

**Bioensayos para la evaluación de metodologías y determinación de periodos precisos para el osmoacondicionamiento en semillas de zacate Buffel, (*Cenchrus ciliaris*, L.) var. común, bajo condiciones de laboratorio**



**DERLY GUILLERMO RODRÍGUEZ CANTÚ**

**T E S I S**

**Presentada como Requisito Parcial para  
Obtener el Grado de:**

**MAESTRO EN TECNOLOGÍA  
DE GRANOS Y SEMILLAS**

**Saltillo, Coahuila, México  
Junio, 2015**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO**

**“Bioensayos para la evaluación de metodologías y determinación de periodos precisos para el osmoacondicionamiento en semillas de zacate Buffel, (*Cenchrus ciliaris*, L.) var. común, bajo condiciones de laboratorio”**

**T E S I S**

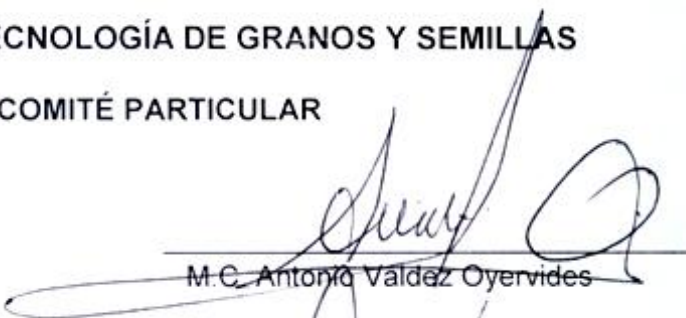
**DERLY GUILLERMO RODRÍGUEZ CANTÚ**

**Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y Aprobada como requisito parcial para optar al grado de:**

**MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS**

**COMITÉ PARTICULAR**

Asesor Principal:

  
M.C. Antonio Valdez Oyervides

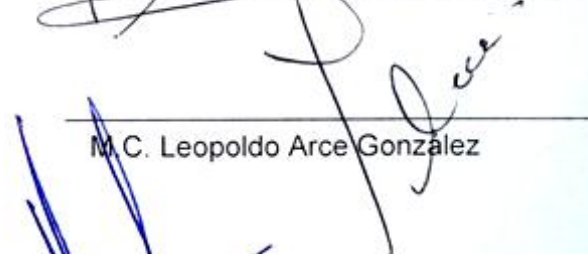
Asesor:

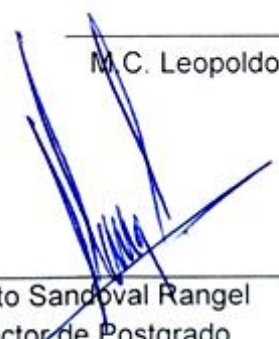
  
M.C. Federico Facio Parra

Asesor:

  
DR. Ramon Florencio Garcia Castillo

Asesor:

  
M.C. Leopoldo Arce Gonzalez

  
Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Subdirector de Postgrado

Saltillo, Coahuila, México, Junio, 2015

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>Página</b>
ÍNDICE DE CUADROS.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT .....	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos específicos.....	4
REVISION DE LITERATURA.....	6
Definición de semilla.....	6
Zacate Buffel ( <i>Cenchrus ciliaris</i> , L. ecotipo común) .....	7
Calidad de semillas.....	8
Calidad fisiológica.....	9
Germinación de las semillas .....	9
Viabilidad.....	10
Vigor.....	11
Latencia de la semilla. ....	12
Acondicionamiento Osmótico .....	15
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
Material en Estudio.....	17
Metodologías evaluadas.....	18
Bioensayos.....	22
Tratamientos.....	26
VARIABLES EVALUADAS .....	28
Diseño experimental.....	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	31
CONCLUSIONES.....	39

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>		<b>Página</b>
1	Tratamientos de los Bioensayos	26
2	Criterios para la evaluación de semillas viables y no viables.	28
3	<i>Comparación de medias para la prueba de germinación estándar de semillas de Zacate Buffel.</i>	31
4	<i>Comparación de medias para la prueba topográfica con sal de tetrazolio.</i>	34
5	<i>Tiempo óptimo de precalentamiento de semillas</i>	35
6	<i>Resultados del bioensayo periodos precisos para el osmoacondicionamiento.</i>	38

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig.</b>		<b>Página</b>
1	<i>Semilla de Cenchrus ciliaris, L. var. común.</i>	7
2	<i>Monitoreo por video cámara.</i>	18
3	<i>Semillas con movimientos libres y sumergidas en frascos de vidrio.</i>	20
4	<i>Semillas en cajas petri.</i>	21
5	<i>Semillas en precalentamiento.</i>	25
6	<i>Comparación de medias para la prueba topográfica con sal de tetrazolio</i>	33
7	<i>Prueba topográfica por sal de tetrazolio</i>	34
8	<i>Períodos precisos de osmoacondicionamiento</i>	37

## RESUMEN

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de análisis de semillas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coahuila, México, con el objetivo de desarrollar tecnologías para la eliminación de latencia y los efectos del osmoacondicionamiento en semilla de zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris* L.) var. común. Los tratamientos aplicados para encontrar los periodos precisos para el osmoacondicionamiento fueron T1: KNO<sub>3</sub>/-.5atm; T2: KNO<sub>3</sub>/-1atm; T3: KNO<sub>3</sub>/-1.5atm; T4: KCl/-.5atm; T5: KCl/-1atm; T6: KCl/-1.5atm; T7: PEG/-.5atm; T8: PEG/-.1atm; T9: PEG/-1.5atm; T10: Testigo/HYDROP/0atm (con agua destilada); la viabilidad de las semillas fue inicialmente probada después de evaluar tres diferentes metodologías. Para definir el momento preciso para detener la inmersión en cada tratamiento particular, se observó la emergencia de radícula utilizando una videocámara durante día y noche, con el fin de determinar la homogeneidad de la germinación fisiológica. 35% de las semillas perecieron por falta de oxigenación con esta metodología "A". La metodología "B" consistió en incrementar la presión del aire y permitir el movimiento libre en vasos de precipitados; la viabilidad no se perdió tan radicalmente, aunque aún no se lograba germinación fisiológica uniforme. La tercera metodología aplicada ("C", Testigo), fue basada en las recomendaciones del ISTA's de precalentar a 40 °C, antes de osmoacondicionar. La presión de aire fue estable y tuvieron libre movimiento las semillas para esta metodología, así como también se mantuvo estable de la

temperatura a 25°C. Se determinó que la metodología “C” (Testigo), es la más óptima para su implementación en los tratamientos de osmoacondicionamiento con semillas de *Cenchrus ciliaris*, L., var. común, obteniéndose semillas con alta viabilidad después de su sometimiento a esta metodología. Potenciales osmóticos -2.5, -5 y -7,5 atm causaron pérdida de viabilidad de las semillas y suprimieron la germinación en el primer intento, al momento de encontrar períodos precisos para el osmoacondicionamiento, los potenciales osmóticos (-.5, -1 y -1.5 atm), si demostraron ser viables y se registraron como periodos precisos para el osmoacondicionamiento; Según los resultados de este bioensayo, los tratamientos para los cuales se logró la G16 más rápidamente, fueron el T1, T5 y el testigo, mas no se asegura que sean los tratamientos más efectivos para realizar osmoacondicionamiento, pues para conocer eso, sería preciso un estudio posterior; donde se evaluara la calidad fisiológica de las semillas tratadas mediante estos tratamientos. No obstante, el resultado de SG permite el planteamiento hipotético, de que los tratamientos T1 y T3 puedan lograr excelentes resultados de germinación agronómica. Cabe mencionar que los resultados son de gran utilidad para esos estudios posteriores, gracias a que ahora se conocen los periodos precisos para el osmoacondicionamiento para cada tratamiento, sin tener pérdidas por semillas germinadas.

**Palabras Clave:** *Latencia, Osmoacondicionamiento, Semilla.*

## ABSTRACT

*This work took place at the seed analysis laboratory of the Autonomous Agricultural Antonio Narro University, located in Saltillo Coahuila, Mexico; with the purpose of developing technologies for the elimination of dormancy and the effects of osmopriming on Buffelgrass seeds (Cenchrus ciliaris L.) common var., The treatments applied to find the precise periods of osmopriming were: T1: KNO<sub>3</sub>/.5atm; T2: KNO<sub>3</sub>/-1atm; T3: KNO<sub>3</sub>/-1.5atm; T4: KCl/-.5atm; T5: KCl/-1atm; T6: KCl/-1.5atm; T7: PEG/-.5atm; T8: PEG/-1atm; T9: PEG/-1.5atm; T10: Control/HYDROP/0atm (with distilled water); seed viability was first tested after trying three methodologies. To define the exact time to stop immersion in each particular treatment, radicle emergence was observed using a video camera, day and night, to determine homogeneous, physiological germination of seeds. 35% of treated seeds died by lack of oxygen with this method "A". Method "B" consisted in increasing air pressure and permitting free movement of seeds in beakers; viability did not decrease so radically, but there was still not uniform physiological germination. The third methodology applied (Control "C"), was based on ISTA's recommendations to, pre-heat at 40°C, before osmopriming. Air pressure was stable, and the seeds had free movement on this methodology, the temperature at 25 °C was also maintained. It was determined that the control methodology "C" was the most optimal for its implementation in osmopriming treatments with seeds of Cenchrus ciliaris, L., var. common, yielding seeds with high viability after*

*submission to this methodology. Osmotic potential -2.5, -7.5 and -5 atm caused loss of seed viability and suppressed germination at the first attempt, at the time of finding precise periods for osmopriming, the osmotic potentials (-.5, -1 y -1.5 atm), did proved to be viable and were recorded as precise periods for osmopriming; according to the results of this bioassay, the treatments for which G16 was achieved in less time, were T1, T5 and the control, though, this doesn't assure them to be the most effective treatment for osmopriming. To know that a further study would be needed; where the physiological quality of treated seeds by these treatments was evaluated. However, the result from SG, allows the hypothetical approach that T1 and T3 can achieve excellent results of agronomic germination. It is noteworthy that the results from this work are useful for these subsequent studies, this because it is now known the precise periods of osmopriming for each treatment, without losses by sprout seeds.*

**Keywords:** *Dormancy, osmopriming, seed.*



## INTRODUCCIÓN

El pasto Buffel es una especie de gran importancia para la ganadería sustentable. La variedad común representa una opción para establecimiento de praderas de bajo costo de inversión en comparación a otros pastos del género *Brachiaria*, por ejemplo. Para el norte de México, (*Cenchrus ciliaris* L.) var. común, esta especie de gramínea forrajera representa una alternativa viable para el establecimiento de praderas por ser una especie tolerante a las condiciones climatológicas semiáridas. Váldez *et al.* 1978 consideran a este pasto como tolerante a la sequía, capaz de prosperar y propagarse en suelos de mediana a baja calidad y con regímenes de precipitación que varían de 300 a 1500 mm anuales. El aporte tecnológico sobre el estudio del acondicionamiento para la germinación de semillas forrajeras, en la búsqueda de una mayor, rápida, efectiva, eficiente y viable producción de pastos y del mejoramiento en la explotación de los mismos, es de gran interés para la ciencia de la agricultura forrajera. Uno de los problemas principales al que se enfrenta la tecnología de semillas forrajeras es la latencia de las semillas que no permite el aprovechamiento de una germinación más eficiente. Otro problema está en la pérdida de la germinación durante el almacenamiento prolongado de éstas, que si bien es requerido para lograr su maduración fisiológica de forma natural, es durante este tiempo que algunas semillas pierden su calidad fisiológica, es decir su viabilidad y no germinan; o que lo hacen sin uniformidad alguna y de manera retardada; esto a causa del deterioro

de naturaleza oxidativa y enzimática, durante el almacenamiento requerido postcosecha; principalmente ocasionado por la variación que existe en la etapa de floración de estas especies, y por ende, de la etapa de maduración en que se encuentra el embrión para cada semilla, que cuando para algunas aún no ha madurado, para otras ya ha sido deteriorado.

Se han desarrollado varias metodologías para revigorizar semillas y una de éstas es la de osmoacondicionamiento (OSMA) (Campos *et al.* 2002).

Para lograr revigorizar semillas deterioradas tras el almacenamiento prolongado, es necesario que estas reactiven su metabolismo por la imbibición de agua, lo cual se convierte en una dificultad para algunas semillas forrajeras, que presentan algún tipo de latencia, pudiendo ser ésta una combinación exógena-endógena. Con el osmoacondicionamiento, se logra romper la presentada por las cubiertas externas de la semilla pura, y consecuentemente la revigorización por imbibición, reparando al embrión y llevando la semilla a un estado óptimo para la rápida y germinación uniforme.

La latencia por flósculos es muy común en gramíneas forrajeras. Las semillas poseen en su mayoría cubiertas duras e impermeables de tipo céreo, es decir que tienen baja capacidad de transferir agua y gases, y que es necesario que por medio de su inmersión en una solución salina con un potencial osmótico controlado y durante un tiempo específico, ésta pueda forzar su imbibición y reactivar enzimáticamente el metabolismo, promoviendo la germinación hasta la segunda fase pero sin llegar a la emergencia, es decir, sin atravesar el pericarpio.

Las semillas osmoacondicionadas son metabólicamente activas, pero no germinan (Campos *et al.*, 2002), gracias a esto, se reactiva la respiración, la absorción de  $O_2$ , se reparan daños en los orgánulos ocasionados con el deterioro fisiológico durante el almacenamiento, se inicia la síntesis de proteínas a partir de nuevos ARNm y la reparación del ADN.

Para que se pueda osmoacondicionar y lograr ver su efecto en la germinación, una semilla forrajera, es necesario que haya logrado su maduración fisiológica, esto significa que deberá tener un embrión completamente desarrollado y vivo, de otra manera la semilla solo se hinchará y un proceso de putrefacción le procederá. También es importante que esa semilla no tenga ningún otro tipo de latencia (latencia del embrión por inhibidores como “ABA”, o inducida.), que impida la emergencia de las plántulas, una vez sembradas en campo las semillas acondicionadas osmóticamente.

En la semilla de los zacates se tiene poca información sobre el osmoacondicionamiento, es por ello que se realizó el presente trabajo de investigación, con la idea de evaluar diferentes metodologías para el osmoacondicionamiento de semillas de zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris*, L.) var. común, previamente se llevaron a cabo una serie de bioensayos de calidad de semillas, con el enfoque de encontrar la metodología desarrollada con mayor efectividad en materia de viabilidad de las semillas tratadas, así como también encontrar los periodos precisos para el osmoacondicionamiento, con tres productos químicos; nitrato de potasio ( $KNO_3$ ), cloruro de potasio (KCl) y polietilenglicol (PEG– 8000), a diferentes potenciales osmóticos.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Evaluar metodologías y determinar de periodos precisos para el osmoacondicionamiento en semillas de zacate Buffel, (*Cenchrus ciliaris*, L.) var. común, bajo condiciones de laboratorio.

### Objetivos específicos

- Desarrollar y Evaluar diferentes metodologías para el osmoacondicionamiento de semillas de zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris*, L.) var. común, por medio de bioensayos de calidad, para establecer la metodología con mayor efectividad en materia de viabilidad de las semillas.
- Determinar periodos precisos de osmoacondicionamiento, con tres productos químicos; nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ), cloruro de potasio (KCl) y polietilenglicol (PEG– 8000), a diferentes potenciales osmóticos.

### Hipótesis

- Se logrará desarrollar una metodología para el acondicionamiento osmótico aplicado a semilla de zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris*, L. var. común), que eliminará latencias, ayudará a promover la germinación

- uniforme y además promoverá un rápido y sincronizado establecimiento de plántulas en campo.
- Se encontrarán periodos precisos para el osmoacondicionamiento, con tres productos químicos; nitrato de potasio ( $\text{KNO}_3$ ), cloruro de potasio (KCl) y polietilenglicol (PEG- 8000), a diferentes potenciales osmóticos, lo cual reducirá el déficit de semillas por germinaciones indeseadas.

## REVISION DE LITERATURA

### **Definición de semilla**

La semilla es un medio de diseminación y reproducción sexual que surge a partir de la fecundación del óvulo de una flor, y que se encuentran dentro de un ovario maduro o fruto, los cuales pueden ser carnosos o secos.

La semilla es el embrión de la planta que ha alcanzado la madurez y se encuentra en estado de “vida latente”. Puede permanecer en este estado durante mucho tiempo, según la especie. Cuando la semilla encuentra las condiciones ambientales adecuadas, germinará. (Organero y Gimeno, 2002)

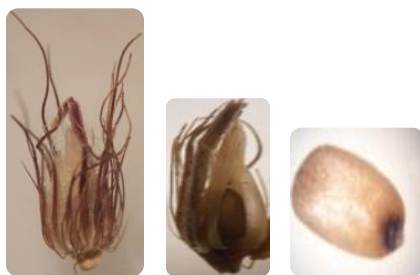
Las semillas proceden de los rudimentos seminales de la flor, una vez fecundadas y maduras. Su función es la de dar lugar a una nueva planta, perpetuando y multiplicando la especie a la que pertenecen. Las semillas presentan una gran variedad de formas, tamaños, pesos y colores, con relación a los diversos medios en los que han de dispersarse, sobrevivir y germinar. Cuando las condiciones de temperatura, humedad y aireación son las adecuadas, la semilla germinará, dando origen tras una serie de acontecimientos metabólicos, una joven plántula. En tanto no se den las condiciones adecuadas para la germinación, la semilla se mantendrá latente durante un periodo variable de

tiempo, que puede ser muy largo, hasta que llegado su momento, pierde su capacidad de germinar. (Pérez, 2002).

### **Zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris*, L. ecotipo común)**

Según la descripción técnica por Giraud (2003), el origen de este pasto es África tropical y subtropical, India e Indonesia. Hay una gran variedad de cultivares de esta especie, los cuales se distinguen por los diferentes hábitos de cada planta, crecen en verano, son perennes, de raíces profundas y resisten las sequías así como el pastoreo intensivo y la quema. Germinan rápidamente luego del comienzo de la época de lluvias, siendo en esta región de tipo primavero-estival. Algunos cultivares se "entregan" muy rápido, sobre todo los de porte bajo (Ej.: Australiano del Oeste), pero continúan produciendo nuevos brotes de hojas durante el período de florecimiento, lo cual es poco usual en especies de pastos tropicales.

*Figura 1. Semilla de Cenchrus ciliaris, L., var. común.*



Sus semillas se encuentran cubiertas por estructuras florales, formando en conjunto la típica cabeza de semilla llamada "cola de zorro". Tienen latencia por períodos de 9 a 12 meses o (5 -6 meses) después de la cosecha. En función de las variedades, el número de semillas por kilogramo es de 450.000 a 703.000. Su

cultivo es posible hasta 2000 metros de altura sobre el nivel del mar, y el régimen de precipitaciones requerido va desde 305 a 890 mm anuales. Tiene un buen comportamiento ante las sequías, pudiendo soportar algunos cultivares ambientes con solo 300-350 mm de precipitaciones anuales. La producción de semilla varía de 10 a 60 kg/ha.

### **Calidad de semillas**

Para Salinas *et al.* (2001), la disponibilidad de semilla de alta calidad es importante para todos los sectores de la agricultura; menciona que el análisis de pureza y las pruebas de germinación han sido ampliamente utilizadas en la evaluación de la calidad de las semillas durante aproximadamente un siglo. Sin embargo, reporta que en los últimos tiempos se ha dado énfasis en las mediciones de otros componentes de la calidad de semillas, tales como: sanidad, pureza genética y vigor; por su parte Terenti, (2004), señala que la presencia de las cuatro cualidades esenciales en su máximo nivel permite que la semilla esté en su máxima calidad integral. Cada una de ellas aporta su capacidad para originar plantas productivas. La debilidad en cualquiera de ellas introduce un factor limitante y como consecuencia plantas poco productivas. La expresión de calidad de la semilla generalmente es usada libremente para reflejar el valor global que esta tiene y para la cual fue producida, y no se le da la importancia que tiene. Es por esto que para muchos agricultores, semilla de calidad es aquella que germina y está libre de especies invasoras indeseadas. Simplemente decimos “no es más que una buena semilla” pero calidad de semilla significa más que eso, no es solo una mezcla de propiedades físicas, fisiológicas, morfológicas y ambientales, por lo



que deberíamos decir “primero y ante todo la calidad de la semilla”. Este concepto se refleja en que para muchos laboratorios de análisis de semillas, entre 80 y 90% de todos los análisis solicitados son de pureza y germinación (Mérola y Díaz, 2012).

### **Calidad fisiológica**

Los atributos de calidad fisiológica de semillas evaluados en laboratorio, son componentes importantes para ampliar la caracterización del germoplasma a utilizar en los programas de mejoramiento, además de proporcionar información sobre la emergencia, establecimiento en campo y capacidad competitiva en diversas condiciones de siembra (Ruiz *et al.*, 2012); por su parte Quiros y Carillo (2004) señalan que la capacidad germinativa y el vigor son los principales atributos involucrados dentro del componente de calidad fisiológica en semillas; mencionan que el concepto de vigor en semillas es un tanto complejo, sin embargo en forma muy general se podría decir que es el potencial biológico de la semilla que favorece un establecimiento rápido y uniforme bajo condiciones incluso desfavorables de campo. Ellos aportan que la germinación, es el proceso fisiológico mediante el cual emergen y se desarrollan a partir del embrión aquellas estructuras esenciales, para la formación de una planta normal bajo condiciones favorables.

### **Germinación de las semillas**

Para que la semilla cumpla con su objetivo, es necesario que el embrión se transforme en una plántula que sea capaz de valerse por sí misma, mediante

mecanismos metabólicos y morfogenéticos, conocidos como proceso de germinación. El proceso de germinación está constituido por varias fases: i) Absorción de agua por la semilla o imbibición; ii) Activación del metabolismo y proceso de respiración, síntesis de proteínas y movilización de sustancias de reserva; iii) Elongación del embrión y ruptura de la testa a través de la cual se observa salida de la radícula (Suárez y Melgarejo, 2010). Durante la primera fase de la germinación se incrementa la actividad respiratoria cuando se hidrata la semilla y se activa el embrión metabólicamente dando lugar al inicio de la segunda fase de la germinación. Durante esta fase tiene lugar en la semilla profundas transformaciones metabólicas que preparan el camino para la fase siguiente de crecimiento y son, por tanto, imprescindibles para el normal desarrollo de la plántula. En esta fase, se reduce considerablemente la absorción de agua por la semilla y se estabiliza el consumo de oxígeno (Pérez, 2002). La tercera fase de la germinación corresponde al irreversible cambio fisiológico donde emerge la radícula de la semilla.

### **Viabilidad**

La prueba de viabilidad nos revela una serie de aspectos esenciales para conocer no solamente la calidad del lote, sino que también puede servir de guía para identificar otros factores que pueden estar afectando a las semillas; entre ellos la *dormición*, que suele ser la causa de una menor germinación, pero que no debe confundirse con mala calidad (Ruiz, 2009); el mismo autor también menciona que el tetrazolio puede ser utilizado sin importar el grado de dormición de las semillas, tornándose muy importante para especies con este problema. En la

Prueba Topográfica por Tetrazolio se utiliza una solución incolora de la sal cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio como un indicador de varios procesos de reducción que ocurren en las células vivas. Luego que la solución de tetrazolio es embebida por la semilla, en las células vivas de los tejidos se lleva a cabo una reacción química de óxido-reducción en la cual participan las enzimas deshidrogenasas presentes en los tejidos vivos. En esta reacción, los protones hidrógeno liberados en el proceso de respiración reducen a la sal de tetrazolio a formazan. El formazan es una sustancia estable, no difusible, de coloración rojiza, que permite distinguir las áreas vivas de las semillas (áreas de color rojo o rosado según la concentración empleada de la sal), de las zonas muertas (de color blanco) (ISTA, 2004).

### **Vigor**

Salinas *et al.* (2001), menciona que el vigor de las semillas ha sido definido como la sumatoria total de aquellas propiedades de las semillas que determinan el nivel de actividad y el comportamiento de las semillas o de un lote de semillas durante la germinación y emergencia de las plántulas. Las semillas que muestran un buen comportamiento son consideradas de alto vigor, y aquellas que presentan un pobre comportamiento son llamadas semillas de bajo vigor (ISTA, 2004). También aporta, que los aspectos del comportamiento asociados con el vigor de las semillas incluyen: a) tasa y uniformidad de germinación de semillas y crecimiento de plántulas; b) comportamiento en el campo, incluyendo la tasa y uniformidad de la emergencia de las plántulas y c) comportamiento después del almacenamiento y transporte, particularmente la disminución de la capacidad de germinación.

### **Latencia de la semilla.**

Varela y Arana (2011), definen la *dormición, latencia o letargo* como la incapacidad de una semilla intacta y viable, de germinar bajo condiciones de temperatura, humedad y concentración de gases que serían adecuadas para la germinación; mencionan, que en el sector forestal se utiliza la palabra *latencia*, la cual proviene del latín “*latensis*” y significa oculto, escondido o aparentemente inactivo para referirse a esta incapacidad de la semilla a germinar, la cual puede constituir un problema por ejemplo para los programas de producción de plántulas en vivero; estos autores informan que la latencia se establece durante la formación de la semilla, y posee una importante función que consiste en restringir la germinación en la planta madre antes de su dispersión en el campo. Además, mencionan que se considera que la latencia es una adaptación que contribuye a la supervivencia del individuo, ya que restringe la germinación cuando los factores ambientales son desfavorables para el desarrollo de la plántula. De la Cuadra (1992), señala a la latencia como la incapacidad de germinación que va acompañada del mantenimiento de la viabilidad y de poder germinativo, que se manifestará cuando dichas condiciones ambientales sean propicias para la germinación.

Varela y Arana (2011), detallan a los distintos tipos de latencia de la siguiente manera:

**a) Latencia por la cubierta de las semillas o exógena:**

*Latencia física.* Característica de un gran número de especies de plantas, en las cuales la cubierta seminal o secciones endurecidas de otras cubiertas de la semilla son impermeables. El embrión está encerrado dentro de una cubierta impermeable que puede preservar las semillas con bajo contenido de humedad durante varios años, aún con temperaturas elevadas.

*Latencia mecánica.* En ésta categoría las cubiertas de las semillas son demasiado duras para permitir que el embrión se expanda durante la germinación. Probablemente éste factor no es la única causa de la latencia, ya en la mayoría de los casos se combina con otros tipos para retardar la germinación.

*Latencia química.* Corresponde a la producción y acumulación de sustancias químicas que inhiben la germinación, ya sea en el fruto

**b) Latencia morfológica o endógena:**

Se presenta en aquellas familias de plantas, cuyas semillas, de manera característica en el embrión, no se han desarrollado por completo en la época de maduración. Como regla general, el crecimiento del embrión es favorecido por temperaturas cálidas, pero la respuesta puede ser complicada por la presencia de otros mecanismos de letargo. Dentro de ésta categoría hay dos grupos:

*Embriones rudimentarios.* Se presenta en semillas cuyo embrión es apenas algo más que un proembrión embebido en un endospermo, al momento de la

maduración del fruto. También en el endospermo existen inhibidores químicos de la germinación, que se vuelven en particular activos con altas temperaturas.

*Embriones no desarrollados.* Algunas semillas, en la madurez del fruto tienen embriones poco desarrollados, con forma de torpedos, que pueden alcanzar un tamaño de hasta la mitad de la cavidad de la semilla. El crecimiento posterior del embrión se efectúa antes de la germinación.

**c) Latencia Interna:**

En muchas especies la latencia es controlada internamente en el interior de los tejidos. En el control interno de la germinación están implicados dos fenómenos separados. El primero es el control ejercido por la semipermeabilidad de las cubiertas de las semillas, y el segundo es un letargo presente en el embrión que se supera con exposición a enfriamiento en húmedo.

*Fisiológica.* Corresponde a aquella en que la germinación es impedida por un mecanismo fisiológico inhibitorio.

*Interno intermedio.* Esta latencia es inducida principalmente por las cubiertas de las semillas y los tejidos de almacenamiento circundante. Este es característico de las coníferas.

*Del embrión.* Se caracteriza principalmente porque para llegar a la germinación se requiere un período de enfriamiento en húmedo y por la incapacidad del embrión separado de germinar con normalidad.

**d) Latencia combinada morfofisiológica**

Consiste en la combinación de subdesarrollo del embrión con mecanismos fisiológicos inhibidores fuerte.

**e) Latencia combinada Exógena –Endógena**

Se denomina así a las diversas combinaciones de latencia de la cubierta o el pericarpio con latencia fisiológica endógena.

**Acondicionamiento Osmótico**

OSMA es una práctica bien establecida se utiliza para mejorar la germinación de campo y cultivos en hileras, pero realmente pocos estudios han aplicado esta técnica (Siebert y Richardson, 2002).

El acondicionamiento osmótico de semillas, también conocido como osmoacondicionamiento, es considerada una técnica promisorio para mejorar la germinación porque promueve un rápido y sincronizado establecimiento de plántulas; se ha reportado como un método eficaz para mejorar la calidad fisiológica de la semilla a través de la uniformidad y porcentaje de germinación. (Marín *et al.*, 2007)

Campos *et al.*, (2002), señalan que la pérdida de vigor durante el almacenamiento de semillas provoca una reducción en la germinabilidad y en el establecimiento en campo de la plántula. Mencionan que se han desarrollado varias metodologías para revigorizar semillas y una de éstas es la de osmoacondicionamiento (OSMA), que consiste en pre-imbibir semillas en una solución que contiene un agente osmótico inerte como lo es el polietilenglicol

(PEG), el cual reduce la disponibilidad de agua. Agregan que las células en las semillas pueden reactivar su metabolismo, pero el proceso germinativo, definido como el brotamiento radicular, no ocurre. También mencionan que Las condiciones para osmoacondicionar semillas varían de acuerdo con la especie vegetal que corresponda.

Mauromicale and Cavallaro (1996), obtuvieron como resultado que las soluciones osmóticas de polietilenglicol (PEG) y  $KNO_3$  optimizan la germinación del pasto de estación cálida, crabgrass (*Dactylis glomerata* L.) al igual que el pasto de estación fría, la festuca alta (*Festuca arundinacea* Schreb); por otro lado Gharoobi *et al.* (2012), demostraron que el efecto de potenciales osmóticos (-0.25, -0.35, -0.45, -0.50 MPa) artificialmente creados con PEG 6000 aplicados en semillas de los cultivos maíz, canola y cebada, no fue estadísticamente significativo en cebada y canola, pero si en el cultivo de maíz; por su parte, Schrauf *et al.*, (1995) demostraron que el pre-tratamiento con PEG mejoró la germinación bajo todas las condiciones de germinación probadas. Emergencia en campo de semillas tratadas con PEG no fue influenciado por la siembra de profundidad. Semillas pre-tratados con PEG mostraron una mayor aparición que los previamente embebidos con agua destilada.



## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el laboratorio de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) ubicada a los 25° 22' LN y 10° 00' de LO, con una altitud de 1742 msnm, durante los años 2014–2015.

Se desarrollaron y probaron dos metodologías piloto y una como testigo, utilizando como modelo a la especie de gramínea forrajera *Cenchrus ciliaris*, L. var. común; utilizando soluciones salinas ( $\text{KNO}_3$ , y KCl) y polietilenglicol 8000, a diferentes potenciales osmóticos (-.5,-1,-1.5,-2.5,-5,-7.5 atm), e hidroacondicionamiento (HDROP), se determinaron periodos precisos para el osmoacondicionamiento.

### **Material en Estudio**

Para el presente trabajo, se utilizaron semillas de zacate buffel (*Cenchrus ciliaris*, L. ecotipo común), de cosecha reciente.

## Metodologías evaluadas

### I. Metodología “A”



*Figura 2. Monitoreo por video cámara.*

Se intentó a la vez que obtener la metodología con la más alta viabilidad de las semillas, el prever tener control por sobre la emergencia homogénea de las semillas (en caso de ser la metodología más efectiva), por lo cual se montó el experimento con una cámara web (Figura 2) con un software controlado por una computadora para observar la emergencia de la radícula de las semillas en tiempo real durante la noche, de manera que se tuviera el dato del momento exacto del desarrollo de este tejido y así conocer los periodos precisos para el osmoacondicionamiento.

Durante esta metodología también se implementó el uso de recipientes metálicos de 500 ml y cajas petri de 100 mm, perforadas con orificios de 2 mm alrededor de la caja para permitir el flujo de oxígeno del interior del recipiente en donde se encontraba sumergida una manguera de 8 mm de diámetro por un orificio de la misma medida sobre una parte lateral de la caja petri tal como se muestra en la figura 2. Para oxigenar las semillas se utilizó un sistema de aireación similar al propuesto por Welbaum *et al.*, (1998), donde se utilizó una bomba tipo "pecera", manguera de 8 mm de diámetro y microtubos conectados uno a cada frasco. La inyección de aire fue controlada por medio de válvulas de plástico para el control de flujo de aire, para lo cual, durante este experimento se manejó la presión mínima ( $10^{\circ}$  de apertura de la válvula, aproximadamente). La profundidad de la caja petri fue de 3 cm dentro del recipiente de 10 cm, de manera que el agua destilada solo cubría ligeramente a las semillas. Las semillas se encontraban adheridas con una cinta adherente por las dos caras con el ápice de las brácteas apuntando en una sola dirección; dispuestas en forma circular y en dos filas, completando 25 semillas por división, con un total de 100 semillas por las cuatro divisiones.

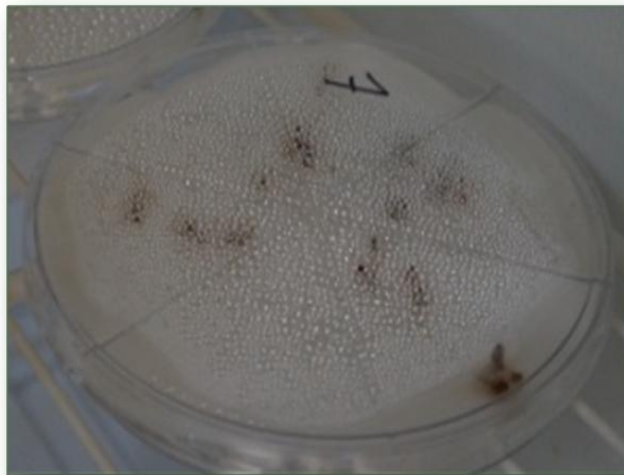
## II. Metodología "B".



*Figura 3. Semillas con movimientos libres y sumergidas en frascos de vidrio*

Como se muestra en la figura 3, para esta metodología las semillas se dejaron a libre movimiento dentro de frascos de vidrio de 500 ml con tapa perforada con dos orificios de 8 mm de diámetro, uno para la entrada de la manguera y el otro para la salida del aire inyectado. Se utilizó el mismo mecanismo de oxigenación que en la metodología "A" (Figura 2), solo que aquí se tuvo una apertura total de las válvulas de control de aire. Durante esta metodología se intentó tener control de la emergencia homogénea total de las radículas, realizando monitoreo visual, constante cada 8 horas.

### III. Metodología “C” (Testigo)



*Figura 4. Semillas en cajas petri*

Para esta ultima metodología evaluada, el protocolo de implementación fue muy similar al de la prueba de germinación estándar en laboratorio, para semillas de especies de gramíneas, excepto que aquí las semillas estaban casi sumergidas en la solución y conservado este estado durante todo el tiempo de exposición. Las semillas se encontraban libres y depositadas en una caja petri (Figura 4) grande con papel filtro para preservar por más tiempo a la solución. La presión de aire fue de manera natural y estable, contando solo con el oxígeno en el microambiente de la caja petri. Las semillas estaban sumergidas pero no completamente tapadas por la solución, permitiendo la respiración apropiada de éstas. Para esta metodología no se utilizó la bomba de aire. Basada en las recomendaciones del ISTA (2004), se precalentó a las semillas antes de osmoacondicionar, a 40 °C y se determinó ser por 4 horas el tiempo óptimo de precalentado de acuerdo los resultados del bioensayo realizado para determinar

esto, previo a su aplicación. El mantenimiento estable de la temperatura (25°C) dentro de una cámara de incubación también fue aplicado. Al igual que para la metodología “B”, se monitoreó las semillas para encontrar germinación fisiológica homogénea, cada 8 horas.

## **Bioensayos**

Se realizaron los bioensayos, ‘viabilidad de semillas (a las tres metodologías en estudio), periodos precisos para el osmoacondicionamiento (PPOSMA), y tiempo óptimo de precalentamiento de semillas (utilizando la metodología con el más alto porcentaje de semillas viables como resultado en el bioensayo de viabilidad de semillas)’, y la prueba de germinación estándar; lo anterior, con el fin de determinar la metodología con mayor valor experimental con respecto al osmoacondicionamiento de semillas de zacate Buffel.

### **A. Viabilidad de semillas**

Como primera etapa del estudio, se realizó una comparación entre tres diferentes metodologías, descartando a las que más afectaron a la viabilidad de las semillas y seleccionando (para ser utilizada en el bioensayo, “PPOSMA”) a la que menos efecto negativo tuvo sobre la calidad fisiológica de las semillas para los siguientes bioensayos, es decir, la metodología que menos afectó a la viabilidad de las semillas por ahogamiento. Para este propósito, 100 semillas para prueba de viabilidad y 30 más (en el caso de tener semillas germinadas antes de tiempo), se sometieron a la aplicación del preacondicionamiento hídrico, donde el agua esta libremente disponible para las semillas, su absorción siendo regida por la afinidad

del tejido de la semilla (Taylor *et al.*, 1998); esto para cada una de las metodologías analizadas. Las Semillas fueron evaluadas por su calidad fisiológica, por la prueba topográfica basada en la AOSA, (1993), con 2,3,5-trifenil tetrazolium, después de 25 días de exposición al hidroacondicionamiento; se tomaron cuatro repeticiones de 25 semillas de cada metodología y se obtuvieron semillas viables y no viables como variables de la viabilidad.

### **B. Periodos precisos de osmoacondicionamiento**

Una vez encontrada la metodología más efectiva en viabilidad de semillas, se obtuvo el tiempo preciso para osmoacondicionar bajo el esquema de la metodología resultante con mayor valor experimental.

Una de las características del osmoacondicionamiento de semillas es que la disponibilidad de agua se mantiene en un nivel sub-óptimo, de tal forma que el proceso germinativo se inicia pero es detenido en alguna etapa. Una germinación completa, definida como brotamiento radicular, nunca ocurre (Campos *et al.* 2002). El tiempo correcto para OSMA se basó en los resultados de una primera prueba con todos los tratamientos bajo la metodología elegida, hasta que el tejido de la radícula de las semillas fue homogéneamente visible, registrándose esto en un cuadro con el número de días para lograr germinación fisiológica homogénea del 16% (G16) y el número de semillas germinadas (SG); restando 12 horas a partir de estos resultados, se graficó como periodos precisos de osmoacondicionamiento "PPOSMA" con los días requeridos para lograr llevar las semillas hasta la segunda etapa de la germinación.

Como punto de referencia para la toma de decisiones en cuanto al tiempo necesario para detener el osmoacondicionamiento de las semillas para cada tratamiento, se basó en el tiempo que transcurrió para que se lograra una germinación fisiológica homogénea, siendo este parámetro el porcentaje de germinación de las semillas con flósculos (Cuadro 3), como mínimo; esto significa que para cada una de las cuatro repeticiones de 25 semillas (previamente precalentadas a 40 °C por cuatro horas), para cada tratamiento, debió tenerse un mínimo de 16 % de semillas (4 semillas por repetición) con radícula emergida visible, para considerarse germinación fisiológica homogénea.

### **C. Prueba de germinación estándar**

Para esta prueba se tomaron 100 semillas de zacate Buffel recién cosechadas y se dividieron en cuatro repeticiones de 25 semillas. Se realizó una comparación de medias entre los factores semillas con flósculos y semillas sin flósculos. El protocolo de evaluación constó de la suma del conteo de las plántulas normales, a los 14 y 25 días después de la siembra. El resultado de esta prueba fue utilizado como base para calcular la germinación fisiológica homogénea, en el bioensayo “periodos precisos para el osmoacondicionamiento”, considerando la capacidad germinativa de las semillas con sus flósculos presentes.

### **D. Tiempo óptimo de precalentamiento de semillas**

La intención fue acelerar el proceso de germinación de las semillas, reduciendo el nivel de dormancia que imponen la lemma y la palea así como el lixiviado de sustancias inhibitoras y ceras del tejido celular de las cubiertas



florales en general. Para esto, el protocolo de este bioensayo, se basó en el del principio general del envejecimiento acelerado para semillas, donde se encuentran a exposición a temperaturas y humedad altas (Barros y Filho, 2003). Siguiendo la recomendación del ISTA para semillas de *Cenchrus ciliaris* L. con flósculos, de precalentar antes de someter a prueba estándar de germinación. Se trataron 100 semillas por 0, 2, 4 y 6 horas de exposición a baño maría, bajo 40 grados centígrados de temperatura, 100% de humedad relativa (sumergidas en H<sub>2</sub>O, destilada), en vasos de precipitados de 500 ml (Figura 5), con el fin de encontrar el mejor tratamiento, respecto a las horas de exposición de las semillas bajo la temperatura mencionada. Después de tratadas las semillas, se sometieron 25 de cada tratamiento a la metodología "C" (Testigo), con hidroacondicionamiento y se evaluó según el tratamiento que primero lograra la germinación fisiológica, homogénea.



*Figura 5. Semillas en precalentamiento.*

## Tratamientos

Cuadro 1. Tratamientos de los Bioensayos

Bioensayo	Tratamientos		Solución aplicada	Rep	# Semillas x Rep.	Temp (°C)
Prueba de germinación estándar	1	Semillas sin flósculos	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	25±1
	testigo	Semillas con flósculos	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	25±1
Precalentamiento de semillas	1	2 hrs.	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	40
	2	4 hrs.	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	40
	3	6 hrs.	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	40
	Testigo	0 hrs.	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	40
Viabilidad de semillas	1	Método "A", semillas fijas	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	25±1
	2	Método "B" Semillas en movimiento	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	25±1
	Testigo	Método "C" Precalentamiento de semillas a 40 °C/ 4hrs	H <sub>2</sub> O destilada	4	25	25±1
Periodos precisos para el osmocondicionamiento (semillas precalentadas)	1		KNO <sub>3</sub> /-0.5 atm	4	25	25±1
	2		KNO <sub>3</sub> /-1 atm	4	25	25±1
	3		KNO <sub>3</sub> /-1.5 atm	4	25	25±1
	4		KCl/-0.5 atm	4	25	25±1
	5		KCl/-1 atm	4	25	25±1
	6		KCl/-1.5 atm	4	25	25±1
	7		PEG/-0.5 atm	4	25	25±1
	8		PEG/-1 atm	4	25	25±1
	9		PEG/-1.5 atm	4	25	25±1
	T:10-Testigo		H <sub>2</sub> O destilada /0 atm	4	25	25±1

Tratamientos con potenciales osmóticos -2.5, -5 y -7.5, fueron descartados por impedir la germinación de las semillas durante el bioensayo.

○ **Cálculo de potenciales osmóticos**

La siguiente ecuación, propuesta por Wiggans y Gardner (1959), fue empleada para obtener los potenciales osmóticos de los agentes, nitrato de potasio y cloruro de potasio.

$$G = (P V m) / (RT)$$

donde:

G= Gramos de soluto a utilizar

P= Presión osmótica deseada

V= Volumen en litros

m= Peso molecular del químico usado

R= 0.0825 atm

T=°K

Las soluciones para el PEG fueron preparadas de acuerdo a la ecuación propuesta por Michel (1983), esto en el caso particular del agente osmótico polietilenglicol 8000, con la cual se obtuvieron los potenciales osmóticos, realizándose de la siguiente manera:

$$[\text{PEG}] = [4 - (5.16 \Psi T - 560 \Psi + 16) / (2)] / [2.58 T - 280]$$

donde:

T= Temperatura de preparación de la solución en °C

$\Psi$ = Potencial osmótico requerido en bares

[PEG]= Kilogramos de PEG por litro de agua destilada.

❖ Las soluciones para el acondicionamiento osmótico (-.5, -1 y -1.5 atm) se prepararon con agua destilada; la temperatura se tomó al momento de preparar las soluciones para obtener los potenciales osmóticos requeridos. Una vez preparadas las soluciones, se vaciaron

en las cajas petri con papel filtro, donde se sumergieron ligeramente las semillas para iniciar el tiempo de exposición al OSMA.

**Nota:** *Tratamientos con potenciales osmóticos -2.5, -5 y -7.5, fueron descartados por impedir la germinación de las semillas durante el bioensayo "PPOSMA".*

### **Variables evaluadas**

#### **a. Viabilidad**

- %VIABLES
- % NO VIABLES

Para esta prueba se baso la evaluación en el criterio presentado a continuación y que fue utilizado en un estudio del análisis de tetrazolio en el control de calidad de semillas. Caso de estudio: cebadilla chaqueña, por Ruiz (2009).

Cuadro 2. Criterios para la evaluación de semillas viables y no viables

<b>Viables</b>	
<b>Embrión</b>	<b>Escutelo</b>
Completamente teñido de color rojo carmín, o rosado intenso	Completamente teñido de color rojo carmín, o rosado intenso
Completamente teñido	1/3 o menos del extremo superior y/o inferior del escutelo, o sin teñir
Coleorriza y 1/3 o menos de la radícula sin teñir	Completamente teñido
<b>No Viables</b>	
Completamente teñido de color rojo carmín, o rosado más o menos intenso	Completamente sin teñir (blanco o blanco amarillento)
Completamente teñido	Más de 1/3 superior y/ o

	inferior sin teñir
Completamente teñido	Parte central del escutelo sin teñir.
Plúmula sin teñir en su totalidad, o en el extremo superior	Completamente teñido, teñido en partes, o completamente sin teñir
Radícula completamente, o más de 1/3 sin teñir	Completamente teñido, teñido en partes, o completamente sin teñir
Sin teñir en su totalidad, o de color rosa muy pálido amarillento	Completamente teñido de color rosa Pálido teñido en partes, o completamente sin teñir
Inmaduro ( pequeño y no semdistinguen bien sus partes constituyentes), sin teñir	Sin teñir
Ausente	Ausente (la semilla sólo posee endospermo)

*Fuente: Ruiz (2009).*

**b. Periodos precisos de osmoacondicionamiento (PPOSMA) y precalentamiento de semillas**

▪ G16: Para esta variable, se consideraron los días desde el inicio del tratamiento hasta que se lograra el 16% de germinación fisiológica.

▪ SG (semillas germinadas): Se consideraron el numero de semillas germinadas de forma homogénea.

### c. Prueba de germinación estándar

- PN<sub>i</sub>: Para esta variable se tomó la suma del primero y segundo conteo (14 y 25 días) después de la siembra, respectivamente, y se consideraron solo plántulas normales.

### Diseño experimental

Para cada bioensayo se utilizó un diseño experimental completamente al azar y la comparación de medias se realizó mediante la diferencia mínima significativa (DMS), con un nivel de significancia de  $P \leq 0.05\%$ , con cuatro repeticiones por tratamiento. La información se analizó utilizando el paquete estadístico SAS versión 6.0 (1999).

Ecuación:

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

$$i = 1, 2, 3, \dots, t$$

$$j = 1, 2, 3, \dots, n$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

$\mu$  = Media general

$\tau_i$  = Efecto del tratamiento i.

$\varepsilon_{ij}$  = Error aleatorio, donde  $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### a) Prueba de germinación estándar

Las semillas de Zacate Buffel tomadas para el ensayo demostraron tener los niveles más bajos de germinación, pues el hecho de ser semillas de recién cosecha influyó sobre este comportamiento, obteniéndose un 16.5% de germinación en el testigo, semillas con flósculos (Cuadro 3); no obstante el mismo lote demostró tener una capacidad de germinación superior después de remover los flósculos, siendo estadísticamente diferente y registrándose un 96% de germinación en este bioensayo; esto último, demostró el nivel de severidad de latencia que imponen la lemma y la palea.

*Cuadro 3. Comparación de medias para la prueba de germinación estándar de semillas de Zacate Buffel.*

TRAT	%GERM
Testigo: Semillas con flósculos	16.5 B
T1: Semillas sin flósculos	96 A
Media	56.25
DMS	1.2235

Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (p<0.05).

### **b) Viabilidad de semillas**

Según Ferguson (1995), citado por Salinas (2001), el primer componente de la calidad que muestra señales de deterioro es el vigor de las semillas, seguido por una reducción en la germinación o de la producción de plántulas normales, y finalmente la muerte de las semillas. De acuerdo al análisis estadístico y comparación de medias para la prueba topográfica de sal de tetrazolio (Figura 6), se encontró que la metodología más óptima para utilizar en este estudio fue la “C” (Testigo), pues mantuvo niveles aceptables de viabilidad en las semillas. Las metodologías “A y B”, tuvieron niveles no aceptables de viabilidad en las semillas tratadas con preacondicionamiento hídrico, por lo cual se descartaron durante la primera etapa del estudio. El problema principal de la pérdida de viabilidad de semillas se debió a la poca disponibilidad de oxígeno para las semillas mientras se encontraban sumergidas en su totalidad en el agua. La capa protectora de las cariósides permite un muy limitado intercambio de gases (oxígeno y CO<sub>2</sub>) por la presencia de latencia exógena, expuesta por la estructuras florales, lemma y palea, y se deterioran fisiológicamente las semillas, al estar sumergidas por periodos de tiempo muy prolongados.



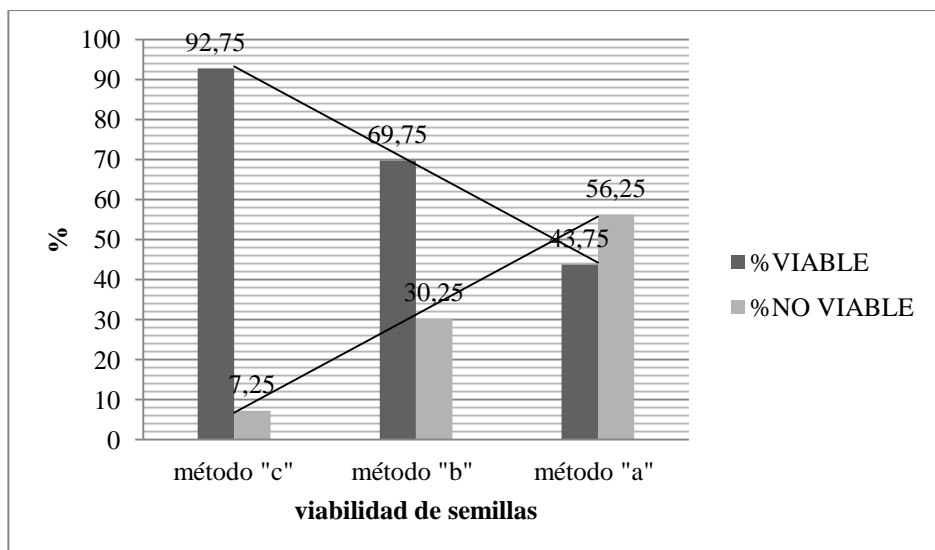


Figura 6. Comparación de medias para la prueba topográfica con sal de tetrazolio

El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre las metodologías; para la metodología "C" Testigo (Cuadro 4) los resultados de semillas viables, demostraron ser numéricamente muy similares a los de las semillas sin flósculos en prueba de germinación estándar (Cuadro 3); esto indicó que las semillas de zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris*) var. Común, no cuentan con latencia de tipo endógena, pues existió solamente una diferencia de 3.25% entre los resultados en comparación de un ensayo y otro; sabiendo que en la prueba de viabilidad se determina el porcentaje de semillas metabólicamente activas y que en la de germinación estándar, no germinan aquellas que metabólicamente están activas cuando presentan un problema de latencia, se pudo señalar, que para conocer la viabilidad de semillas zacate Buffel, es netamente confiable realizar una prueba de germinación estándar de las semillas sin flósculos.

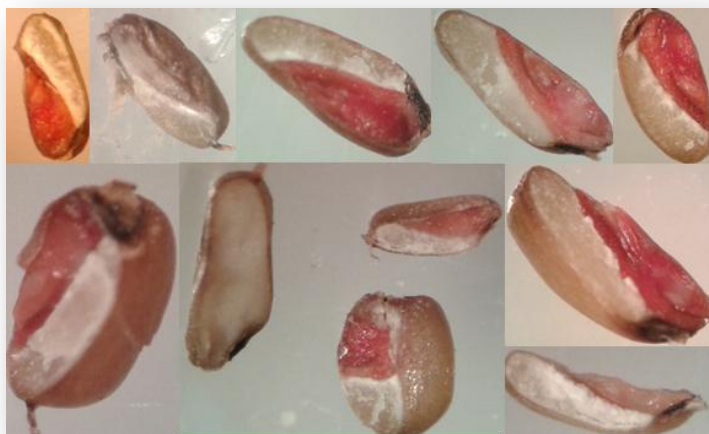
*Cuadro 4. Comparación de medias para la prueba topográfica con sal de tetrazolio.*

<b>METOD</b>	<b>%VIABLE</b>	<b>%NO VIABLE</b>
<b>c</b>	92.75 <b>A</b>	7.25 <b>C</b>
<b>b</b>	69.75 <b>B</b>	30.25 <b>B</b>
<b>a</b>	43.75 <b>C</b>	56.25 <b>A</b>
<b>MEDIA</b>	68.75	31.25
<b>DMS</b>	5.6706	5.6706

El criterio de evaluación para la prueba de sal de tetrazolio fue basado en el análisis de la tinción del embrión de las semillas del Zacate Buffel en estado de desnudes, o sin cubiertas de restos florales (flósculos). La figura 7, muestra lo obtenido durante la prueba topográfica y que se consideró como semillas viables y no viables.



✓ **Viables**



× **No viables**

*Figura 7. Prueba topográfica por sal de tetrazolio.*

### c) Tiempo óptimo de precalentamiento de semillas

Las semillas con flósculos, **T2. 40° C/ 4hrs/100HR/H<sub>2</sub>O**, resultaron ser el mejor tratamiento. Los resultados obtenidos de este bioensayo (Cuadro 5.), fueron producto de la exposición de las semillas tratadas, por los tres diferentes tiempos de precalentamiento, al preacondicionamiento hídrico, logrando obtener el primer valor G16 para T2, a diez días después de iniciado el proceso, de ahí que se aplicó este tratamiento para los bioensayos viabilidad de semillas en la metodología testigo “C” y en periodos precisos para el osmoacondicionamiento.

*Cuadro 5. Tiempo óptimo de precalentamiento de semillas*

Tratamientos	G16 (días)	SG (media)
<b>T1:2hrs.</b>	12	5.25
<b>T2: 4hrs.</b>	10	8.5
<b>T3:6hrs.</b>	16	4.75
<b>Testigo: 0 hrs</b>	25	4

**G16:** días para lograr la germinación homogénea igual o superior al 16%; **SG:** numero de semillas germinadas fisiológicamente, de manera homogénea.

### a) Periodos precisos de osmoacondicionamiento

Como se muestra en la figura 8, los periodos para T6, T7, Y T9, resultaron ser estadísticamente diferentes a los demás y en comparación al preacondicionamiento hídrico (HYDROP); esto significa que el procedimiento fue más prolongado, descartando la posibilidad de que el tratamiento haya sido mal aplicado, pues es un comportamiento que algunas soluciones salinas tienen al estar con potenciales osmóticos cercanos a los de las semillas, haciendo que la

entrada de agua sea más lenta, efectivamente evitando el daño a las membranas celulares y logrando una buena imbibición de la cariósida, sin efectuar daños a las estructuras celulares.

Los potenciales osmóticos (- 2.5, -5, -7.5 atm), durante esta prueba indicaron ser altamente tóxicos para las semillas, teniendo un mayor efecto de pérdida de semillas (nunca logrando la germinación fisiológica homogénea), con los agentes osmóticos  $\text{KNO}_3$  y  $\text{KCl}$  en comparación al PEG; Parera y Cantliffe (1994) comentaron que el polietilenglicol tiene ventajas sobre las sales inorgánicas por ser una sustancia inerte sin efectos tóxicos en el embrión, debido a que el tamaño de la molécula del PEG-8000 no le permite entrar en la semilla; Da Silva *et al.* (2007), citados por Ruiz- Ramírez (2012), reportaron que la germinación de semillas de cebada disminuyó a medida que se incrementó el nivel de salinidad, reduciendo la viabilidad y vigor de las semillas debido a que la salinidad afectó la integridad de las membranas. En esta investigación, los resultados de germinación fisiológica, demostraron ser insuficientes para considerar al PEG como un tratamiento viable con los potenciales osmóticos ya mencionados. Por lo anterior, fueron descartados los tratamientos con los tres agentes osmóticos para los potenciales osmóticos -2.5, -5. y -7.5 atm, para la segunda etapa de estudio.

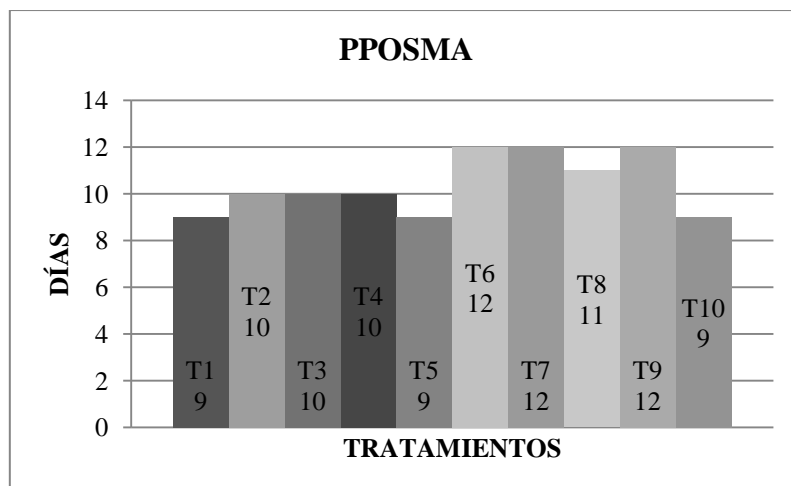


Figura 8. Períodos precisos de osmoacondicionamiento

T1:  $\text{KNO}_3/-0.5\text{atm}$ ; T2:  $\text{KNO}_3/-1\text{atm}$ ; T3:  $\text{KNO}_3/-1.5\text{atm}$ ; T4:  $\text{KCl}/-0.5\text{atm}$ ; T5:  $\text{KCl}/-1\text{atm}$ ; T6:  $\text{KCl}/-1.5\text{atm}$ ; T7:  $\text{PEG}/-0.5\text{atm}$ ; T8:  $\text{PEG}/-1\text{atm}$ ; T9:  $\text{PEG}/-1.5\text{atm}$ ; T10: Testigo/ $\text{HYDROP}/0\text{atm}$

Se encontró que Los tratamientos para los cuales se logró la G16 más rápidamente, fueron el T1, T5 y el testigo, teniendo el mayor número de semillas germinadas (SG) (Cuadro 6), mas no se asegura que sean los tratamientos más efectivos para realizar OSMA, pues para conocer eso, sería preciso un estudio posterior; donde se evaluara la calidad fisiológica de las semillas tratadas mediante estos tratamientos; no obstante, el resultado de SG permite el planteamiento hipotético, de que los tratamientos T1, T3 y el testigo puedan lograr excelentes resultados de germinación agronómica; cabe mencionar que para los tratamientos T6, T7 Y T9, que fueron los más retardados, mostraron un valor intermedio de semillas totales germinadas.

*Cuadro 6. Resultados del bioensayo periodos precisos para el osmoacondicionamiento "PPOSMA".*

<b>Tratamientos</b>	<b>G16 (días)</b>	<b>SG(media)</b>
<b>T1:</b> KNO <sub>3</sub> /-0.5atm	10	8.5
<b>T2:</b> KNO <sub>3</sub> /-1atm	11	5.25
<b>T3:</b> KNO <sub>3</sub> /-1.5atm	11	11
<b>T4:</b> KCl/-0.5atm	11	4.75
<b>T5:</b> KCl/-1atm	10	4.75
<b>T6:</b> KCl/-1.5atm	13	5.25
<b>T7:</b> PEG/-0.5atm	13	4
<b>T8:</b> PEG/-1atm	12	4
<b>T9:</b> PEG/-1.5atm	13	5
<b>T10:Testigo/HYDROP/0atm</b>	10	8.5

**G16:** días para lograr la germinación homogénea igual o superior al 16%; **SG:** numero de semillas germinadas fisiológicamente, de manera homogénea.

## CONCLUSIONES

Durante la evaluación de las tres metodologías, se logro desarrollar una que **fuera** altamente viable para el osmoacondicionamiento de semillas; de igual forma, se obtuvo información importante para la aplicación de periodos precisos para el osmoacondicionamiento de semillas para los tratamientos con los agentes osmóticos: polietilenglicol 8000,  $\text{KNO}_3$  y KCl, a diferentes concentraciones para el potencial osmótico específico (-.5, -1 y -1.5 atm); tal información tiene gran relevancia para la tecnología de eliminación de latencia exógena de las semillas de zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris*, L.) var. Común.

La metodología Testigo ("C") resultó ser la de mayor factibilidad en su implementación, logrando mantener niveles aceptables de viabilidad se las semillas tratadas, hasta un 92.75%; a la vez, se determinó que la viabilidad de las semillas de zacate Buffel, var. común, puede ser cuantificada por medio de una prueba de germinación estándar, utilizando semillas desnudas (sin glumas, ni flósculos). Para efectos del precalentamiento de semillas, se encontró que éstas tienen un mejor efecto cuando son sometidas a 40 grados centígrados de temperatura, 100% de humedad relativa y durante 4 horas de exposición. Por último, se obtuvieron los periodos precisos para el osmoacondicionamiento, siendo los tratamientos T6: KCl/-1.5atm, T7: PEG/-0.5atm y T9: PEG/-1.5atm, los más lentos en lograr la germinación fisiológica homogénea (16%), teniendo un numero

de semillas germinadas totales inferior al de los tratamientos T1: KNO<sub>3</sub>/-0.5atm, T5: KCl/-1atm y T10: Testigo/HYDROP/0atm, para los cuales se obtuvo la germinación fisiológica homogénea a menor tiempo en días desde su iniciación; esto último se presta para la formulación de una nueva hipótesis, donde se podría decir que tales tratamientos son efectivos para romper la latencia exógena de semillas de zacate Buffel (*Cenchrus ciliaris*, L) var. común.



## LITERATURA CITADA

Barros, T.S. and J.M., Filho. 2003. Accelerated aging of melon seeds. *Scientia Agrícola*. 60(1):77-82.

Campos, F., Cruz, F., Torres, A., Sánchez, A., Colmenero J., Smith, C., Covarrubias, A., y J., Vázquez. 2002. Expresión de genes codificantes para proteína, abundantes en embriogénesis tardía (lea), durante el osmoacondicionamiento de semillas de maíz y frijol. *Agrociencia* volumen 36, número 4. 461-470.

Cuadra de la, C. 1992. Germinación, Latencia y Dormición de las Semillas. Dormición en la Avena Loca. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Secretaria General de Estructuras Agrarias. Hojas divulgadoras 3. Cuesta de San Vicente, Madrid. 24 p

Gharoobi, B., Ghorbani M., and M. Ghasemi Nezhad. 2012. 'Effects of different levels of osmotic potential on germination percentage and germination rate of barley, corn and canola' *Iranian Journal of Plant Physiology* 2 (2), 413-417.

Giraudó, M. 2003. Buffel Grass, El Pasto. Marca Líquida Agropecuaria, Córdoba, 13(121):17-21.

International Seed Testing Association (ISTA). 2004. International rules for seed testing. Bassersdorf, CH-Switzerland. 700 p.

Mauromicale, G., and V. Cavallaro. 1996. Effects of seed osmopriming on germination of three herbage grasses at low temperature. *Seed Science and Technology* 24:331-338.

Marín, J., Mejía, J., Hernández, A., Peña A. y A., Carballo. 2007. Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cáscara. *Agricultura Técnica en México* Vol. 33, Núm. 2, 115-123.

Mérola, R. y S., Díaz. 2012. *Métodos, técnicas y tratamientos para inhibir dormancia en semillas de plantas forrajeras*. Febrero 23, 2015, de Facultad de Ciencias Agrarias Sitio web: <http://www.pasturasdeamerica.com/articulos-interes/notas-tecnicas/inhibir-dormancia-semillas-plantas-forrajeras/inhibir-dormancia-semillas-plantas-forrajeras.pdf>

Michel, B. 1983. Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes. *Plant Physiology*. 72:66-70.

Organero, A. y M., Gimeno. 2002. *Conceptos básicos de botánica*. Gabinete de didáctica. Sitio web: <http://www.jardibotanic.org/fotos/pdf/pub37CONCEPTOS%20BASICOS.pdf> f. Fecha de consulta: 23/02/15.

Parera A.C. and Cantliffe D.J. 1994. Presowing priming. *Horticultural Reviews* 16:109-141.

Pérez, F. 2002. Germinación y Dormición de Semillas. En: Sánchez, A., Arroyo, M. y Navarro, R. (Eds.) *Material Vegetal de Reproducción: Manejo, Conservación y Tratamiento*: 177-200. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Sevilla, España.

Quiros, W. y O., Carrillo. 2004. La importancia del insumo semilla de buena calidad. Publicaciones electrónicas del OFINASE (Oficina Nacional de Semillas). <http://www.ofinase.gov.cr>. Fecha de consulta: 05/06/15.

Ruiz, M.A. 2009. El análisis de tetrazolio en el control de calidad de semillas. Caso de estudio: cebadilla chaqueña. *EEAINTA Anguil Argentina* (77): 1-19.

Ruiz, N., Rincón, F., Bautista, V., Martínez, J., Burciaga, H., y M., Olvera. 2012. Calidad Fisiológica en Dos Poblaciones de Maíz Criollo Mejorado. *Agraria* 9 (2): 43-48.

Ruiz, S., Valdés, A., Facio, F., y L., Arce. (2012). Efecto de Diferentes Niveles de Salinidad en la Germinación y Vigor de Semillas de Cinco Gramíneas Forrajeras. *Agraria* 9 (1): 7-13

Salinas, A.R., Yoldjian, A.M., Craviotto, R.M. y V., Bisaro. 2001. Pruebas de vigor y calidad fisiológica de semillas de soja. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 36(2): 371-379.

Schrauf, G. E., Cornagliam P. S., Deregibus V. A. and M. G., Ríssola. (1995) Improvement in germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds under different pre-conditioning treatments, *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 38:4, 501-509, DOI: [10.1080/00288233.1995.9513152](https://doi.org/10.1080/00288233.1995.9513152)

Siebert, E.T., and M.D., Richardson. 2002. Effects of Osmopriming on Bermudagrass Germination and Establishment. *Horticultural Studies. AAES Research Series 506*. P. 36-38.

Suárez, D. y L. M., Melgarejo. 2010. *Biología y germinación de semillas*. Capítulo 1, pp. 13-24. En: Melgarejo, L. M. (Ed.). *Experimentos en fisiología vegetal*. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 277 pp.

Statistical Analysis System (SAS Institute). 1999. *The SAS system for windows version eight*. Cary, NC, USA.

Taylor A.G., Allen P.S., Bennet M.A., Bradford K.J., Burris J.S., and M.K., Misra. 1998. Seed enhancements. *Seed Sci. Res.* 8:245-256.

Terenti, O. 2004. Calidad de semilla, lo que implica y como evaluarla. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. San Luis, Argentina. Publicaciones electrónicas del Sitio Argentino de Producción Animal. <http://www.produccion-animal.com.ar>. Fecha de consulta: 5/5/2015.

Váldez, A; Gamboa, R; Rosales, ER. 1978. Pasto Buffel para el norte de Tamaulipas. Centro de Investigaciones Agrícolas del Golfo Norte. Campo Experimental Agrícola de Río Bravo. p. 1-24.

Varela, A. S. y V., Arana. 2011. Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. Serie Técnica: "sistemas forestales integrados". Sección silvicultura en vivero, cuadernillo Núm. 3. Área Forestal-INTAEEA. Bariloche, Argentina. 10 p.

Welbaum G., Shen, Z., Oluoch, M. and L., Jett. 1998. The evolution and effects of priming vegetable seeds. *Seed and Technol.* 20(2):209-235.

Wiggans, S.C. and P.F., Gardner. 1959. Effectiveness of various solutions for simulating drought conditions as measured by germination and seedling growth. *Agron. J.* 51:315-318.