ibid:
- Mackay, DB. 1972. Chap. 7. The measurement of viability. In Roberts, EH. Viability of seeds. Chapman and Hall. London, Great Britain. I-IX. 448 pp.
- Maguire, 1980. Chap. 11. Seed quality and germination. In Khan, AA (ed). The Physiology and Biochemistry of seed dormancy and germination. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam. New York.
- Mora, CM y Echandi, ZR. 1976. Evaluación del efecto de condiciones de almacenamiento sobre la calidad de semillas de arroz (*Oryza sativa* L) y de maíz (*Zea mays* L). Turrialba 26(4):413-416.
- Moreno-M, E and Christensen, CM. 1971. Differences among lines and varieties of maize in susceptibility to damage by storage fungi. Phytopathology. 61:1498-1500.
- Moreno-M E, Morones, RR y Gutiérrez, LR. 1978. Diferencias entre líneas, cruas simples y dobles de maíz en su susceptibilidad al daño por condiciones adversas de almacenamiento. Turrialba 28(3):233-237.

- Moreno-M, E. 1979. Efecto de los hongos de almacén sobre la viabilidad de maíz y soya. Bol. Soc. Mex. Mic. 13: 195-203.
- Moreno-M, E. 1984. Los problemas de la conservación de granos y semillas en México. Ciencia y Desarrollo. Num. 58 año X. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. México, D.F.
- Roberts, EH and Ellis, RH. 1982. Chap. 18. Physiological, ultrastructural and metabolic aspects of seed viability. In Khan, AA (ed). The Physiology and Biochemistry of Seed Germination. North-Holland Elsevier Biomedical Press. Amsterdam, New York.
- Rounsefell, GA and Everhart, WH. 1953. Chap. 19 Growth. In Fishery Science. Its methods and applications. John Wiley and Sons. New York.
- Sokal, RR and Rohlf, JF. (1973). Introduction to Biostatistics. Freeman. U.S.A. 365 pp.
- Winston, WP and Bates, DH. 1960. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. Ecology 41(1):232-237.
- Woodstock, L. 1969. Seedling growth as a measure of seed vigor. Proc. Int. Seed Test. Ass. 34(2):273-280.

## APENDICE 1

Determinación del Valor de Germación para estimar el vigor de <sup>61</sup> lotes de semillas.

El valor de germinación, v.g., propuesto por Czabator (1962), se considera como uno de los mejores indicadores del vigor de un lote de semillas.

Sin embargo, se ha observado que podría existir ambigüedad en la definición del "tiempo de término de la prueba", que es el tiempo al cual se ha alcanzado el porcentaje máximo de germinación del lote de semillas, así como para definir el tiempo al cual se obtiene el incremento máximo del porcentaje de germinación. Es posible determinar analíticamente estos dos valores, por lo que se sugiere la presente modificación al v.g. propuesto por Czabator.

Determinación del término de la prueba.-- A partir de la función del porcentaje de germinación, %G, con respecto al tiempo y dado que ésta función es del tipo ( Ellis, 1980)

$$v = k_1 + p / \sigma \quad \text{donde}$$

$v$  = valor probit del %G ,

$p$  = periodo de germinación,

$\sigma$  = desviación estandar de la velocidad de germinación en el tiempo, y

$k_1$  = valor probit del %G a tiempo cero

ó bien

$$v_{\%G} = b + mt \quad \dots \dots \dots \quad \text{eq. 1}$$

puede determinarse el %G a tiempo infinito, o sea cuando se ha alcanzado el %G máximo, utilizando el método de Walford ( Rounsefell, 1953 ).

Grificando el %G al tiempo  $t_{n+1}$  contra el %G al tiempo  $t_n$ , *y así*

se tiene la relación

$$\%G_n - \%G_{n-1} = k (\%G_{n-1} - \%G_{n-2})$$

el %G a tiempo infinito puede ser localizado graficamente donde se obtenga

$$\%G_n = \%G_{n+1}$$

ó bien, más adecuadamente, resolviendo el sistema

$$\%G'_{n+1} = m' \%G'_n + b'$$

$$\%G_{n+1} = m \%G_n + b$$

..... eq. 2

para la condición  $\%G'_n = \%G_n$

y que tiene como solución

$$\%G_{\infty} = \frac{b'}{1 - m'} \quad \text{.....eq. 3}$$

En el sistema de ecuaciones simultaneas, eq.2, se utiliza el modelo lineal, ajustado por mínimos cuadrados, a los valores probit  $\%G_{n+1}$  vs.  $\%G_n$ , para obtener el mejor estimador

de la pendiente,  $m'$ , de los resultados experimentales y para el valor  $b'$  que es la ordenada al origen de la función ajustada.

La segunda función del sistema 2, satisface la condición

$$\%G_{n+1} = \%G_n$$

por lo que su pendiente es igual a 1 y pasa por el origen.

La estimación del  $\%G_{\infty}$  se obtiene sustituyendo los valores  $m'$  y  $b'$  en la ecuación 3.

Para obtener el tiempo de término de la prueba, se sustituye la estimación de  $\%G_{\infty}$  en la ecuación 1, donde la estimación de la pendiente y de la ordenada al origen se hace también con el modelo lineal para la función probit del  $\%G$  Vs.  $t$ .

Determinación del tiempo al que se obtiene el incremento

máximo del  $\%G$  .- Como se trata de un comportamiento que puede ser descrito con un modelo lineal

$$\%G = b + mt \quad \dots \dots \dots \text{eq.1}$$

y se tiene ya una estimación del tiempo de término de la prueba, el tiempo al cual se alcanza el incremento máximo del  $\%G$ ,  $t_{\max}$ , podrá ser adecuadamente estimado con la esperanza de la eq.1 en el intervalo comprendido entre  $t = 0$  y  $t_{\max}$ .

Así, se obtiene el  $\%G$  y el tiempo a los cuales se tiene el incremento máximo del  $\%G$ .

Obtención del Valor de Germinación .- Finalmente se tienen los valores necesarios para la determinación analítica del valor de germinación, v.g., que está dado por

$$\text{v.g.} = \left( A_{\max} \frac{\%G}{t} \right) \left( \frac{\%G_{\infty}}{t_{\max}} \right) \quad \dots \dots \text{eq.4}$$

El  $\%G_{\infty}$  de la eq.4 corresponde al obtenido de la ecuación 3 y el tiempo entre el cual se divide a éste valor es el obtenido de sustituir el valor  $\%G_{\infty}$  en la eq.1, o sea  $t_{\max}$ .

En el cociente  $\Delta_{\max} \frac{\%G}{t}$  de la eq.4, el valor del  $\%G$  corresponde al promedio de la función 1 en el intervalo  $t = 0$  y  $t_{\max}$ . El divisor corresponde al tiempo promedio en el mismo intervalo.

Las ventajas del método analítico para determinar el v.g. podrían no ser tan evidentes, pero para su <sup>e</sup>determinación basta hacer solamente dos ajustes lineales y un par de sustituciones para obtener los valores necesarios. Además, es factible formular un programa para que, a partir de una sola tabla de datos del porcentaje de germinación con respecto al tiempo, se derive un excelente indicador del vigor de un lote de semillas.

Puede ser recomendable que la gráfica o tabla del  $\%G$  con respecto al tiempo, contenga por lo menos diez observaciones y que el tamaño de muestra no sea inferior a 50 ó 60 semillas.

Finalmente cabe señalar que con las modificaciones sugeridas aquí, desaparecen muchas de las objeciones para la utilización del v.g. como fué propuesto por Czabator y que puede ser un excelente indicador del vigor de un lote de semillas.

La información obtenida del v.g. puede ser ampliada por la de pruebas en frío para el desempeño de un lote de semillas ( ref. personal A.A. Kahn ), y tal vez por la obtenida por pruebas como BADA, i.e. actividad de la descarboxilasa del ácido glutámico.

Es importante señalar que el método utilizado por Walford para la determinación de  $L$  , o en nuestro caso  $\%G$  , tiene la misma solución por el sistema de ecuaciones simultáneas propuesto en el presente trabajo.

El modificar a los datos del  $\%G$  por su valor probit, ofrece la ventaja de extender la aplicabilidad del método a curvas del tipo sigmoide y no solo tipo Gompertz, para todos los tiempos de observación y no solo para los valores después del punto de inflexión como es el caso del método de Walford.

Lozano-R, JL. 1985. Determinación analítica del valor de germinación para estimar el vigor de lotes de semillas. 2a. Reunión Nacional de Bioquímica Vegetal y Cultivo de Tejidos. Jardín Botánico Unidad de Seminarios. UNAM México, D.F.