

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICA Y FISIOLÓGICA DE SEMILLA DE MAÍZ NATIVO

EVALUATION OF THE PHYSICAL AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF NATIVE MAIZE SEED

Edgar **Magdaleno-Hernández**,^{1*} Adalberto **Magdaleno-Hernández**², Apolinar **Mejía-Contreras**¹, Tomas **Martínez-Saldaña**², Mercedes A. **Jiménez-Velázquez**², Julio **Sanchez-Escudero**³, José L. **García-Cué**⁴

¹Recursos Genéticos y Productividad. (magdaleno.edgar@colpos.mx) (mapolina@colpos.mx). ²Desarrollo Rural. (tms@colpos.mx) (mjiménez@colpos.mx) (Magdaleno.adalberto@colpos.mx). ³Agroecología (clarijul@hotmail.com). ⁴Estadística (jlgcue@colpos.mx). Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México.

RESUMEN

La calidad de las semillas es un elemento de importancia para que los productores y empresas semilleras tomen decisiones, como el tipo de semilla y superficie a sembrar, por esta razón las pruebas de calidad física y fisiológica son necesarias para estimar su eficacia. Adicionalmente el deterioro de la semilla de maíz (*Zea mays* L.) es causa de baja calidad física, fisiológica y sanitaria. En este estudio, realizado en el Laboratorio de Análisis de Semillas del Colegio de Postgraduados, Montecillo Estado de México en el año 2016, se evaluó el daño causado por impacto, envejecimiento acelerado y estrés de frío sobre la calidad física y fisiológica de semillas de maíz. Tomando en cuenta las variables; longitud de plántula, longitud de coleoptilo, longitud de raíz y peso de materia seca. Las diferentes pruebas mostraron que el genotipo tres correspondiente al ciclo 2015 fue de mejor vigor y calidad de semilla, en particular la prueba de frío indicó que la variedad nativa de la región es apta para zonas frías.

Palabras clave: análisis-semillas, semilla-vigor.

INTRODUCCIÓN

La existencia de diferentes variedades nativas en una misma región, revela que, a pesar del entrecruzamiento existente, los campesinos han buscado mantener la diferenciación de variedades, empleando cada una para usos específicos. El objetivo de la investigación consistió en evaluar la calidad física y fisiológica en genotipos de maíz de tres ciclos mediante las pruebas germinación estándar,

ABSTRACT

The quality of seeds is an important element for producers and seed companies to make decisions, such as the type of seed and surface to be sown; this is why the physical and physiological quality tests are necessary to estimate their efficacy. In addition, the deterioration of the maize seed (*Zea mays* L.) is a cause of low physical, physiological and sanitary quality. In this study, carried out in the Seed Analysis Laboratory of Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, in 2016, the damage caused by the effect of: accelerated ageing and stress from cold over the physical and physiological quality of the maize seeds was evaluated. The variables taken into account were: seedling length, coleoptile length, root length and dry matter weight. The different tests showed that genotype three, which corresponds to the 2015 cycle, was the one with best seed vigor and quality, and particularly the cold test indicated that the native variety of the region is apt for cold zones.

Key words: seed-analysis, seed-vigor.

INTRODUCTION

The existence of different native varieties in the same region reveals that, despite the existing cross, peasants have sought to maintain the differentiation of varieties, using each for specific uses. The objective of the study consisted in evaluating the physical and physiological quality of maize genotypes from three cycles through standard germination tests: accelerated ageing, cold test, moisture content, weight of 1000 seeds, and emergence speed. The hypothesis was that the maize seed that peasants select cycle after cycle has a competitive germination, and thus the technique has been maintained for several generations.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: abril, 2018. Aprobado: agosto, 2018.

Publicado como ARTÍCULO en ASyD 17: 569-581. 2020.

envejecimiento acelerado, prueba de frío, contenido de humedad, peso de 1000 semillas y velocidad de emergencia. La hipótesis fue que la semilla de maíz que seleccionan los campesinos ciclo tras ciclo tiene una germinación competitiva, de esta manera han mantenido la técnica por varias generaciones.

La capacidad de las semillas para germinar en condiciones de poca humedad en el suelo les confiere ventajas ecológicas, al establecerse cuando especies sensibles no lo pueden hacer (Cordero, 1991). Las variedades nativas que conservan los campesinos han proliferado por décadas bajo condiciones de temporal, por lo que se da por sentado que poseen genes que le permiten tolerancia a sequía para lograr un aceptable rendimiento (Márquez *et al.*, 2009). Adicionalmente, la preferencia por estos materiales nativos está influenciada por las ventajas que presenta para adaptarse a terrenos edafo-climáticamente limitados (Turrent *et al.*, 2012). La germinación de un lote de semilla se considera como una manifestación de la calidad. La calidad de las semillas obedece a varios factores: el genotipo de la planta, condiciones climáticas durante el desarrollo y labores culturales realizadas desde la siembra hasta la cosecha. Esta se forma con los efectos de sus atributos genéticos, físicos, fisiológicos y sanitarios, así como a la interacción entre ellos, estos se determinan durante el ciclo biológico de la planta hembra y son afectados por factores climáticos y fisiológicos (Sierra *et al.*, 2008). La calidad de las semillas es un factor importante que determina el desarrollo y crecimiento de los cultivos, por lo que se debe considerar en los estudios para elevar el rendimiento y facilitar la producción de plántulas normales (Sulewska *et al.*, 2014). El rendimiento es un rasgo poligénico, de baja heredabilidad, resultante de la expresión y asociación de diferentes componentes, afectados por los caracteres de la planta (Vilela-De Souza *et al.*, 2014). Debido a que el vigor es inversamente proporcional al deterioro, la estrategia general para medir el vigor en la semilla se ha dirigido hacia la evaluación del deterioro (AOSA, 1983). El vigor de una semilla se refiere a la suma de las propiedades que determinan el nivel de actividad y desempeño de la semilla durante la germinación y emergencia de las plántulas, las semillas con buen desempeño son catalogadas como de alto vigor (CATIE, 2000).

Las condiciones de producción sin estrés ambiental durante la etapa de llenado de grano son relevantes para la calidad. Un almacenamiento de semillas,

The capacity of seeds to germinate under conditions of low moisture in the soil confers them ecological advantages to be established when sensitive species cannot (Cordero, 1991). The native varieties that peasants preserve have proliferated for decades under seasonal agriculture conditions, so it is assumed that they have genes that give them tolerance to drought to achieve an acceptable yield (Márquez *et al.*, 2009). In addition, the preference for these native materials is influenced by the advantages that they present to adapt to lands that have soil and climate limitations (Turrent *et al.*, 2012). The germination of a seed lot is considered as a manifestation of the quality. Seed quality is due to many factors: the plant genotype, climate conditions during development, and farming tasks carried out from sowing to harvest. This quality is shaped by the effects of genetic, physical, physiological and sanitary attributes, as well as the interaction between them; these attributes are defined during the biological cycle of the female plant and are affected by climate and physiological factors (Sierra *et al.*, 2008). The quality of the seeds is an important factor that determines the development and growth of the crops, which is why it must be considered in studies to increase the yield and facilitate the production of normal seedlings (Sulewska *et al.*, 2014). Yield is a polygenic attribute, of low heritability, which results from the expression and association of different components, affected by the plant's features (Vilela-De Souza *et al.*, 2014). Because the vigor is inversely proportional to the deterioration, the general strategy to measure vigor in the seed has been directed toward the evaluation of deterioration (AOSA, 1983). A seed's vigor refers to the sum of properties that determines the level of activity and performance of the seed during its germination and emergence of the seedlings; the seeds with good performance are cataloged as high vigor (CATIE, 2000).

Conditions of production without environmental stress during the stage of grain filling are important for the quality. Storing seeds under adverse conditions causes ageing and results in materials with a reduced capacity for germination (Li *et al.*, 1996). Due to the difficulty of studying the effect of deterioration, it is pertinent to carry out the test of accelerated ageing. Analysis techniques have been developed that allow evaluating the quality of seeds for sowing (Hernández and Carballo, 1997), which are of interest both for

bajo condiciones adversas ocasiona el envejecimiento provocando la obtención de materiales con una reducida capacidad de germinación (Li *et al.*, 1996). Debido a la dificultad de estudiar el efecto del deterioro, es pertinente realizar la prueba de envejecimiento acelerado. Se han desarrollado técnicas de análisis que permiten evaluar la calidad de las semillas para la siembra (Hernández y Carballo, 1997), las cuales son de interés tanto para la industria semillera como para las instituciones responsables de la certificación, estos determinan el valor de las semillas para beneficio del agricultor (ISTA, 2005). La prueba de germinación se emplea en los programas de certificación de semillas como un indicador de la calidad fisiológica y permite la máxima expresión del potencial de germinación (AOSA, 1983). De manera adicional, resultan valiosas para las empresas productoras de semilla y para el agricultor, el tamaño y forma de la semilla, el indicador del peso de mil semillas, color, daño por insectos y hongos, los cuales son indicadores de la calidad física de la semilla (ISTA, 2005). Un análisis de la calidad de la semilla debe proporcionar un resultado reproducible que esté relacionado con el desempeño de la semilla en el campo y ayude al productor en la predicción del comportamiento durante su establecimiento (CATIE, 2000).

Una de las estrategias de tolerancia es la aclimatación al frío, proceso por el cual las plantas aumentan su tolerancia al congelamiento después de ser expuestas a bajas temperaturas por un período de tiempo. Las señales ambientales que la desencadenan son días cortos y una disminución paulatina de la temperatura; las plantas se acondicionan a medida que la temperatura baja en otoño, esto requiere energía e involucra cambios en la expresión genética que se traducen en cambios cualitativos en el patrón de proteínas sintetizadas (Sung y Amasino, 2004). En el transcurso de la evolución, las plantas adquirieron numerosos mecanismos de supervivencia relacionados con el frío. Para sobrevivir a este estrés, las plantas usan mecanismos de evasión y de tolerancia. La evasión consiste en minimizar la presencia del estrés; en cambio, la tolerancia es la capacidad de resistir las alteraciones que ocasiona el frío a través de mecanismos internos complejos que están controlados por genes que se activan por las bajas temperaturas (Olivares *et al.*, 1990). Las plantas sometidas a bajas temperaturas crecen lentamente y se originan alteraciones en la composición de ácidos grasos, fluidez

the seed industry and for the institutions responsible for certification, the latter determine the value of the seeds to benefit farmers (ISTA, 2005). The germination test is used in seed certification programs as an indicator of physiological quality and allows the maximum expression of the potential for germination (AOSA, 1983). Additionally, valuable traits for seed producing companies and for farmers are: size and shape of the seed, weight of one thousand seeds, color, and damage from insects and fungi, which are indicators of the physical quality of the seed (ISTA, 2005). An analysis of seed quality must provide a reproducible result related to the performance of the seed in the field and help the producer in the prediction of behavior during its establishment (CATIE, 2000).

One of the strategies for tolerance is acclimation to the cold, process by which plants increase their tolerance to freezing after having been exposed to low temperatures for a long period of time. The environmental signs that trigger it are short days and a gradual decrease of temperature; the plants are acclimated as the temperature drops in the autumn; this requires energy and involves changes in the genetic expression that translate into qualitative changes in the pattern of proteins synthesized (Sung and Amasino, 2004). Throughout evolution, plants acquired numerous survival mechanisms related to the cold. To survive to this stress, plants use mechanisms for evasion and tolerance. Evasion consists in minimizing the presence of stress, whereas tolerance is the capacity to resist the alterations that cold causes through complex internal mechanisms, that are controlled by genes that are activated by low temperatures (Olivares *et al.*, 1990). Plants that are subjected to low temperatures grow slowly and alterations are caused in the composition of fatty acids, fluidity of cell membranes, and metabolic activity rate (Nishida and Murata, 1996). Maize (*Zea mays* L.) is a species of subtropical origin, sensitive to low temperatures, which can die with exposure to temperatures close to 0 °C for short periods of time (Restrepo *et al.*, 2013).

RESEARCH METHODOLOGY

Conical native maize was used from seed selected by Acambay peasants for the cycles 2013, 2014 and 2015. Various tests were performed on these seeds.

de membranas celulares, tasa de actividad metabólica (Nishida y Murata, 1996), El maíz (*Zea mays* L.). Es una especie de origen subtropical, sensible a bajas temperaturas, que puede morir con la exposición por cortos períodos de tiempo a temperaturas cercanas a 0 °C (Restrepo *et al.*, 2013).

METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

Se utilizó maíz nativo cónico de la semilla seleccionada por los campesinos de Acambay para los ciclos 2013, 2014 y 2015. A estas semillas se le practicaron diversas pruebas.

Prueba de envejecimiento acelerado (PEA) y prueba de frío (PF)

Se realizaron las pruebas de germinación de semillas y se incluyeron las semillas testigo o de germinación estándar, se tuvieron entonces 9 tratamientos (Cuadro 1).

Prueba de envejecimiento acelerado

En esta prueba se tiene la variante de realizar un estrés de calor antes de la siembra, la semilla de los genotipos se sometió a una temperatura de 40 °C y 100% de humedad relativa durante 96 horas. Se utilizaron contenedores de plástico de 11×11×3.5 cm con 150 ml de agua destilada y una malla metálica de 0.5×0.5 cm, colocada en la parte media de la caja, sobre la que se colocaron las semillas, las cajas se sellaron herméticamente. Después del estrés de envejecimiento se realizó la prueba de germinación utilizando el método de la prueba de germinación estándar.

Accelerated ageing test (AET) and cold test (CT)

The seed germination tests were carried out and included control or standard germination seeds; therefore, 9 treatments were used (Table 1).

Accelerated ageing test

In this test there is the variant of performing heat stress before sowing, the seed of genotypes were subjected to a temperature of 40 °C and 100% of relative humidity during 96 hours. Plastic containers size 11×11×3.5 cm were used filled with 150 distilled water and a 0.5×0.5 cm metallic mesh was placed in the middle part of the box, on which the seeds were placed; the boxes were sealed hermetically. After the ageing stress, the germination test was performed using the standard germination test method.

Cold test

After sowing the seeds of the genotypes, they were subjected to stress by placing the rolls (“tacos”) that contained the seed in a controlled environment for 7 days at 10 °C (Burriss and Navratil, 1979) in the dark; after this time, they were placed in the germination chamber, at a temperature of 25 °C. Seven days later the evaluation of germination and dry weight of the seedling was performed.

Standard or control germination test

This test was performed according to recommendations from ISTA (2005) using the method between paper;

Cuadro 1. Nomenclatura y descripción de los tratamientos.

Table 1. Nomenclature and description of treatments.

Tratamiento	Nomenclatura	Descripción
1	PEA 2013	Semilla del ciclo 2013 sometida a la PEA
2	PEA 2014	Semilla del ciclo 2014 sometida a la PEA
3	PEA 2015	Semilla del ciclo 2015 sometida a la PEA
4	Testigo 2013	Semilla del ciclo 2013 sin prueba
5	Testigo 2014	Semilla del ciclo 2014 sin prueba
6	Testigo 2015	Semilla del ciclo 2015 sin prueba
7	PF 2013	Semilla del ciclo 2013 sometida a la PF
8	PF 2014	Semilla del ciclo 2014 sometida a la PF
9	PF 2015	Semilla del ciclo 2015 sometida a la PF

Prueba de frío

Después de realizar la siembra las semillas de los genotipos se sometieron a estrés colocando los rollos (“tacos”) que contenían la semilla en un ambiente controlado por 7 días a 10 °C (Burriss y Navratil, 1979) en ausencia de luz, transcurrido este tiempo, se colocaron en la cámara de germinación, a una temperatura de 25 °C. Siete días después se realizó la evaluación de la germinación y peso seco de plántula. Prueba de germinación estándar o testigo.

Esta prueba se realizó de acuerdo a las recomendaciones de la ISTA (2005) utilizando el método entre papel, consiste en extender dos toallas sanitas humedecidas con agua destilada sobre una superficie plana, en las cuales se colocaron 25 semillas, se orientaron los embriones hacia la parte inferior, distribuidas en cinco columnas y cinco hileras; se cubrieron las semillas con dos toallas húmedas y se enrollaron en forma de “taco”.

Para cada tratamiento se midieron las siguientes variables: longitud de planta, longitud de coleoptilo, longitud de raíz y el peso de la materia seca de la plántula.

Diseño experimental. Para la PEA y PF y el testigo se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar, que consistió en nueve tratamientos (Cuadro 1) con cuatro repeticiones para la variable peso de materia seca de la plántula y para las variables: longitud de planta, longitud de coleoptilo y longitud de raíz, se realizaron 20 repeticiones de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ik} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ik}$$

donde Y_{ik} : Valor del carácter promedio del i -ésimo tratamiento obtenido en k -ésima repetición; μ : efecto de la media general; τ_i : efecto del i -ésimo tratamiento; ε_{ik} : efecto aleatorio del error experimental asociado al i -ésimo tratamiento en la k -ésima repetición.

Variables de Calidad fisiológica

Velocidad de emergencia. La velocidad de emergencia se midió con base en el conteo diario del número de plantas emergidas por surco, una vez que se inició la emergencia, ocurriendo esto siete días después de la siembra. Este dato se calculó mediante la siguiente expresión:

it consists in laying out two paper towels dampened with distilled water on a flat surface, where 25 seeds were placed; the embryos were directed toward the lower part, distributed in five columns and five lines; the seeds were covered with two dampened towels and rolled into a “taco” shape.

For each treatment, the following variables were measured: plant length, coleoptile length, root length, and weight of dry matter of the seedling.

Experimental design. For the AET and CT and the control test, an experimental design with completely random blocks was used, which consisted in nine treatments (Table 1) with four repetitions for the dry matter weight variable of the seedling and for the variables: plant length, coleoptile length and root length. Twenty repetitions were carried out according to the following model:

$$Y_{ik} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ik}$$

where Y_{ik} : Value of the average trait of the i -th treatment obtained in the k -th repetition; μ : effect of the general mean; τ_i : effect of the i -th treatment; ε_{ik} : random effect of the experimental error associated to the i -th treatment in the k -th repetition.

Physiological quality variables

Speed of emergence. The speed of emergence was measured based on the daily count of the number of plants emerged by furrow, once the emergence began, and this happened seven days after sowing. This piece of data was calculated through the following expression:

$$V.E. = (X_1)/1 + (X_2)/2 + (X_3)/3 + \dots + (X_{n-1})/n - 1 + (X_n)/n$$

where X : number of seedlings emerged per day, n : number of days after sowing $i=1,2,3,\dots, n-1, n$.

To evaluate the speed of emergence, a plot of land was used in the study zone located in the community of Soledad Acambay, Mexico. The genetic material for this test consisted of three treatments that correspond to the 2013 to 2015 cycles. To measure the speed of emergence in the field, sowing was done in furrows of 6 meters with 12 plants in each furrow with 3 seeds per cluster.

$$V.E. = (X_1)/1 + (X_2)/2 + (X_3)/3 + \dots + (X_{n-1})/n - 1 + (X_n)/n$$

donde X : número de plántulas emergidas por día,
 n : número de días después de la siembra $i=1,2,3,\dots$
 $n-1, n$.

Para evaluar la velocidad de emergencia se ocupó una parcela de campo en la zona de estudio ubicada en la comunidad de la Soledad Acambay México. El material genético para esta prueba consistió de tres tratamientos correspondiente a los ciclos 2013 al 2015. Para medir la velocidad de emergencia en campo se realizó la siembra en surcos de 6 metros con 12 matas cada surco con 3 semillas por mata.

Variables de Calidad física

Peso de 1000 semillas. Para la prueba del Peso de 1000 semillas se contaron ocho repeticiones de 100 semillas cada una, se pesó en gramos cada una de las repeticiones y se procedió a calcular la varianza, desviación típica y coeficiente de variación. Donde el criterio de decisión es que si el coeficiente de variación no excede de 4.0, se acepta el resultado de la prueba.

Contenido de humedad. Para la determinación del contenido de humedad se empleó el método de secado en estufa a 130 °C El procedimiento fue el siguiente: se pesó la caja y su tapa, se agregó 5 g de semilla entera de maíz, se tapó y se volvió a pesar. Una vez pesadas caja y semillas se colocó dentro de la estufa a 130 °C por un periodo de 4 horas. Después del periodo de secado se sacó las cajas de la estufa, se pesó y se calculó el contenido de humedad mediante la siguiente formula:

$$M2 - M3 \times 100 / (M2 - M1) = \% \text{ de humedad}$$

donde $M1$: peso en gramos de la caja y su tapa; $M2$: peso en gramos de la caja, tapa y semilla antes del secado; $M3$: peso en gramos de la caja, tapa y semilla después del secado en la estufa.

El experimento de las pruebas de calidad física y fisiológica se realizó en el Laboratorio de análisis de semillas.

Análisis estadístico

Para el análisis de datos de las PEA, PF y la germinación estándar, se utilizó el análisis de varianza

Physical quality variables

Weight of 1000 seeds. For this test, eight repetitions were counted of 100 seeds each; each repetition was weighed in grams and then the variance, typical deviation and coefficient of variation were calculated. The decision criterion is that if the coefficient of variation does not exceed 4.0, the result from the test is accepted.

Moisture content. For the determination of moisture content, the method of stove drying at 130 °C was used. The procedure was the following: the box and its lid was weighed, 5 g of whole maize seed were added, covered and weighed again. Once the box and seeds were weighed, they were placed in the stove at 130 °C for a period of 4 hours. After the drying period, the boxes were taken out of the stove, they were weighed and the moisture content was calculated with the following formula:

$$M2 - M3 \times 100 / (M2 - M1) = \% \text{ of moisture}$$

where $M1$: Weight in grams of the box and its lid, $M2$: Weight in grams of the box, lid and seed before drying, $M3$: Weight in grams of the box, lid and seed after drying in the stove.

The experiment of the physical and physiological tests was carried out in the Seed Analysis Laboratory.

Statistical analysis

The variance analysis (ANOVA) was used to analyze data of the AET, CT and standard germination test, for the variables of interest in each of the treatments; it was shown that the treatments have statistically significant effects on the mean of the variables. Therefore, the Tukey means comparison test (with $\alpha=0.05$) was carried out, to identify differences between treatments. The statistical analysis was carried out using the computer package Statistical Analysis System (SAS®), version 9.0.

For the test, "weight of 1000 seeds", calculations were carried out with the statistical software SPSS 15.0® for Windows®.

RESULTS AND DISCUSSION

The variance analysis (ANOVA) was carried out for each variable in the nine treatments. This allowed

(anova), para las variables de interés en cada uno de los tratamientos; se comprobó que los tratamientos tienen efectos estadísticamente significativos sobre la media de las variables. Por lo tanto se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey (con $\alpha=0.05$), para identificar en qué tratamientos hay diferencias. El análisis estadístico se realizó mediante el paquete computacional Statistical Analysis System (SAS®), versión 9.0.

Para la prueba “peso de 1000 semillas” se realizaron los cálculos con el software estadístico SPSS 15.0® para Windows®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza (anova) se realizó para cada variable en los nueve tratamientos. Esto permitió determinar que en todas las variables se tienen diferencias estadísticamente significativas en las medias de las variables que se deben a los tratamientos, pues se obtienen valores de alfa menores a 0.05 (Cuadro 2).

Para identificar el comportamiento del promedio de las variables en cada uno de los tratamientos se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey (Cuadro 3) Respecto a la longitud de planta. Los tratamientos generaron seis medias estadísticamente diferentes. Aquellas que tuvieron una mayor longitud de planta son los que recibieron el tratamiento de frío, sin importar la antigüedad de la semilla se observó en ellas una alta longitud de la planta, de 15.02 a 15.58 centímetros. Estos resultados muestran que los genotipos de maíz evaluados están adaptados al ambiente de la región de una zona con clima templado-frío y han aprovechado ventajosamente los estímulos

establishing that in all the variables there are statistically significant differences in the means of the variables due to the treatments, since alfa values lower than 0.05 were obtained (Table 2).

To identify the behavior of the average of variables in each of the treatments, the Tukey means comparison test was carried out (Table 3). Regarding length of the plant, the treatments generated 6 statistically different means. Those that had a greater plant length are the ones that received the cold treatment, and regardless the age of the seed, a high length of plant was observed in them, from 15.02 to 15.58 centimeters. These results show that the maize genotypes evaluated are adapted to the environment of the region of a zone with temperate-cold climate and have use advantageously the environmental stimuli, and they also show stability, which refers to the capacity of the genotypes to show a foreseeable behavior in function of the environmental stimulus (Gordon-Mendoza *et al.*, 2006).

Regarding the length of the coleoptile there are only two groups of treatments with different means, resulting in a better performance in the 3 CT treatments and AET 2015 (Table 2). The length of the mesocotyl is a characteristic that can be used as a selection criterion in genetic improvement to achieve high emergence of seedlings and to study the behavior of genotypes under different stress conditions and in their growth during adult stages. With greater length of the mesocotyl, there is higher speed of coleoptile growth (Maiti and Carrillo, 1989).

In relation of the length of root, it turned out that longer roots were obtained in 6 treatments (the seeds with cold test and the control), than in the rest of the

Cuadro 2. Anova de las variables en los nueve tratamientos que ilustra la diferencia de medias.

Table 2. ANOVA of the variables in the 9 treatments illustrating the differences in means.

Fuente de variación	GL	Longitud de plantula	Longitud de coleoptilo	Longitud de raiz	Peso de materia seca de plantula
Cuadrado Medio de la media					
Tratamientos	8	111.37	44.62	211.53	25 120 282
Error	171	8.54	3.29	20.79	494 626.2
Valor de F calculada					
		13.04	13.53	10.17	50.79
Valor de p					
Alpha=0.05		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.001
Coeficiente de Variación					
		23.27	29.76	33.67	12.72

GL: Grados de libertad. ♦ GL: Degrees of freedom.

Cuadro 3. Comparación de promedios de los caracteres de las semillas sometidas a los tratamientos.
Table 3. Means comparison of seed traits subjected to the treatments.

Tratamiento	Longitud de planta (cm)	Longitud de coleoptilo (cm)	Longitud de la raíz (cm)	Peso de materia seca de plantula (mlgrm)
PF 2015	15.58 A	7.575 A	15.30 A	2852.7 F
PF 2014	15.39 A	7.715 A	14.58 A	3035.7 F
PF 2013	15.02 A	7.625 A	14.55 A	2766.7 F
PEA 2015	12.79 AB	7.575 A	13.15 BA	8463.6 BA
TESTIGO 2014	12.74 BAC	5.630 B	16.69 A	6750.0 DC
TESTIGO 2015	11.41 BDC	5.260 B	15.20 A	9237.8 A
TESTIGO 2013	10.80 BDC	4.795 B	16.04 A	7313.5 BC
PEA 2013	9.88 DC	4.475 B	6.89 C	4073.0 FE
PEA 2014	9.44 D	4.285 B	9.52 BC	5266.7 DE
Diferencia significativa mínima en la media	2.903	1.805	4.531	1673.3
Alpha=0.05				
Repeticiones	20	20	20	4

Valores promedio con letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$). cm: centímetros, mlgrm: miligramos. ♦ Average values with different letters indicate statistically significant differences between treatments (Tukey, $p \leq 0.05$). cm: centimeters, mlgrm: milligrams.

del ambiente, también muestran estabilidad, la cual se refiere a la capacidad de los genotipos de mostrar un comportamiento previsible en función del estímulo ambiental (Gordon-Mendoza *et al.*, 2006)

Con respecto a la longitud del coleoptilo se tienen únicamente dos grupos de tratamientos con medias diferentes, resultando con mejor desempeño los tres tratamientos PF y el de PEA 2015 (Cuadro 2). La longitud del mesocótilo es una característica que puede ser utilizada como criterio de selección en el mejoramiento genético para lograr una alta emergencia de plántulas y para estudiar el comportamiento de los genotipos bajo diferentes condiciones de estrés y en su crecimiento en etapas adultas. A mayor longitud de mesocótilo, mayor rapidez de crecimiento del coleoptilo (Maiti y Carrillo, 1989).

En relación a la longitud de raíz, resultó que en seis tratamientos (las semillas con las pruebas de frío y los testigos) se obtuvieron raíces más largas que el resto de los tratamientos, Una raíz larga es mejor, pues indica que las plantas tendrán un buen porte y son de mejor vigor, una raíz con mayor longitud podría representar una ventaja en lugares donde los eventos de lluvia son escasos, ya que esto permite aprovechar mejor el agua a una mayor profundidad (Busso y Bolletta, 2007; Ervin *et al.*, 2009).

La prueba de frío es una prueba no estandarizada, sin embargo es considerada como la más importante

de los tratamientos. A longer root is better, since it indicates that the plants will have good bearing and better vigor; a root with greater length could represent an advantage in places where the rainfall events are scarce, since this allows taking better advantage of water at a deeper depth (Busso and Bolletta, 2007; Ervin *et al.*, 2009).

The cold test is a non-standardized test, however it is considered as the most important for the vigor of the maize seed (ISTA, 1981; AOSA, 1983).

The weight of the dry matter of the seedling is a variable that allows identifying the vitality of the plants and therefore the vigor of the seeds. It was found that the 2015 control manifested a greater weight, followed by AET 2015, the 2013 and 2014 controls, as well as AET 2014 (Table 3). The varieties that present a greater growth expressed in the total dry weight of the plant were considered tolerant to water deficit, which suggests a higher capacity of the plant to accumulate dry matter and consequently a greater growth speed (Espinosa *et al.*, 2015).

Habitually, the roots are more sensitive than the aerial part and the stems more than the shoots (Sung and Amasino, 2004). The length of the plant is a morphological trait that is determined by the cultivar (Alam *et al.*, 2007) and it is frequently influenced by environmental conditions (Tamm, 2003).

para el vigor de la semilla de maíz (ISTA, 1981 y AOSA 1983).

El peso de la materia seca de la plántula, es una variable que permite identificar la vitalidad de las plantas y por lo tanto del vigor de las semillas. Se obtuvo que el testigo 2015 manifestó un mayor peso, seguido por el PEA 2015, los testigos 2013 y 2014, así como el de PEA 2014 (Cuadro 3). Las variedades que presentan un mayor crecimiento expresado en peso seco total de la planta, se consideran tolerantes al déficit hídrico, lo que sugiere mayor capacidad de la planta para acumular materia seca y consecuentemente mayor velocidad de crecimiento (Espinosa *et al.*, 2015).

Habitualmente, las raíces son más sensibles que la parte aérea y los tallos más que las yemas (Sung y Amasino, 2004). La longitud de la planta es un carácter morfológico que está determinado por el cultivar (Alam *et al.*, 2007) y frecuentemente está influenciada por las condiciones ambientales (Tamm, 2003). El envejecimiento acelerado es una técnica utilizada para deteriorar la semilla en forma similar a la que ocurre en el proceso natural y es una de las pruebas fisiológicas que permite medir el vigor de manera representativa la cual es aplicable a una gran cantidad de cultivos. Esta técnica ocasiona deficiencias en el proceso metabólico llevado a cabo durante la germinación. La alteración de las membranas ocasionada por el envejecimiento puede llevar a diferentes cambios metabólicos, los cuales contribuyen en diferente medida al deterioro y a la pérdida de la semilla (Li *et al.*, 1996).

Si se analiza el vigor de las semillas que utilizan habitualmente los campesinos de Acambay (testigo 2015), se puede constatar que en las variables de peso de materia seca y longitud de raíz se obtienen las medias más altas, dando como resultado plantas vigorosas.

Contenido de humedad

Con base en el método de la estufa, se considera que las semillas tienen porcentajes de humedad por debajo de la humedad óptima (13 a 15% en cereales), lo que indica que no se tendrán rendimientos óptimos al sembrar esta semilla, siendo la semilla del ciclo 2015 la de menor humedad (Cuadro 4). Puesto que en la región de Acambay, el maíz almacenado generalmente cumple un doble propósito, al ser empleado como grano y semilla (Smale *et al.*, 1998), es importante disponer de un método que permita mantener

Accelerated ageing is a technique used to deteriorate the seed in a similar way than what happens in the natural process and it is one of the physiological tests that allow measuring the vigor in a representative way that is applicable to a large number of crops. This technique causes deficiencies in the metabolic process carried out during germination. The alteration of the membranes caused by ageing can lead to different metabolic changes, which contribute to a different degree to the deterioration and the loss of the seed (Li *et al.*, 1996).

If the vigor of the seeds that Acambay peasants habitually use (control 2015) is analyzed, it can be validated that the highest means are obtained in the variables of weight of dry matter and length of root, resulting in vigorous plants.

Moisture content

Based on the stove method, it is considered that seeds have moisture percentages below the optimal humidity (13 to 15% in cereals), which indicates that there will not be optimal yields when sowing this seed, with the seed from the 2015 cycle being the one of lowest humidity (Table 4). Since stored maize generally fulfills a double purpose in the region of Acambay, when being used as grain and seed (Smale *et al.*, 1998), it is important to have a method that allows maintaining the purity and low values of damaged seeds and moisture content for periods longer than nine months. This implies that the seed stored with the traditional methods would not be apt for sowing, for its germinability would be lower than the standard established by the SNICS, which is 85% (Flores, 2004). The detriment of seed germination in processes of deterioration is one of the last consequences, because there are physiological, biochemical and physical changes that take place previously, such as membrane degradation, decrease in respiration, decrease of germination rate, growth and development, heterogeneity, lower resistance of seedlings and, lastly, lower germination (Rodríguez, 1989).

Weight of 1000 seeds

The genotype of the 2015 cycle (Table 5) is of better quality because it has higher weight of 1000 seeds, so it is expected that there is better

la pureza y bajos valores de semilla dañada y de contenido de humedad por periodos mayores a nueve meses. Esto implica que la semilla almacenada con los métodos tradicionales no sería apta para siembra, pues su germinabilidad sería inferior al estándar establecido por el SNICS, que es de 85% (Flores, 2004). El detrimento de germinación de semillas en proceso de deterioro, es una de las últimas consecuencias; porque previamente suceden cambios fisiológicos, bioquímicos y físicos como la degradación de membranas, disminución de la respiración, baja de la tasa de germinación, crecimiento y desarrollo, heterogeneidad, menor resistencia de las plántulas y por último menor germinación (Rodríguez, 1989)

Peso de 1000 semillas

El genotipo del ciclo 2015, (Cuadro 5) es de mejor calidad porque tiene un mayor peso en 1000 semillas, por lo que se espera que tenga el mejor desarrollo al cultivarlo en campo. Cuando se determina el cálculo del peso de 1000 semillas, se puede obtener el número de semillas por kilogramo, lo cual es una información clave en las operaciones de vivero y para determinar el rendimiento de las plantas. Además de que el peso de la semilla está positivamente relacionado con la calidad de semilla (CATIE, 2000). Existe evidencia de que una demora en la polinización causa un incremento en el peso del grano (Borrás *et al.*, 2003; Uribebarrea *et al.*, 2007), a causa de una mayor acumulación de fotosintatos (Gambín *et al.*, 2006). Generalmente el cultivar influye sobre el peso de mil semillas (Soleymani y Shahrajabian, 2012). La calidad física del grano es mayor cuando el cultivo se desarrolla en ambientes con temperaturas frescas,

Cuadro 4. Porcentaje de humedad por el método de la estufa.
Table 4. Percentage of moisture resulting from the stove method.

Ciclo	Humedad promedio (%)
	Estufa
2013	11.73
2014	11.98
2015	10.65

development when growing it in the field. When the calculation of the weight of 1000 seeds is determined, the number of seeds per kilogram can be obtained, which is key information in greenhouse operations and to determine the yield of plants. Also, the weight of the seed is positively related to the quality of the seed (CATIE, 2000). There is evidence that a delay in pollination causes an increase in the weight of the grain (Borrás *et al.*, 2003; Uribebarrea *et al.*, 2007), because of a greater accumulation of photosynthates (Gambín *et al.*, 2006). In general, the cultivar influences the weight of 1000 seeds (Soleymani and Shahrajabian, 2012). The physical quality of the grain is higher when the crop develops in environments with cool temperatures, because the time for dry matter accumulation is longer and the soil moisture can be higher, since evapotranspiration is reduced (Copeland and McDonald, 1995).

Speed of emergence

The data was taken during 15 days after sowing, and as can be seen the 2015 cycle had the highest average of germination per day with 2.4 plants (Figure 1). The percentage of germination decreases when the harvest is carried out before physiological

Cuadro 5. Peso de 1000 semillas en gramos y su coeficiente de variación.

Table 5. Weight of 1000 seeds in grams and its coefficient of variation.

Ciclo	Peso de 1000 semillas (g)		Coeficiente de variación (%)		
2013	314.00		2.80		
2014	289.87		1.74		
2015	359.40		1.76		
	N	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
Año 2013	8	33.00	31.400	0.8799	0.774
Año 2014	8	29.96	28.9875	0.50522	0.255
Año 2015	8	36.70	35.940	0.6350	0.403
N válido (según lista)	8				

debido a que el tiempo para la acumulación de materia seca es mayor y la humedad en el suelo puede ser mayor, porque la evapotranspiración se reduce (Copeland y McDonald, 1995).

Velocidad de Emergencia

Los datos se tomaron durante 15 días después de la siembra, como se puede apreciar el ciclo 2015 tuvo el mayor promedio de germinación por día con 2.4 plantas (Figura 1). Disminuye el porcentaje de germinación cuando la cosecha se efectúa antes de la madurez fisiológica (George *et al.*, 2003), (por tanto con mayor contenido de humedad), lo cual probablemente se debe a que los tejidos que imparten la resistencia a daño mecánico no estaban plenamente desarrollados. (Hernández *et al.*, 2000) concluyeron que las variables de mayor peso para predecir el establecimiento en campo son el PSPA (Peso seco de la parte aérea) o VE (Velocidad de emergencia) respecto a calidad fisiológica. Varios agentes pueden influir en la expresión del vigor de la semilla en campo, principalmente la falta de humedad y profundidad de siembra, en calidad fisiológica los pesos secos de plántula tuvieron relevancia, sin embargo, los parámetros que explicaron el comportamiento en campo fueron el peso de 1000 semillas, longitud de semilla, velocidad de emergencia y peso seco de la parte aérea, la falta de humedad y la profundidad de siembra influyen en la emergencia (Pérez *et al.*, 2007). El vigor, se incrementa de manera proporcional a la obtención del peso seco (Delouche, 1976)

Uno de los conceptos más antiguos del vigor, indican que, en los lotes de semilla con germinación o emergencia total similar, generalmente varían en su velocidad de germinación y crecimiento. Muchos métodos para determinar la velocidad de emergencia han sido empleados. El número de días que un lote requiere para alcanzar 90% de germinación fue empleado como un índice de germinación de semillas.

CONCLUSIONES

Las pruebas de peso de 1000 semillas y velocidad de emergencia nos indican que el genotipo del ciclo 2015 es de mejor calidad y mejor vigor. En las pruebas de envejecimiento acelerado y prueba de frío, el tratamiento del ciclo 2015 sometido a la prueba de frío tuvo mejores resultados, la semilla que se evaluó

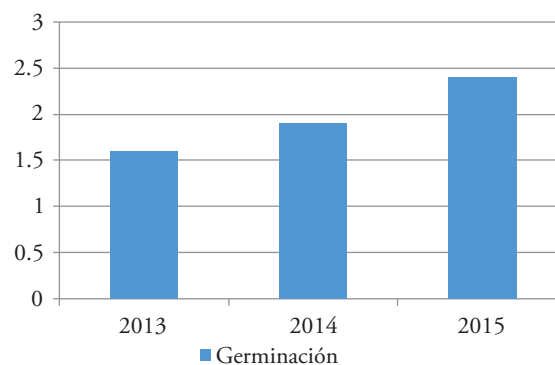


Figura 1. Velocidad de emergencia: tomada en campo en condiciones normales de cultivo de los ciclos 2013, 2014 y 2015.

Figure 1. Speed of emergence: taken in the field under normal growth conditions in the 2013, 2014 and 2015 season.

maturity (George *et al.*, 2003), and therefore with higher moisture content, which is probably because the tissues that have resistance to mechanical damage were not fully developed. Hernández *et al.* (2000) concluded that the variables of highest weight to predict the establishment in the field are the dry weight of the aerial part (PSPA, for its initials in Spanish) or speed of emergence (VE, for its Spanish initials) regarding the physiological quality. Several agents can influence the expression of seed vigor in the field, primarily the lack of moisture and depth of seed; the dry weights of seedlings were relevant in physiological quality, although the parameters that explained the behavior in the field were weight of 1000 seeds, seed length, speed of emergence, and dry weight of the aerial part; the lack of moisture and the depth of sowing influence the emergence (Pérez *et al.*, 2007). The vigor increases in proportion to obtaining the dry weight (Delouche, 1976).

One of the oldest concepts of vigor indicates that in the seed lots with similar germination or total emergence, seeds generally vary in their speed of germination and growth. Many methods have been used to determine the speed of emergence. The number of days that a lot requires to reach 90% of germination was used as a seed germination index.

CONCLUSIONS

The tests of weight of 1000 seeds and speed of emergence indicate that the genotype of the

y la que eligen los campesinos está adaptada a las condiciones climáticas de la región (una zona con clima frío).

LITERATURA CITADA

Alam, M. Z., S. A. Haider, and N. K. Paul. 2007. Yield and yield components of barley (*Hordeum vulgare* L.) in relation to sowing times. *J. Biol. Sci.* 15: 139-145.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (AOSA). 1983. Seed vigour testing handbook. Contribution No. 32 to the handbook (XI seed testing). 88 p.

Borrás, L., M. E. Westgate, y M. E. Otegui. 2003. Control of kernel weight and kernel number water relations by post-flowering source-sink ratio in maize. *Annals of Botany* 91: 857-867.

Burris, J. S. and Navratil, R. J. 1979. Relationship between laboratory cold-test methods and field emergence in maize inbreds. *Agronomy Journal* 71:985-988.

Busso C. A., and Bolletta A. I. 2007. Perennial grasses of different successional stages under various soil water inputs: Do they differ in root length density? *Interciencia* 32(3):206-212.

CATIE. 2000. Técnicas para la germinación de semillas forestales. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.

Copeland L. O., and McDonald M. B. 1995. Principles of seed science and technology. Ed. Chapman and Hall. USA. 409 p.

Cordero S. R. A. 1991. Efecto de estrés osmótico sobre la germinación de semillas de *Tecoma Stans* (Biononiaceae). *Rev. Biol. Trop.* 39 (1): 107-110.

Delouche, J. C. 1976. Seed maturation. Notes. Seed Technology Laboratory, Mississippi State University. Mississippi State, USA.

Espinosa P. N., Martínez S. J., Santos T. S. A., y Cadena I. P. 2015. Selección de variedades nativas de maíz (*Zea mays* L.) por su tolerancia a la germinación bajo presión osmótica. VI. Reunión Nacional de maíces nativos. *Acta Fitogenética*. Vol. 2 (1): 4.

Ervin, E. H., La-Branche A., and Zhang X. 2009. Kentucky bluegrass and creeping bentgrass responses to foliar application of glycinebetaine at three replacement levels. *International Turfgrass Society* 11:755-763.

Flores, H. A. 2004. Introducción a la Tecnología de las Semillas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 160 p.

Gambín, B. L., L. Borrás, and M. E. Otegui. 2006. Source-sink relations and kernel weight differences in maize temperature hybrids. *Field Crops Research* 95: 316-326.

George, D. L., Gupta M. L., Tay D., and Parwata I. G. M. A. 2003. Influence of planting date, method of handling and seed size on supersweet sweet corn seed quality. *Seed Sci. & Technol.* 31:351-366.

Gordon-Mendoza, R., Camargo-Buitrago I., Franco-Barrera J., y González-Saavedra A. 2006. Evaluación de la adaptabilidad y estabilidad de 14 híbridos de maíz, Azuero, Panamá. *Agronomía Mesoamericana* 17:189-199.

Hernández L., A., y Carballo C. A. 1997. Pruebas de germinación y vigor en semillas de maíz de diferentes áreas de adaptación. *Agrociencia*. 31(4):397-403.

2015 cycle is of best quality and best vigor. In the accelerated ageing and cold tests, the treatment of 2015 season subjected to the cold test had better results; the seed that was evaluated and the one that peasants choose is adapted to the climatic conditions of the region (a zone with cold climate).

—End of the English version—



Hernández G., A., Carballo C. A., Hernández L. A., y González C. F. V. 2000. Ponderación de variables de calidad fisiológica para la medición del vigor en semillas de maíz. *Rev. Fitotec. Mex.* 23:239-250.

ISTA (International Seed Testing Association). 1981. International Handbook of vigour test methods. Zurich. Switzerland.

ISTA (International Seed Testing Association). 2005. International rules for seed testing. *Seed Sci. Tech.* 27 (suppl).

Li, A., Herrera J., y Barboza R. 1996. Efecto del envejecimiento acelerado sobre la germinación y el vigor de la semilla de china sultani (*impatiens wallerana*) en almacigo. *Agronomía Costarricense* 20(2): 173-180.

Maiti R. K., and de J. Carrillo G. M. 1989. Effect of planting depth on seedling emergence and vigor in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Seed Sci. Technol.* 17(1):83-90.

S. F., Sahagún C. L., y Barrera G. E. 2009. Nuevo método de mejoramiento genético para resistencia a sequía en maíz. Universidad Autónoma Chapingo. Mimeógrafo.

Nishida, I., and Murata N. 1996. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47:541-568.

Olivares, A., Johnston M., y Fernandez G. 1990. Efecto de la temperatura en la germinación de siete especies de la pradera anual mediterránea y caracterización de su emergencia. *Simiente* 60:123-131.

Pérez de la Cerda, F. J., Córdova-Téllez L., Santacruz-Varela A., Castillo-González F., Cárdena-Soriano E., y Delgado-Alvarado A. 2007. Relación entre vigor inicial, rendimiento y sus componentes en poblaciones de maíz chalqueño. *Agricultura Técnica de México* 33:5-17.

Restrepo, H., Gómez M. I., Garzón A., Manrique L., Alzate F., López J., y Rodríguez A. 2013. Respuesta bioquímica de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes condiciones de temperaturas nocturnas. *Rev. Colombiana de Ciencias Hortícolas* . 7(2):252-262.

Rodríguez R. 1989. El control de calidad de semilla genética y básica. *In: Curso de mejoramiento de maíz con énfasis en resistencia a factores bióticos-abióticos y producción de semilla genética y básica*. San José de Escuintla. Guatemala. pp: 140-150.

Sierra, M. M., Palafox C. A. F., Rodríguez M., Espinosa C. A., Gómez M. N., Caballero H. F., Barrón F. S., Zambada M. A., y Vázquez C. G. 2008. H-520 híbrido trilineal de maíz para el trópico húmedo de México. *Agric. Téc. Méx.* 34:119-122.

- Smale M, A. Aguirre, M. Bellon, J. Mendoza, and I. Manuel R. 1998. Farmer Management of Maize Diversity in the Central Valleys of Oaxaca, Mexico. CIMMYT Economics Working Paper 99-09. CIMMYT. México D.F. 27 p.
- Soleymani, A., and M. H. Shahrajabian. 2012. Changes in seed yield and yield components of elite barley cultivars under different plant populations and sowing dates. *J. Food Agric. Environ.* 10: 596-598.
- Sulewska, H., Smiatacz K., Szymasnska G., Panasiewicz K., Bandurska H., and Glowicka-Woloszyn R. 2014. Seed size effect on yield quantity and quality of maize (*Zae mays* L.) cultivated in South Baltic region. *Zemdirbyste-Agriculture* 101:35-40.
- Sung, S., and Amasino R. M. 2004. Vernalization and epigenetics: how plants remember winter. *Current Opinion in Plant Biology.* 7:4-10.
- Tamm, Ü. 2003. The variation of agronomic characteristics of European malting barley varieties. *Agron. Res.* 1: 99-103.
- Turrent, F. A., Wise T. A., y Garvey E. 2012. Factibilidad de alcanzar el potencial productivo de maíz en México. Mexican Rural Development Research Report No. 24. Woodrow Wilson International Center for Scholars. pp: 1-36.
- Uribelarrea, M., J. Cárcova, L. Borrás, and M. E. Otegui. 2007. Enhanced kernel set promoted by synchronous pollination determines a tradeoff between kernel number and kernel weight in temperate maize hybrids. *Field Crops Research* 105: 172-181.
- Vilela-De Souza, T., Marque-Ribeiro C., Domingos-Scalon J., y Lisboa-Guedes F. 2014. Relação entre os componentes de produção e as características morfológicas de milho. *Magistra, Cruz das Almas* 26: 495-506.