

**CALIDAD FISIOLÓGICA DE SEMILLA Y DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE MAÍZ A
TEMPERATURAS BAJAS**

**PHYSIOLOGICAL SEED QUALITY AND MAIZE SEEDLING GROWTH AT LOW
TEMPERATURES**

Alfredo Josué Gámez Vázquez^{1, 2*}, Norma A. Ruiz Torres³, Froylán Rincón Sánchez³, Adalberto Benavides Mendoza⁴, Francisco Zavala García⁵ y Fernando Borrego Escalante³

¹ Campo Experimental Valle de Toluca, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km. 4.5 Vialidad A. López Mateos, Zinacantepec, Edo. de México. CP 51350, Tel. y Fax: 01 (722) 278 00 27, 01 722 278 43 31. ² Dirección actual: Departamento de Fitomejoramiento, UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315. Tel: 01 (844) 668 16 39. ³ Departamento de Fitomejoramiento, UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315. ⁴ Departamento de Horticultura, UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, C. P. 25315. ⁵ Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Carretera Zuazua – Marín Km. 17, Nuevo León.

**Autor para correspondencia*

RESUMEN

La adaptación del cultivo de maíz a siembras tempranas requiere de mejorar su tolerancia a bajas temperaturas, por lo que la semilla debe permitir altos porcentajes de germinación y emergencia, además de producir plántulas con un desarrollo vigoroso. El objetivo del presente trabajo fue identificar las variables que en las fases de semilla y plántula permiten una mayor tolerancia a bajas temperaturas en líneas e híbridos de maíz adaptados a los Valles Altos de México. Se evaluaron 17 materiales genéticos, 13 tolerantes y cuatro susceptibles, incluidos un híbrido del trópico y un sintético de condiciones templadas. Las temperaturas empleadas fueron 4, 8, 12 y 25 °C. Los materiales genéticos originarios de la zona de altura presentaron mayor tolerancia y tuvieron una respuesta similar con todas las temperaturas en el porcentaje de germinación, longitud y peso seco de plúmula y radícula; además de una mayor velocidad de emergencia. La radícula fue proporcionalmente menos afectada que la plúmula tanto en peso seco como en longitud por las bajas temperaturas. Existe un umbral de temperatura entre 4 y 8 °C, que provocó la recuperación de la germinación en los genotipos tropicales, los cuales no presentaron tolerancia constitutiva. Los resultados sugieren que la prueba de germinación a 8 °C puede considerarse como una prueba rápida para detectar la tolerancia a bajas temperaturas.

Palabras clave: *Zea mays* L, maíz, bajas temperaturas, semilla, germinación, peso seco, longitud, tolerancia.

SUMMARY

The maize adaptation to early sowing requires improving its tolerance to low temperatures, and the seed have to show high germination and emergence percentages, besides of producing vigorous seedlings. The objective of the research work was to identify the traits that in seed and seedlings phases allow higher tolerance to low temperatures, in lines and hybrids of maize adapted to México highlands. Seventeen genotypes were tested, 13 tolerant and four susceptible, including a tropical hybrid and a synthetic variety of a template region. The temperatures tested were 4, 8, 12 and 25°C. The highland genotypes showed a similar response at four temperatures tested in germination percentage, length and weight dry in plumule and radicle; besides a bigger speed emergency. The growth of radicle was less affected than the plumule in dry weight and length at low temperatures. There is a temperature threshold between 4 and 8°C that caused the recovery of germination in tropical genotypes, which did not show a constitutive tolerance. The results suggest that the germination test at 8°C could be considered like a laboratory quick test to detect the low temperatures tolerance.

Index words: *Zea mays* L, maize, low temperatures, seed, germination, dry weight, length, tolerance.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es una especie de origen tropical, catalogada como sensible a bajas temperaturas ya que puede morir con la exposición a cortos períodos de temperaturas cercanas a la de congelación, y no puede tolerar el hielo en sus tejidos. En México, durante los últimos 25 años, cerca de 260 mil hectáreas cultivadas con maíz son afectadas anualmente de forma total o parcial por bajas temperaturas (SIAP, 2005). Las entidades en donde este tipo de siniestros se presentan de forma constante son: Chihuahua, Puebla, Oaxaca, Hidalgo, Tlaxcala, Zacatecas y Estado de México, y principalmente en sitios donde la altitud es superior a los 2200 metros sobre el nivel del mar (msnm).

La adaptación de este cultivo a siembras tempranas requiere de mejorar su tolerancia a temperaturas subóptimas, especialmente en regiones altas sobre el nivel del mar, lo cual es particularmente importante durante las primeras fases del desarrollo. Por lo que, es necesario que la semilla tenga altos porcentajes de germinación y emergencia, además de producir plántulas con un desarrollo vigoroso bajo estas condiciones.

Cuando el cultivo es sometido a bajas temperaturas crece lentamente (Fryer *et al.*, 1998; Leipner *et al.*, 1999) y se origina un estrés que influye en la composición de ácidos grasos, fluidez de membranas celulares, tasa de actividad metabólica (Nishida y Murata, 1996), pérdida de solutos celulares, reducido transporte a través del plasmalema, disfunción de la respiración mitocondrial, inducción de altos niveles de especies activas de oxígeno (EAO), ácido indolacético (AIA), ácido abscísico y oxidasas, además de modificaciones en la composición de las proteínas de las membranas celulares (Nie y Baker, 1991; Robertson *et al.*, 1993; Anderson *et al.*, 1994), especialmente en los puntos de crecimiento y con elevadas divisiones celulares.

Al elevarse el proceso de respiración en la mitocondria, en presencia de luz y con la inducción del cierre de estomas, la producción de EAO puede provocar un daño fotooxidativo importante, en presencia de bajas temperaturas, dicho daño se acentúa en el epicotilo de las plántulas, lo que provoca que se incremente la relación raíz/parte aérea

(Richner *et al.*, 1996) y se afecte el área foliar en plántulas de maíz sometidas a estrés por bajas temperaturas.

En condiciones de campo, las bajas temperaturas durante las primeras horas del día, provocan un estrés que puede incluso reducir drásticamente la germinación y emergencia a través del daño oxidativo a las membranas y muerte celular. Los primeros síntomas visibles en el área foliar van desde el amarillamiento hasta una apariencia de “sobrehidratación”, con la pérdida posterior de turgencia y una rápida desecación al de las hojas al exponerse a la radiación solar (Stushnoff *et al.*, 1984).

En general, las plantas presentan una respuesta característica a las bajas temperaturas y esta relacionada con su habilidad para aumentar su tolerancia a dicha condición ambiental, lo anterior, como respuesta a un periodo previo de temperaturas bajas (Browse y Xin, 2001). Esta habilidad no es una característica genética que se manifieste de forma constitutiva durante todo el ciclo del cultivo, sino que es inducida por la presencia de bajas temperaturas o bien, a través del preacondicionamiento en respuesta a temperaturas menores a 10 °C, este fenómeno es conocido como “aclimatación o respuesta de endurecimiento a bajas temperaturas” (Thomashow, 1998; Fracheboud *et al.*, 1999).

La relación entre las respuestas a temperaturas subóptimas y otras funciones celulares han sido estudiadas comparando plántulas aclimatadas y no aclimatadas (Anderson *et al.*, 1994; 1995; Prasad *et al.*, 1994a, 1994b, 1995; Prasad, 1996; 1997), o combinando genotipos de diferentes orígenes con una tolerancia diferencial en varias fases del desarrollo. Sin embargo, la tolerancia a bajas temperaturas de líneas endogámicas de maíz aún no se define si es o no un buen estimador del comportamiento de los híbridos en los que participa (Maryam y Jones, 1983; Hodges *et al.*, 1997; Revilla *et al.*, 2000).

Guy *et al.* (1985) establecieron que durante la aclimatación a bajas temperaturas ocurren cambios en la expresión de genes, por lo que se han tratado de identificar los genes responsables y su papel en dicha aclimatación. La idea es que existen muchos genes asociados con los cambios químicos, fisiológicos, fenológicos y anatómicos requeridos para el crecimiento y desarrollo en bajas temperaturas, por lo que la respuesta

de las plántulas es diferente y la importancia de las variables dependerá de las condiciones ambientales particulares de cada caso.

Las plantas tolerantes a temperaturas subóptimas, después de haber sido preacondicionadas, han mostrado una mayor actividad fotosintética, un mayor contenido de clorofila, mayor cociente de clorofila a/b, mayor contenido de carotenoides, así como diferencias en el perfil de composición de los mismos, que muestran reversibilidad en los genotipos tolerantes al volver la planta a un entorno favorable. Estas características le confieren un aparato fotosintético más vigoroso a las plantas tolerantes, en comparación con las sensibles (Haldimann, 1999), por lo que estas variables pueden ser consideradas como criterios de selección de genotipos tolerantes a bajas temperaturas.

Entre los mecanismos de tolerancia a bajas temperaturas destaca la acumulación de enzimas antioxidantes (Pastori *et al.*, 2000), solutos crioprotectores (Massardo *et al.*, 2000), un flujo cíclico de electrones en el fotosistema I (Ducruet *et al.*, 2005), la eficiencia en el transporte de electrones en el fotosistema II y la disipación de energía, así como la capacidad enzimática para mantener altas tasas de reacción en el ciclo de Calvin – Benson (Fracheboud *et al.*, 1999) en los materiales tolerantes.

Hodges *et al.* (1995; 1997) y Revilla *et al.* (1998) indicaron que la habilidad para germinar y sobrevivir en temperaturas bajas son características deseables, pero estas aptitudes, no aseguran un vigor temprano. Hodges *et al.* (1997) establecieron que en la mayoría de los estudios asociados con la tolerancia a bajas temperaturas se evalúa la emergencia de plántulas de manera independiente, ya sea en el laboratorio o en el campo, pero no en ambos.

Los criterios para la selección de genotipos tolerantes a bajas temperaturas son variados y complejos de evaluar ya que requieren condiciones controladas, equipo y laboratorios equipados que de forma coordinada permitan identificar los genotipos tolerantes en campo.

Las dificultades para la evaluación de la tolerancia a bajas temperaturas con datos de campo, están asociadas con la variabilidad que puede ocurrir en el ambiente. Diferentes

años pueden tener patrones contrastantes de temperatura durante el período de evaluación y esto puede contribuir con grandes diferencias año con año. De forma similar, las diferencias en la duración e intensidad, aun con poca exposición a temperaturas subóptimas, podría resultar en diferentes respuestas de las plantas. Aunque varios estudios han estandarizado los procedimientos, pocos han explorado las variables y el tiempo de exposición a las bajas temperaturas (Anderson *et al.*, 2003).

Con un suministro adecuado de agua, la tolerancia a bajas temperaturas en el proceso de germinación y desarrollo de plántulas permite un mayor ciclo de desarrollo del cultivo y una reducción en los riesgos de la producción, debido a la presencia de heladas tempranas al final del ciclo en el Valle de Toluca – Atlacomulco. El objetivo del presente trabajo fue identificar las variables que en las fases de semilla y plántula permiten una mayor tolerancia a bajas temperaturas en líneas e híbridos de maíz adaptados a regiones de Valles Altos en México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético

En el presente trabajo se utilizaron cuatro líneas progenitoras de los híbridos H-52 (M-43 y M-44) y H-68 (M-60E y M-61E) desarrolladas en el valle de Toluca – Atlacomulco, Estado de México, con temperaturas bajas. Se incluyeron combinaciones genéticas obtenidas entre estos materiales y cinco testigos, dando un total de 17 materiales genéticos (Cuadro 1). La semilla de dichos materiales se obtuvo en el ciclo de producción agrícola (primavera – verano 2004) en Metepec, Edo. de México. Los materiales tolerantes han sido descritos y evaluados por su rendimiento y otras características en el Valle de Toluca – Atlacomulco y cuyos resultados han sido presentados en reuniones científicas (Aguilar y Ávila 2002¹; Ávila 2002²; Gámez *et al.*, 2002³). Las características

¹ Aguilar F P y M A Ávila P (2002) Evaluación de variedades de maíz en diferentes intensidades de labranza. Memoria XIX Congreso de SOMEFI, Saltillo Coah. pp: 289.

² Ávila P M A (2002) Rendimiento y calidad de semilla de maíz en función de la fertilidad y la densidad de población. Memoria XIX Congreso de SOMEFI, Saltillo Coah. pp: 221.

³ Gámez V A J, C Ortiz T, C Mejía A, F Rivero G, A Laguna C, M de la Cruz E, M Mora S, S O Colin B, A Moreno A y F Orozco T (2002) Tecnología Agropecuaria y Forestal para el Estado de México. Memoria XIX Congreso de SOMEFI, Saltillo Coah. pp: 31.

ambientales del Valle de Toluca – Atlacomulco han sido reportadas por Ortíz *et al.* (2002⁴) y Gámez *et al.* (2002³). Los híbridos experimentales fueron evaluados para rendimiento y adaptación en ambientes similares en el estado de Tlaxcala (María *et al.*, 2003).

Evaluaciones

La semilla de cada material genético se expuso a cuatro condiciones de temperatura: 4, 8, 12 y 25°C, en el laboratorio de Ensayo de Semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, el 28 de febrero, 4 de marzo, 8 de junio y 31 de junio del 2005, respectivamente. En los tratamientos de 4, 8 y 12°C, la semilla se introdujo en una cámara fría durante siete días, usando las temperaturas de acuerdo a los tratamientos establecidos; posteriormente, la semilla se puso a germinar durante otros seis días a una temperatura de 25°C. Ambas cámaras se calibraron y se registro con termómetros digitales (Hi131ch Hanna Inst. México, D. F.). La evaluación se realizó siguiendo los procedimientos propuestos por la International Seed Testing Association (ISTA, 2004) para pruebas de germinación, excepto en el número de semillas, que en este caso se utilizaron 100 (cuatro repeticiones de 25 semillas). Las pruebas se establecieron en ausencia de luz, con la finalidad de considerar solamente el efecto de las bajas temperaturas. Las semillas se sembraron en toallas de papel como sustrato y depositadas en bolsas de polietileno.

La primera estimación del porcentaje de germinación se realizó al cuarto día en la cámara de crecimiento; al sexto día se evaluaron además de la germinación, la longitud y peso seco tanto de la plúmula como de la radícula. El experimento se estableció bajo diseño completamente al azar con un arreglo factorial 17 x 4, correspondiente a los materiales genéticos (τ_j) y ambientes de evaluación (α_i); el modelo lineal utilizado fue: $\gamma_{ij} = \mu + \alpha_i + \tau_j + \alpha\tau_{ij} + \varepsilon_{ijk}$. Con los mismos genotipos, se estableció un experimento en invernadero el 27 de Agosto de 2005 para evaluar su vigor a través de la velocidad de emergencia (Maguire, 1962) bajo condiciones de riego, utilizando un sustrato de peat

⁴ Ortíz T C, A J Gámez V, M A Ávila P y P Aguilar F (2002) Potencial productivo para maíz en el Valle Toluca – Atlacomulco. Memoria XIX Congreso de SOMEFI, Saltillo Coah. pp: 287.

moss, perlita y vermiculita en una relación 4:1:1 (v/v). La siembra se realizó a una profundidad de 7 cm, bajo un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones, con una unidad experimental de 25 semillas por repetición. El registro de los datos se inició cuatro días después de la siembra, a las 11:00 horas de cada uno de los días de evaluación, concluyendo a los 13 días después de la siembra. El índice de velocidad de emergencia se estimó como sigue:

$$IVE = \sum (Plántulas \text{ Emergidas al } i\text{ésimo día} / \text{Número de días después de la siembra})$$

Análisis estadístico

En cada uno de los experimentos, las pruebas de hipótesis se realizaron a través de los análisis con base en el modelo lineal asociado al diseño experimental. Se realizó un análisis de componentes principales con la finalidad de explorar la variación de los materiales en estudio, así como para corroborar la clasificación previa de los mismos (Cuadro 1). Se hizo el análisis de regresión para los materiales genéticos a través de las temperaturas evaluadas. Los análisis estadísticos fueron realizados siguiendo los procedimientos PROC GLM, PROC PRINCOMP y PROC REG de SAS (SAS, 1999), considerando un modelo de efectos fijos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de dispersión

Como resultado del análisis de componentes principales (Figura 1) se encontró una respuesta de los materiales genéticos al ser sometidos a los diferentes tratamientos de temperatura. Al respecto, el 85.2 % de la varianza total se pudo explicar con tres componentes y con el análisis de los dos primeros componentes, que justifican el 75.2% de la varianza, se confirmó la clasificación inicial de tolerantes y susceptibles a bajas temperaturas (Cuadro 1).

En la Figura 1 se presenta la distribución de los materiales genéticos de acuerdo a su comportamiento en los cuatro diferentes ambientes, observándose que el H-516, M-44 y M-61 (genotipos *p*, *b* y *h*, respectivamente) se encuentran distribuidos y formando un grupo aparte, correspondiente a los materiales susceptibles a las bajas temperaturas. El comportamiento del H-516 se debe a que este material no fue mejorado para este tipo de

condiciones ambientales, lo anterior coincide con Madakadze *et al.* (2003) quienes definieron que la presión ecofisiológica es un factor determinante para la tolerancia a bajas temperaturas.

Los grupos de los materiales tolerantes y susceptibles se pueden incluso separar en dos subgrupos bien definidos, donde las temperaturas de 25 y 4 °C separan el comportamiento de los mismos materiales genéticos, agrupándolos principalmente en los cuadrantes III y IV (Figura 2). En tanto que las temperaturas correspondientes a los tratamientos de 8 y 12 °C se ubican en los cuadrantes I y II. Lo que define la diferencia entre los dos grupos es la alta frecuencia de semillas muertas, mayor peso seco y longitud de plúmula en los tratamientos de 8 y 12 °C, contrario al grupo de los tratamientos de 4 y 25 °C.

Es importante destacar que los materiales fueron fundamentalmente clasificados por su tolerancia a bajas temperaturas con el primer componente principal, que ubicó a los materiales de susceptibles a tolerantes, distribuidos de izquierda a derecha de la Figura 1, e incluso, de forma general se puede definir que en ese orden se ubicaron: el testigo susceptible tropical (H-516, *p*), líneas progenitoras macho (*b* y *h*), el testigo susceptible de Bajío (Sintético -1, *q*), líneas progenitoras hembra (*a* y *g*), las retrocruzas (*e*, *f*, *k* y *l*), las poblaciones F_2 (*d* y *j*) y finalmente los materiales genéticos productos de la hibridación (*c*, *i*, *n*, *o* y *m*), así como el testigo criollo, clasificados estos últimos como los más tolerantes a bajas temperaturas.

En el análisis factorial de los experimentos desarrollados en laboratorio, se encontraron diferencias estadísticas ($p \leq 0.01$) entre los ambientes de evaluación, los materiales genéticos y la interacción genotipo x ambiente; es decir, las cuatro temperaturas de evaluación (25, 12, 8 y 4 °C) fueron lo suficientemente contrastantes como para permitir que los genotipos manifestaran un comportamiento diferencial entre ellos en cada una de las variables evaluadas.

Interacción genotipo – ambiente

Respecto al porcentaje de germinación de cada material genético, se encontró una respuesta contrastante entre los genotipos desarrollados y con origen en la localidad de Metepec, (Cuadro 1) y los testigos susceptibles de trópico y bajío, lo cual se observa en la Figura 3, donde la línea hembra M-43 presentó una respuesta similar en las cuatro temperaturas, superando estadísticamente ($p \leq 0.01$) a la línea macho M-44 e incluso a la cruza simple M-43 x M-44. Ésta última cruza simple muestra una recuperación de la germinación a los 4 °C, que se podría atribuir a su mayor capacidad de inducir la respuesta de tolerancia, asociada probablemente con el comportamiento de su línea hembra (M-43), que mostró una tolerancia constitutiva a las bajas temperaturas. En contraste, el H-516 mostró inicialmente una reducción de su germinación; la cual recuperó posteriormente, lo que puede estar asociado con una inducción de la tolerancia promovida por el tratamiento de 4 °C que indujo la respuesta genética. Sin embargo, el grado de recuperación no superó a la línea M-44 clasificada también como susceptible. En el caso de los híbridos (H-516 y M43 x M44) existe una temperatura entre los 8 y 4 °C, que desencadena una respuesta de sobrevivencia a las bajas temperaturas, lo que coincide con lo reportado por Thomashow (1998) y Fracheboud *et al.* (1999) quienes encontraron que la aclimatación a bajas temperaturas puede lograrse en respuesta a temperaturas menores a los 10 °C. Este mismo fenómeno no es tan evidente con las líneas en cuestión, las cuales tienden a tener una respuesta más uniforme, probablemente asociada a que fueron desarrolladas en valles altos donde la presencia de bajas temperaturas es común.

Un caso diferente se presentó con las líneas progenitoras de la cruza M60 x M61 (Figura 4), en donde la línea hembra M-60, fue superada por la cruza simple y por el testigo H-52, es decir, el vigor híbrido permitió una respuesta numéricamente mayor que incluso el mejor progenitor. Aquí mismo se puede observar que al igual que en el caso anterior, la línea macho M61 fue el progenitor mas susceptible a las bajas temperaturas, ya que fue el mayormente afectado por las bajas temperaturas, al ser comparado con los materiales tolerantes. En el análisis de la respuesta a los tratamientos de temperatura subóptima de los dos híbridos y sus líneas progenitoras (Figuras 3 y 4) destaca que en ambos casos la expresión de la respuesta asociada al progenitor hembra, quien confiere la tolerancia a bajas temperaturas en la semilla de maíz, lo que coincide con Pesev (1970), Eagles

(1982) y Cano *et al.* (2000) quienes asocian esta respuesta con la doble contribución materna determinada durante el proceso de la fecundación y sus implicaciones en la calidad y cantidad del endospermo de la semilla.

En un análisis realizado (datos no incluidos) sobre los porcentajes de semillas muertas, longitud de plúmula y radícula; así como el peso seco de estas últimas en cada uno de los genotipos, se encontró que el mayor daño lo manifestaron los testigos (H-516 y Sintético-1), procedentes de zonas ecológicas diferentes a los Valles de gran altura (2500 a 2700 msnm), seguidos por las líneas machos de los respectivos híbridos en la evaluación (M-44 y M-61). En tanto que el mejor comportamiento fue el del H-52 que superó al criollo regional y la mejor línea fue la M-43 de forma consistente en las temperaturas de evaluación. Por lo que los genotipos mejor adaptados a las bajas temperaturas mostraron un reducido daño, mayores porcentajes de germinación, longitud y peso seco tanto de la plúmula como de radícula.

Impacto general de las bajas temperaturas

En la Figura 5, se observa que las bajas temperaturas provocaron una reducción de la germinación (95 a 85 %), conforme se redujo la temperatura de 25 a 8°C; lo que coincide con lo reportado por Stushnoff *et al.* (1984), Hodges *et al.* (1995, 1997) y Revilla *et al.* (1998), quienes asocian las bajas temperaturas con un daño oxidativo a las membranas y muerte celular. La germinación presentó una recuperación (91 %) cuando los materiales genéticos fueron sometidos a 4°C, lo cual puede tener una explicación en la inducción de la acumulación de compuestos antioxidantes (Pastori *et al.*, 2000), que probablemente permitieron recuperar buena parte del porcentaje de germinación original mostrado en 25°C. Por otro lado, al comparar las fechas de evaluación (4° y 6° día), no se encontraron diferencias estadísticas a 25, 12 y 8°C (Figura 5); por lo que la evaluación de la germinación a 8°C puede formar parte de una prueba rápida para detectar materiales genéticos tolerantes o sobresalientes a bajas temperaturas.

La variable que explica la reducción en la germinación por bajas temperaturas es el porcentaje de semillas muertas de los materiales genéticos susceptibles (Figura 6); la cual

se elevó al reducir la temperatura de 25 a 8 °C con 1.8 a 11.4 %, respectivamente. El efecto de las bajas temperaturas fue mayor al reducir la temperatura de 25 a 12 °C (7.2 %) y aunque es evidente en 8 °C, el incremento en el daño fue menor en esta variable, presentándose incluso una recuperación generalizada (4.2 %) de todos los genotipos al ser sometidos a 4 °C. En esta variable no se detectaron diferencias estadísticas importantes al ser evaluada a los 4 o 6 días de desarrollo en la cámara de germinación a ninguna de las temperaturas de evaluación. Lo que permitiría la posibilidad de evaluar esta variable tanto a los 4 como a los 6 días de desarrollo en dicha cámara (Figura 5).

En cuanto a las variables de peso seco de plántula y considerando la temperatura de 12 °C como testigo, el mayor efecto que las bajas temperaturas tuvo de forma generalizada en todos los genotipos fue reducir la longitud (datos no incluidos) y peso seco de plúmula y radícula (Figura 7), especialmente cuando la temperatura se redujo a más de 8 °C, la cual es considerada como la temperatura base para dicho cultivo. En ambas variables los tratamientos de 12 y 8 °C fueron similares, superando estadísticamente ($p \leq 0.01$) a los tratamientos de 4 y 25 °C. Al respecto, Fryer *et al.* (1998) y Leipner *et al.* (1999) reportan una reducida tasa de actividad en la planta por temperaturas menores a la temperatura base.

La longitud y peso seco de la radícula fueron afectadas en menor proporción que las de la plúmula, en este sentido Richner *et al.* (1996) reportan que esta es la causa principal de que se incremente la relación raíz – parte aérea en las plantas desarrolladas a bajas temperaturas.

El índice de velocidad de emergencia de los materiales mostró de forma general una respuesta similar en todos los materiales genéticos (Figura 8), sin embargo, se puede apreciar que también los materiales tolerantes M60 x M6 y M43 x M44, superaron a sus respectivas líneas progenitoras hembra debido a un vigor híbrido, con índices entre 12 y 18. Los materiales susceptibles H-516 y las líneas progenitoras macho (M44 y M61) de las cruza simples se ubicaron con los menores índices de velocidad de emergencia (valores entre 0 y 11). La respuesta de los testigos adaptados a bajas temperaturas fue similar al presentarse el H-52 como el testigo de mayor vigor, seguido del VS-46 y del criollo de

valles altos (índices superiores a 18), los cuales son materiales comerciales que superaron en vigor y adaptación a las cruzas simples y sus progenitores. Este comportamiento pudiera asociarse con la expresión de la respuesta bajo condiciones de campo, especialmente en las fases tempranas del establecimiento y desarrollo del cultivo, como lo señalan Tiryaki y Andrews (2001) en un estudio donde se compara el comportamiento bajo condiciones controladas y de campo.

CONCLUSIONES

Las semillas embebidas y expuestas a bajas temperaturas reducen el porcentaje de germinación a través de elevar el número de semillas muertas y en plántulas jóvenes se reduce la longitud y peso seco de plúmula y radícula.

El comportamiento superior de los materiales tolerantes fue similar a través de las diferentes temperaturas, probablemente debida a una respuesta constitutiva de los genes de tolerancia a bajas temperaturas.

Existe variación genética en la respuesta de tolerancia a las bajas temperaturas entre los materiales evaluados debida a la respuesta de los mismos y a las combinaciones genéticas entre ellos.

Existe un umbral de temperatura que provocó la recuperación de la germinación en los materiales susceptibles a bajas temperaturas, ubicado entre los 4 y 8°C, debido probablemente a una inducción en los mecanismos de tolerancia en las plántulas.

Ensayos de germinación en 8°C permiten clasificar materiales tolerantes en una prueba rápida de evaluación en laboratorio que requiere poco tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean manifestar su agradecimiento y reconocimiento al CONACyT, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, INIFAP e ICAMEX quienes financiaron este trabajo de investigación, así como a los MC. José Roberto A. Dorantes, MC. Francisco Cárdenas R y MC. Miguel Ávila P por su apoyo para el desarrollo del mismo.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson J A, Ch M Taliaferro and D L Martin (2003) Longer exposure durations increase freeze damage to turf bermudagrasses. *Crop Science*. 43: 973 – 977.
- Anderson M D, T K Prasad and C S Stewart (1995) Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol*. 109: 1247 – 1257.
- Anderson M D, T K Prasad, B A martin and C R Stewart (1994) Differential gene expression in chilling-acclimated maize seedlings and evidence for the involvement of abscisic acid in chilling tolerance. *Plant Physiol*. 105: 331 – 339.
- Browse J y Z Xin (2001) Temperature sensing and cold acclimation. *Current Opinion in Plant Biology* 4: 241 – 246.
- Cano R P, G Ramírez R, J Ortegón P, J H Esparza M y S Rodríguez H (2000) Análisis dialéctico para vigor de semilla en melón. *Agrociencia* 34 (3): 337 – 342.
- Ducruet JM, M Roman, M Havaux, T Janda y A Gallais (2005) Cyclic electron flow around PSI monitores by afterglow luminescence in leaves of maize inbred lines (*Zea mays* L.): correlation with chilling tolerance. *Planta* 221:567-579.
- Eagles H A (1982) Inheritance of emergence time and seedling growth at low temperatures in four lines of maize. *Theor. Appl. Genet*. 62: 81 – 87.
- Fracheboud Y, P Haldimann, J Leipner and P Stamp (1999) Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *J. Exp. Botany* 50: 1533 – 1540.
- Fryer M J, R A James, K Oxborough, D A Blowers and N R Baker (1998) Relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport, and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. *Plant Physiol*. 116: 571 – 580.
- Guy C L, K J Niemi and R Brambl (1985) Altered gene expression during cold acclimation of spinach. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 3673 – 3677.
- Haldimann P (1999) How do changes in temperature during growth affect leaf pigment composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in sensitivity to low temperature? *J. of Exp. Bot.* 50 (333): 543 – 550.
- Hodges D M, R I Hamilton and C Charest (1995) A chilling response test for early phase maize. *Agron. J.* 87: 970 – 974.

- Hodges D M, C J Andrews, D A Johnson and R I Hamilton (1997) Antioxidant enzyme and compound responses to chilling stress and their combining abilities in differentially sensitive maize hybrids. *Crop Science*. 37: 857 – 863.
- International Seed Testing Association (2004) International rules for seed testing. Switzerland.
- Leipner J, Y Fracheboud and P Stamp (1999) Effect of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defenses in two maize genotypes of different chilling tolerance. *Envir. Exp. Bot*: 42: 129 – 139.
- Maguire J D (1962) Speed of germination: AID in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci*. 2: 176 – 177.
- Madakadze I C, K A Stewart, R M Madakadze and D L Smith (2003) Base temperatures for seedling growth and their correlation with chilling sensitivity for warm season. *Crop Science*. 43: 874 – 878.
- Maria R A, I Rojas, M A Avila P y A J Gámez V (2003) Producción de maíz de temporal en el Estado de Tlaxcala. Folleto para productores No. 3. SAGARPA. INIFAP. Tlaxcala, Tlax. pp: 16.
- Maryam B and D A Jones (1983) The genetics of maize (*Zea mays* L.) growing at low temperatures. I. Germination of inbred lines and their F1s. *Euphytica* 32: 535 – 542.
- Massardo F, L Corcuera and M Alberdi (2000). Embryo physiological responses to cold by two cultivars of oat during germination. *Crop Science*. 40: 1694 – 1701.
- Nie G Y and N R Baker (1991) Modifications to thylakoid composition during development of maize leaves at growth temperatures. *Plant Physiol*. 95: 184 –191.
- Nishida I and N Murata (1996) Chilling sensitivity in plants and cyanbacteria: the crucial contribution of membrane lipids. *Annu. Rev. of Plant Physiol. and Plant Mol. Biol*. 47: 541 – 568.
- Pastori G, C H Foyer and P Molineaux (2000) Low Temperature-induced changes in the distribution of H₂O₂ and antioxidants between the bundle sheath and mesophyll cells of maize leaves. *J. Exp. Bot*. 51(342): 107 – 113.
- Pesev N V (1970) Genetic factors affecting maize tolerance to low temperatures at emergence and germination. *Theor. Appl. Genet*. 40: 351 – 356.
- Prasad T K, M D Anderson, and C R Stewart (1994a) Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. *Plant Physiol*. 105: 619 – 627.

- Prasad T K, M D Anderson, B A Martin and C R Stewart (1994b) Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell* 6: 65 – 74.
- Prasad T K, M D Anderson and C R Stewart (1995) Localization and characterization of peroxidases in the mitochondria of chilling acclimated maize seedlings. *Plant Physiol.* 108: 1597 – 1605.
- Prasad T K (1996) Mechanism of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance in developing maize seedlings: changes in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids, and protease activities. *Plant J.* 10: 1017 – 1026.
- Prasad T K (1997) Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings. *Plant Physiol.* 114: 1369 – 1376.
- Revilla P, R A Malvar, M E Cartea, A Butrón and A Ordás (2000) Inheritance of cold tolerance at emergence and during early Season growth in maize. *Crop Science* 40: 1579 – 1585.
- Revilla P, R A Malvar, M E Cartea and A Ordás (1998) Identifying open-pollinated populations of field corn as sources of cold tolerance for improving sweet corn. *Euphytica* 101: 239 – 247.
- Richner W, A Soldati and P Stamp (1996) Shoot-to-root relations field-grown maize seedlings. *Agron. J.* 88: 56 – 61.
- Robertson E J, N R Baker and M R Leech (1993) Chloroplast thylakoid protein changes induced by low growth temperature in maize revealed by immunocytology. *Plant Cell Environ.* 16: 809 – 818.
- Statistical Analysis System (1999) SAS on line Doc. Version 8. SAS Institute, Inc. Cary, NC, USA.
- Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera (2005) Anuario Agrícola y Pecuaria 1980 – 2004. SAGARPA, México D. F. en medio magnético.
- Stushnoff C, D B Fowler and A Brule-Babel (1984) Breeding and selection for resistance to low temperature. *In* P. B. Vose (ed.) *Plant Breeding - A contemporary basis.* Pergamon Press, Oxford. pp 115 – 136.
- Thomashow M F (1998) Role of cold – responsive genes in plant freezing tolerance. *Plant Physiol.* 119: 1 – 7.
- Tiryaki I and D J Andrews (2001) Germination and seedling cold tolerance in sorghum: I. Evaluation of rapid screening methods. *Agron. J.* 93: 1386 – 1391.

Cuadro 1. Genealogía y clasificación del material genético en estudio, por su adaptación a bajas temperaturas.

Identificación	Genealogía	Origen[†]	Clasificación^{††}
a	M – 43	Met – 2004	Tolerante
b	M – 44	Met – 2004	Susceptible
c	(M – 43 x M – 44)	Met – 2004	Tolerante
d	(M – 43 x M – 44) F ₂	Met – 2004	Tolerante
e	(M – 43 x M – 44) x M – 43	Met – 2004	Tolerante
f	(M – 43 x M – 44) x M – 44	Met – 2004	Tolerante
g	M – 60 E	Met – 2004	Tolerante
h	M – 61 E	Met – 2004	Susceptible
i	(M – 60 x M – 61)	Met – 2004	Tolerante
j	(M – 60 x M – 61) F ₂	Met – 2004	Tolerante
k	(M – 60 x M – 61) x M – 60	Met – 2004	Tolerante
l	(M – 60 x M – 61) x M – 61	Met – 2004	Tolerante
m	H – 52 (Testigo regional)	Met – 2004	Tolerante
n	VS – 46 (Testigo regional)	Met – 2004	Tolerante
o	Criollo (Testigo regional)	Met – 2004	Tolerante
p	H-516 (Testigo del Trópico)	Ig - 2004	Susceptible
q	Sintético– 1 (Testigo de Bajío)	Tep– 03/04	Susceptible

[†] Materiales genéticos desarrollados e incrementados en Met = Metepec, Estado de México; Ig = Iguala, Guerrero y Tep = Tepalcingo, Morelos. ^{††} Clasificación por su respuesta a bajas temperaturas

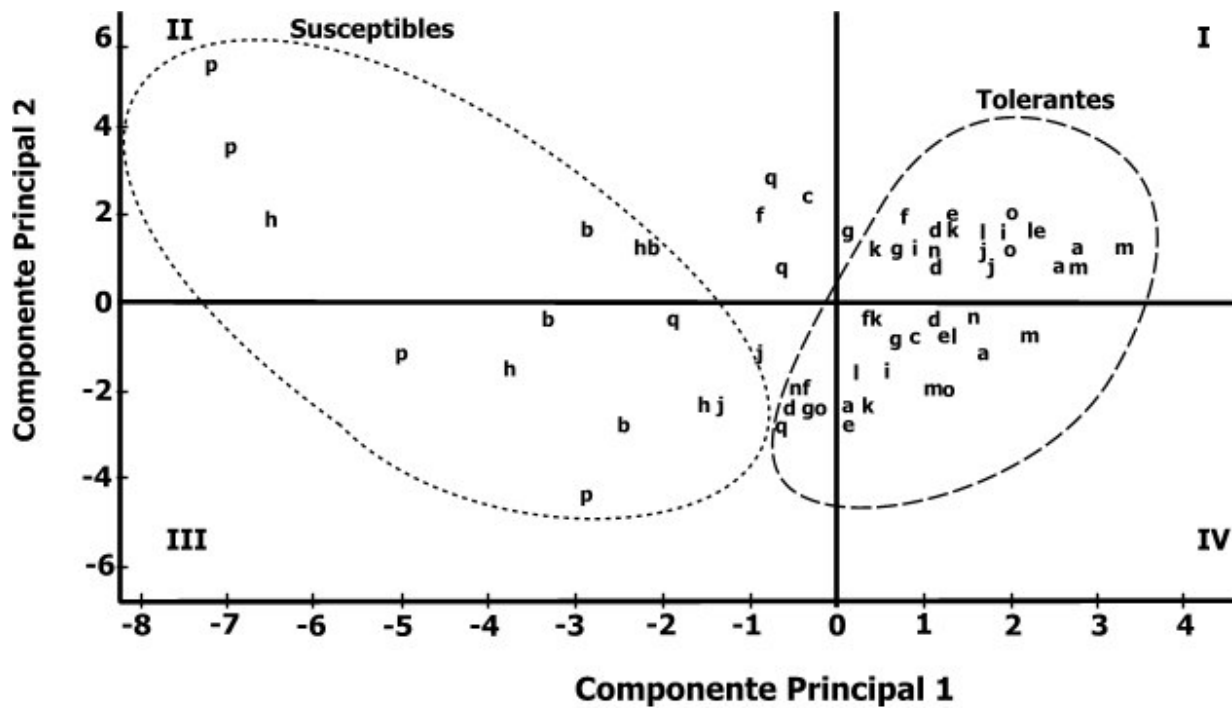


Figura 1. Dispersión de los materiales genéticos con base en los dos primeros componentes principales (75.2% de la varianza). CP1 = [Germinación 4° y 6° día (+), peso seco de radícula (-), semillas muertas (-) y plántulas anormales al 6° día (-)]; CP2 = [semillas muertas al 4° día (+), peso seco de plúmula (+), longitud de plúmula (+) y radícula (+)].

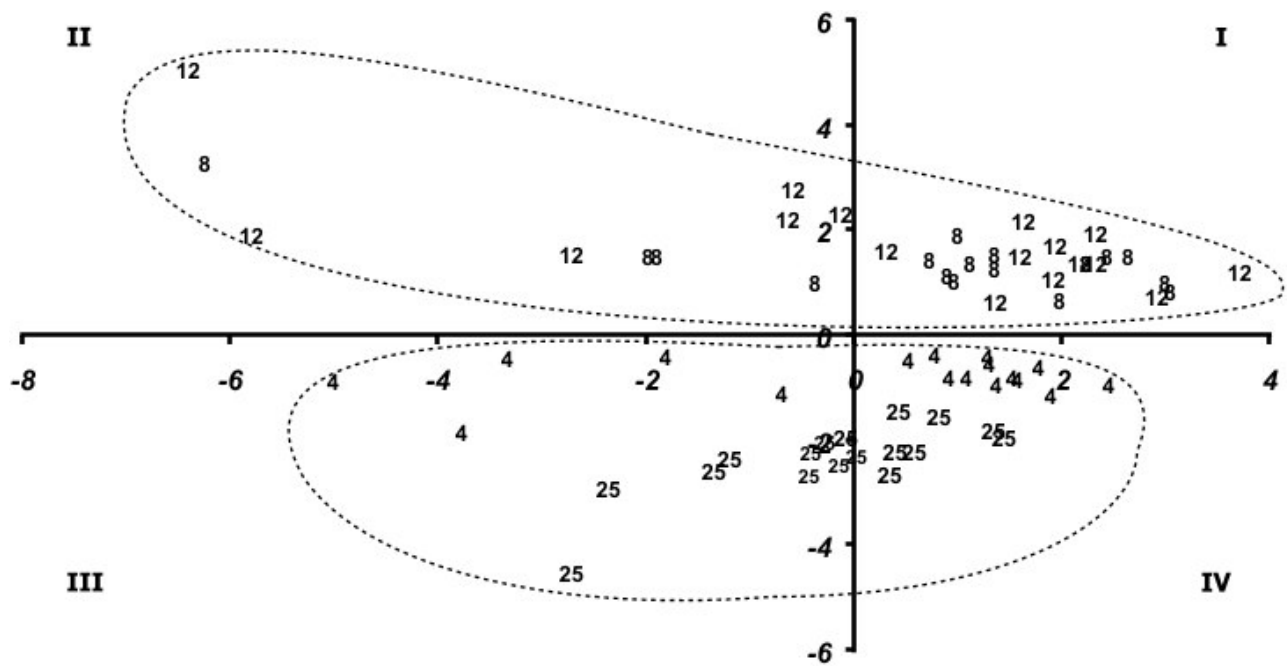


Figura 2. Dispersión de los tratamientos de temperatura en el estudio fisiológico de maíz 25, 12, 8 y 4 son las temperaturas (°C) empleadas en la evaluación.

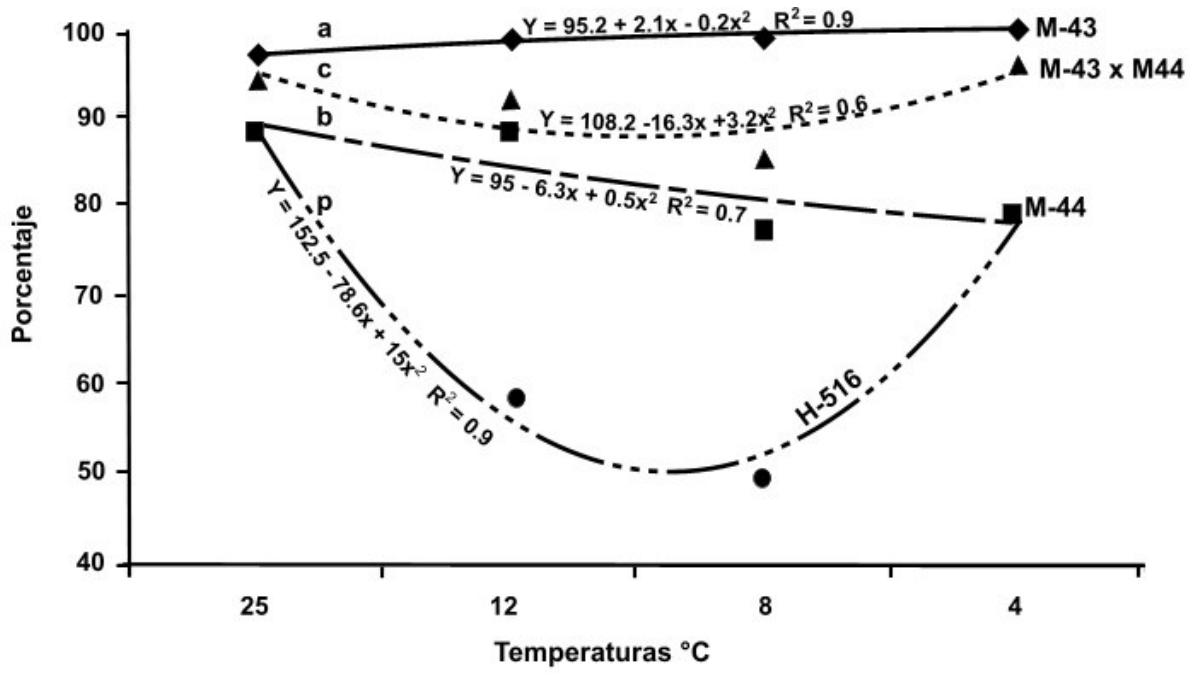


Figura 3. Porcentaje de germinación (4° día) de líneas e híbridos en bajas temperaturas

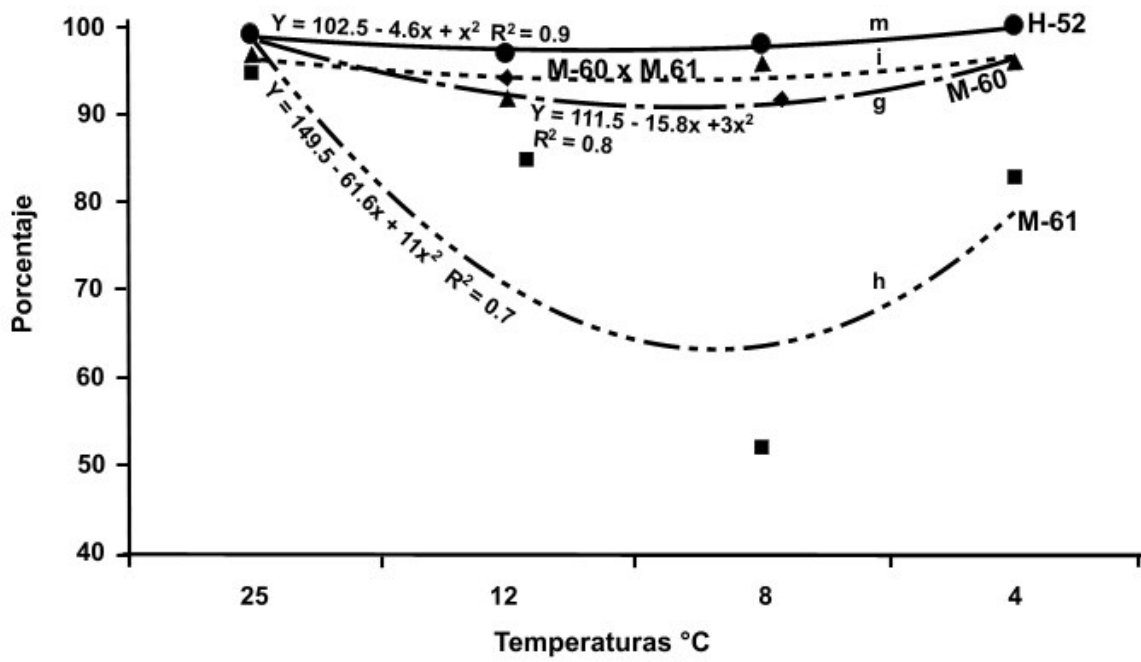


Figura 4. Porcentaje de germinación (4° día) de líneas e híbridos en bajas temperaturas.

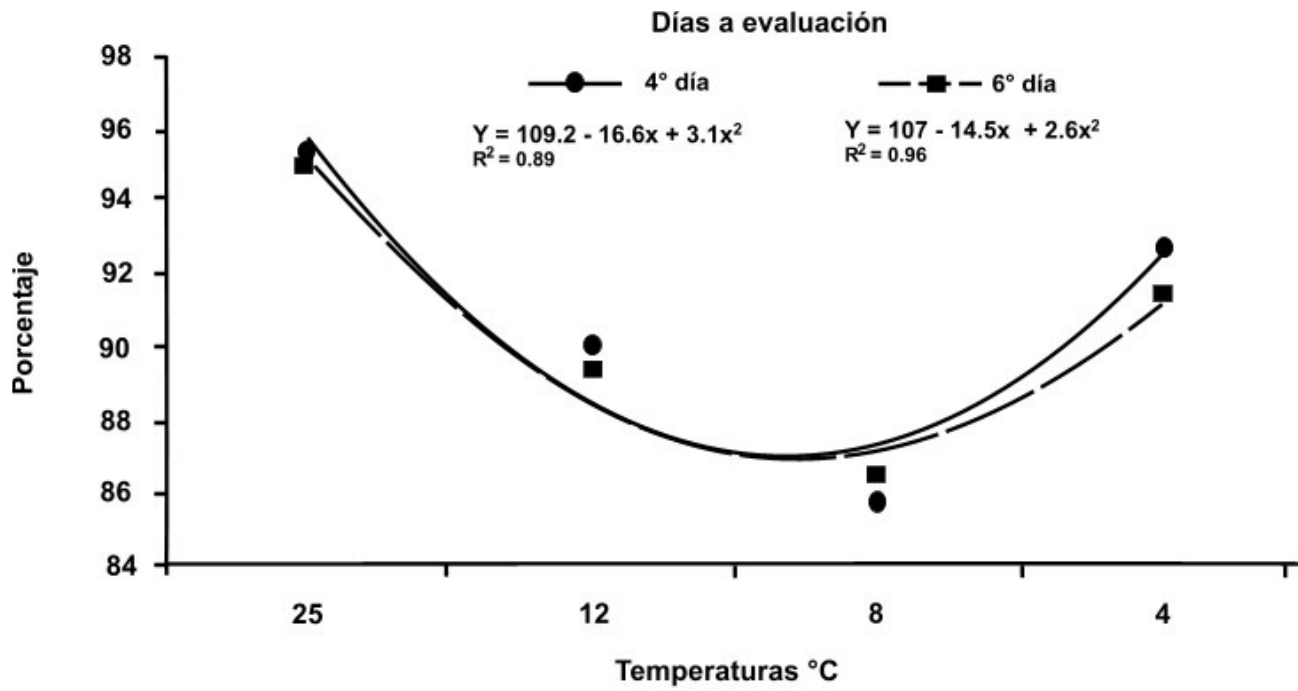


Figura 5. Porcentaje de germinación de los materiales genéticos en bajas temperaturas.

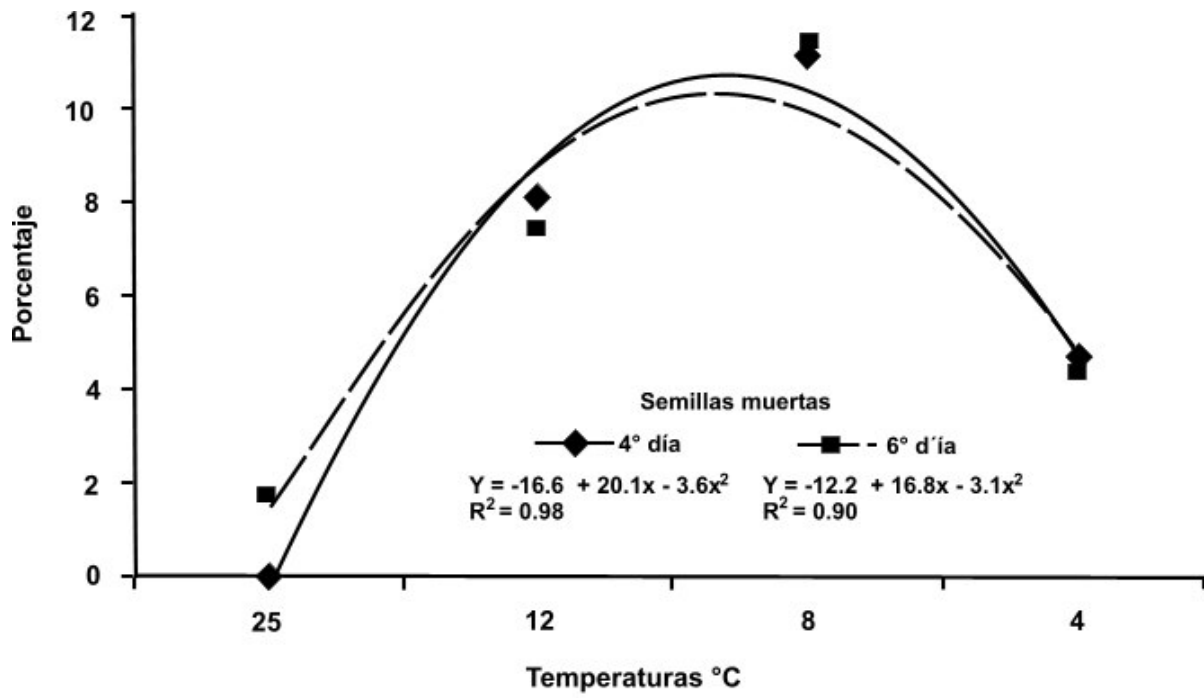


Figura 6. Porcentaje de semillas muertas de los materiales genéticos en bajas temperaturas.

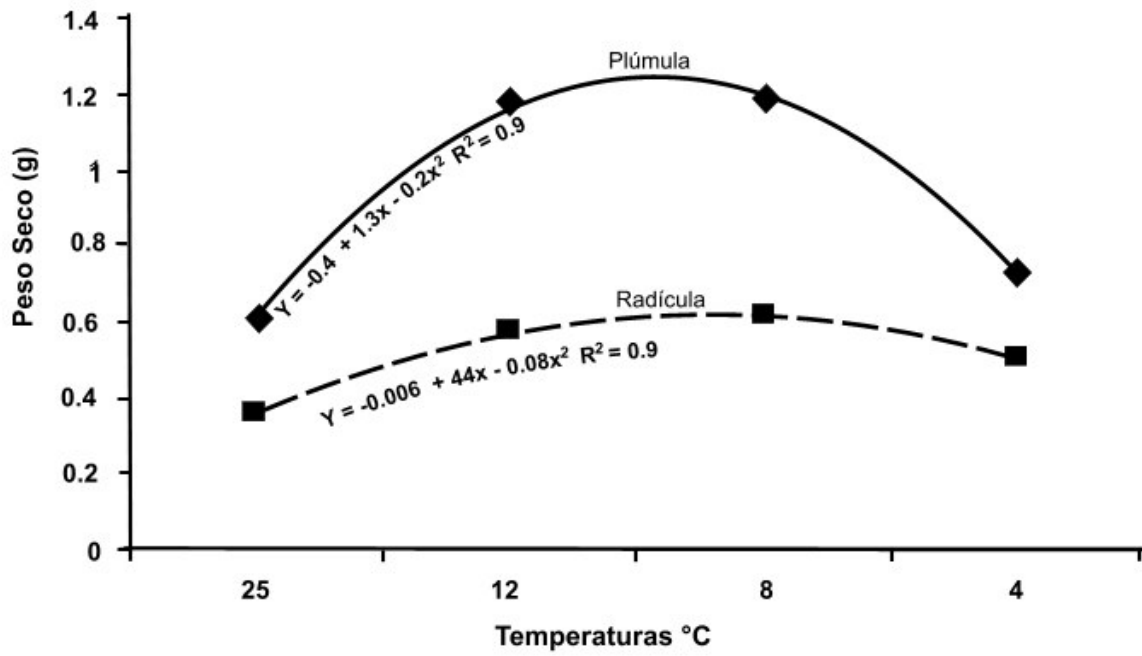


Figura 7. Peso seco de plúmula y radícula de los materiales genéticos en bajas temperaturas.

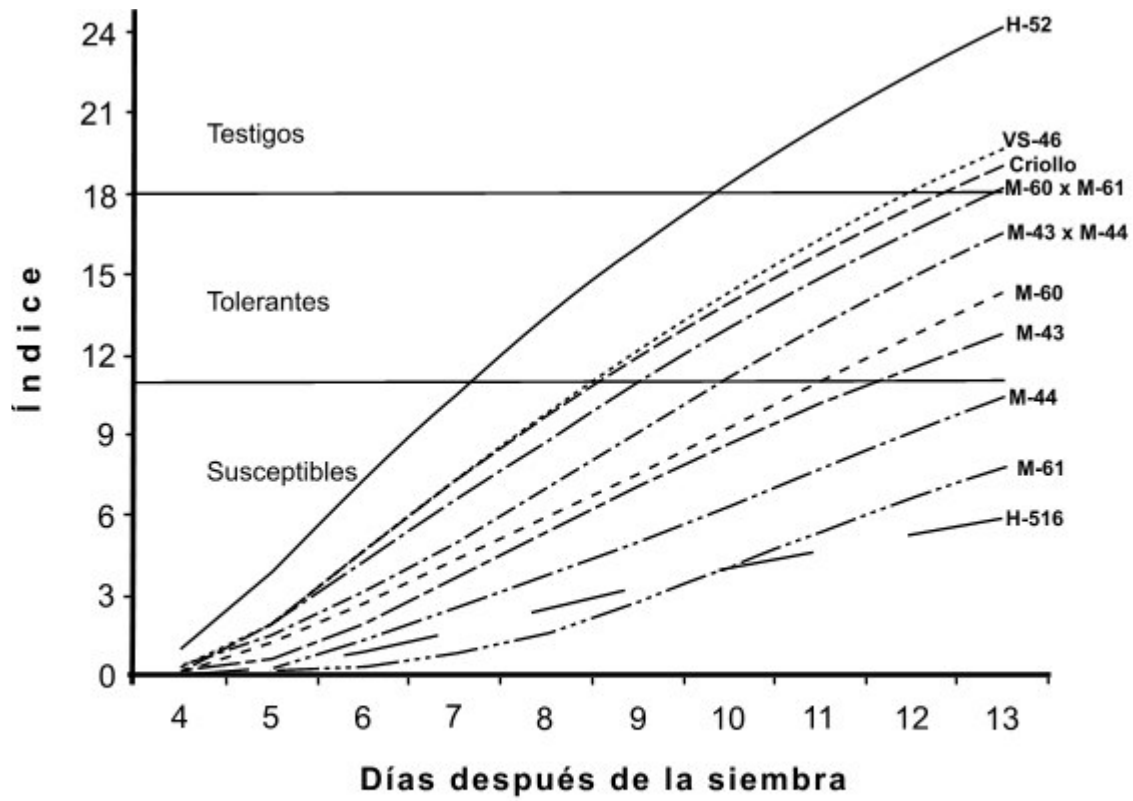


Figura 8. Índice de velocidad de emergencia en invernadero, Buenavista Saltillo, Coahuila, 2005.