

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Comparación de Genotipos de Cebada (*Hordeum vulgare L.*) y Otras Especies de Cereales Mediante Envejecimiento Acelerado y Contenido de Proteínas.

Por:

GRACIELA FLORES SUÁREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Comparación de Genotipos de Cebada (*Hordeum vulgare L.*) y Otras Especies de
Cereales Mediante Envejecimiento Acelerado y Contenido de Proteínas.

Por:

GRACIELA FLORES SUÁREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Aprobada por el Comité de Asesoría:



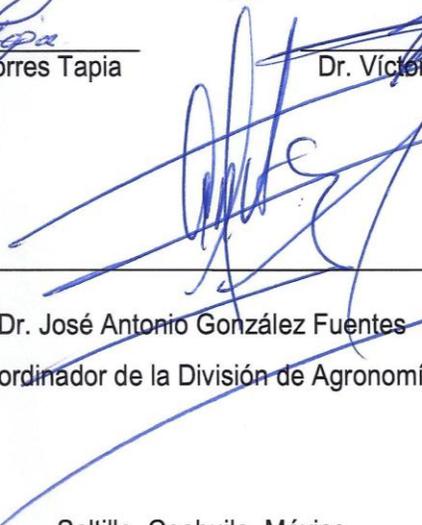
M.C. Modesto Colín Rico
Asesor Principal



M.P. María Alejandra Torres Tapia
Coasesor



Dr. Víctor Manuel Zamora Villa
Coasesor



Dr. José Antonio González Fuentes
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre 2019

AGRADECIMIENTOS

A DIOS y Mi Virgencita de Guadalupe

Por permitirme terminar mis estudios satisfactoriamente, sobre todo por darme la dicha de vivir cada día, de llenarme de sabiduría, y bendiciones proporcionándome la fortaleza de vencer todos los obstáculos, y hacer realidad este sueño.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Por brindarme los conocimientos necesarios y la oportunidad de ofrecerme un desarrollo profesional durante mis estudios. Siempre estaré Orgullosa de ser parte de la Narro

A la M.P. María Alejandra Torres Tapia

Por su valiosa asesoría para la realización de esta investigación así como su confianza depositada en mí para llevarla a cabo, por darme la oportunidad de realizar este trabajo, sobre todo por su apoyo incondicional y observaciones durante este proyecto de investigación. Al igual que su grandiosa amistad.

Al Dr. Víctor Manuel Zamora Villa

Por su apoyo brindado, y sus atinadas sugerencias para la realización de esta investigación. Siendo una persona de suma importancia en cuanto a mi aprendizaje dentro de la Universidad.

Al Ing. Modesto Colín Rico

Por su aportación, sugerencias, apoyo y elaboración del trabajo de investigación, así como la elaboración del mismo y llegar a la culminación del proyecto, de antemano gracias por su dedicación a la revisión.

A la TLQ Martha Alicia Jaramillo Sánchez

Por el apoyo brindado para la realización de esta investigación, y por su apreciable amistad.

A la M.C. Norma Irene Hernández Figueroa

Por su gran apoyo incondicional, por brindarme todo lo necesario para concluir este sueño, no tengo palabras ni como agradecerle inmensamente todo lo que hizo por mí, más que nada por su confianza, sus consejos y las esperanzas a cada momento para lograr esta gran meta, es usted una parte importante y especial de este sueño hecho realidad, más que una maestra fue amiga, compañera, casi como una madre, de todo corazón un agradecimiento infinito por siempre estar al pendiente de mí, durante mis estudios en la Universidad.

DEDICATORIAS

A MI MADRE

Ma. Antonia Suárez Suárez

Primeramente gracias por darme la vida, que no tendría como pagarle todos los esfuerzos que ha hecho por mí, pero sobre todo por su cariño, sus consejos, por enseñarme a como ir por la vida gracias madre mía.

Este gran paso tan importante que he dado es gracias a usted, es mi fuente de inspiración y grandeza para lograr todo lo que más anhele en la vida, todo gracias a su ejemplo de fortaleza.

A mis hermanos

José Bernardino, María de los Ángeles, José Guadalupe, Juan Enríque, Martha Elena, Felipe de Jesús, Rogelio, Ana María y Elizabeth.

Gracias a todos por darme su apoyo incondicional, su confianza y la seguridad de seguir adelante porque para nosotros los Suárez no hay imposibles, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, ustedes me motivaron para culminar mi formación profesional, me brindaron apoyo moral y económico a lo largo de esta estancia como estudiante. Así como también por el gran amor que nos ha hecho permanecer juntos y que ha sido el pilar en la unión de nuestra familia.

A mis hijas

Miriam Adalyn y Arelí Saray

Simplemente gracias por existir, no hay nada que se compare con lo que ustedes me inspiran a seguir, llegaron a mi vida para hacerla aún mejor. Y ser para ustedes un ejemplo a seguir, gracias por ser mi motor de vida, que habré hecho en otra vida para merecerlas. Porque gracias a ustedes mis niñas he logrado esta etapa universitaria, siempre estaré para apoyarlas en todos sus sueños y metas que se forjen al paso de su vida, son mi motivo de inspiración.

A Kevin Jair Morales Valadéz

Gracias por estar conmigo en este trayecto de mi vida, por ser parte de este sueño anhelado pero ante todo por estar ahí en las buenas y en las malas, por todos tus consejos y apoyo, eres una persona muy especial en mi vida, nunca imagine encontrar una persona como tú. Pero ante todo gracias por darme un hermoso motivo para vivir.

A mis amigos

Paula Esmeralda Moreno Trujillo, Tania Joselyn Jiménez García, Yesica Yazmín Hernández Guzmán, Leandi Araceli García Velasco, Amacalli Lira Moreno, Víctor Manuel Hernández Pérez, Jesús Pérez García, Jonathan López Ruiz

Gracias a todos ustedes por formar parte de este gran sueño que como todos ustedes saben también fue el de mi hermano Rogelio Flores Suarez, y gracias a su valentía y ánimos para seguir estudiando fue como los conocí a todos, formándonos historias, recuerdos, anhelos, forjando sueños todos en dirección a ser mejores y lo hemos logrado. Gracias a todos ustedes por ser parte importante dentro de este trayecto como estudiante.

A mis compañeros de hogar

Kevin Jair Morales Valadéz, Jorge Luis Avilés Alvarado, Luis Alfredo Ortega Monarrez, Marco Aurelio Rojas Cruz, Yairit Francisco Martínez, Gerardo García Martínez.

Infinitamente gracias por formar parte de esta misión que hoy estoy cumpliendo, por recorrer junto conmigo este camino con el objetivo de graduarme como ingeniero, teniendo buenas y malas experiencias lo he logrado y ustedes fueron testigo de ello, con paso firme labrado mi destino gracias por su apoyo incondicional y confianza porque con ustedes nos solo conocí al amigo sino también al hermano. Y no hay que olvidar jamás que; ¡Nadie sabe de lo que es capaz, si no se atreve y lo intenta!

Alejandro Cabrera Cruz

Gracias por formar parte de este sueño anhelado. Y sobre todo por tus apreciadas atenciones, por el gran cariño que te tengo y por estar siempre al pendiente.

Eduin Santiago Gutiérrez Méndez

Siempre hay que encontrar el tiempo para agradecer a las personas que hacen una diferencia en nuestra vida, siendo tu parte importante de esta meta, hay momentos que son especiales por si solos, y tú que los has convertido en inolvidables, te quiero.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	3
Objetivos específicos	3
Hipótesis	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Cereales	5
Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	7
Calidad de la semilla.....	11
Relación de las proteínas con la calidad fisiológica de la semilla.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
Ubicación del estudio.....	20
Material genético	20
Metodología	21
Diseño Experimental.....	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
Etapa 1: Deterioro artificial mediante Envejecimiento Acelerado (EA)	29
Etapa 2: Estudio de proteínas	36
Tipos de proteína.....	39
Relación entre variables	42
CONCLUSIONES.....	44
LITERATURA CITADA.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1 Identificación de genotipos estudiados, Noviembre, 2017.....	20
Cuadro 3.2 Soluciones para la preparación de geles, de corrida y concentrador en la prueba de electroforesis vertical.....	26
Cuadro 4.1 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de las variables evaluadas en la prueba de germinación de los genotipos de cebada. ..	29
Cuadro 4.2 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de las variables de contenido de proteína de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.....	36
Cuadro 4.3 Resultados de del análisis de correlaciones y desviación estándar entre las variables evaluadas en el estudio de 25 genotipos de cereales de granos pequeño.....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1 Preparación de muestras para la cuantificación y cualificación de proteínas de los genotipos estudiados.....	22
Figura 3.2 Evaluación de la prueba de capacidad de germinación después del envejecimiento acelerado.	23
Figura 3.3 Evaluación del vigor mediante longitud media de plúmula y peso seco....	24
Figura 3.4 Cuantificación de proteínas mediante solubilidad y utilizando un espectrofotómetro Modelo Serie BioMate 3	25
Figura 3.5 Aplicación de la solución “A” (Etanol al 70 %, Pironina Y/G y agua destilada) para la extracción de gliadinas.	25
Figura 3.6 Espectrofotómetro vertical para cualificación de proteínas	27
Figura 3.7 Proceso de tinción y desteñido de gel de poliacrilamida para cualificación de proteínas.....	27
Figura 3.8 Conservación del gel de poliacrilamida y foto-documentador Marca Labnet International, Inc.....	27
Figura 4.1 Resultado de comparación de medias en la variable PN después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.	30
Figura 4.2 Resultado de comparación de medias de la variable PA después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.	32

Figura 4.3 Resultado de comparación de medias de la variable SSG después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.	33
Figura 4.4 Resultado de comparación de medias de la variable LMP después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.	34
Figura 4.5 Resultado de comparación de medias de la variable tasa de crecimiento de plántula (PS) después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.	35
Figura 4.6 Resultado de comparación de medias en contenido de proteína Albúmina de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.	37
Figura 4.7 Resultado de comparación de medias en contenido de proteína Gliadina de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.	38
Figura 4.8 Resultado de comparación de medias en contenido de proteína Glutelina de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.	39
Figura 4.9 Separación por electroforesis vertical PAGE-SDS de gliadinas en genotipos de cebada y otras especies de cereales de grano pequeño (*Marcador molecular).	40
Figura 4.10 Separación por electroforesis vertical PAGE-SDS de glutelinas en genotipos de cebada y otras especies de cereales de grano pequeño (*Marcador molecular).	40
Figura 4.11 Separación por electroforesis vertical PAGE-SDS de albuminas en genotipos de cebada y otras especies de cereales de grano pequeño (*Marcador molecular).	41

RESUMEN

Los cereales son una de las principales fuentes de alimentación para la humanidad; sin embargo, es de importancia considerar las diferentes utilidades en el que pueden ser aprovechados para beneficio del ser humano, como es la producción de alimento para animales ya sea en verde o en grano, teniendo al cultivo de cebada como buena alternativa por sus ventajas sobre otros cereales del mismo ciclo, por ser un cultivo vigoroso, resistente a la sequía, a la salinidad y puede cultivarse en suelos marginales; además de presentar rápido desarrollo, por lo que produce forraje y/o grano en relativamente menor tiempo y costo en comparación con otros cereales. La producción de semilla de cebada requiere estar dentro de los estándares de calidad debido a su demanda y a que cada vez es más competitiva frente a otros cereales, teniendo la necesidad de contar con nuevas variedades que aporten mayor producción y calidad de semilla. Este concepto de calidad, engloba a un conjunto de atributos físicos, fisiológicos, genéticos y sanitarios; en este estudio, se consideraron de interés los atributos fisiológicos, así como a la bioquímica de la semilla para aportar información sobre nuevos materiales genéticos de cebada forrajera imberbe, desarrollados por el Programa de cereales de la UAAAN, en los cuales no se ha estudiado sobre las proteínas presentes en semillas, ni la respuesta del vigor aplicando deterioro artificial a través del envejecimiento acelerado, se compararon 20 nuevos genotipos de cebada forrajera imberbe, una avena cv. Cuauhtémoc, dos cebadas comerciales cv. Cerro Prieto y cv. GABYAN95, una línea de trigo experimental AN-366 y triticale cv. Eronga-83, a través de parámetros de vigor por el envejecimiento acelerado, tipo y cantidad de proteínas presentes en la semilla de cada material genético. El estudio se realizó en dos etapas: 1) Deterioro artificial de la semilla mediante Envejecimiento Acelerado (EA), a $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 72 horas con una HR de 95 %; al término se evaluó la calidad fisiológica con las pruebas de germinación y vigor teniendo como variables: porcentaje de Plántulas Normales (PN), Plántulas Anormales (PA) y Semillas Sin Germinar (SSG); en el vigor: Longitud de Plúmula (LMP) y Peso Seco de plántula (PS); y 2) El estudio de proteínas a través de la

cuantificación con el reactivo de Bradford y con un espectrofotómetro a 595 nm y, la cualificación mediante electroforesis vertical en gel de poliacrilamida-Sulfato dodécil de sodio (PEG-SDS), determinando las proteínas: Albúminas, Gliadinas y Glutelinas. Los resultados de las variables se analizaron en bloques completamente al azar, en la primera etapa en cuatro repeticiones, y la segunda en dos, además con los promedios de cada variable, se realizaron pruebas de comparación y correlaciones. El resultado del análisis de varianza indicó diferencias altamente significativas en las variables evaluadas en la primera etapa con excepción del porcentaje de PA, destacando en comparación de medias a Cerro prieto, avena y los genotipos G16 y G1 con los más altos porcentajes de PN después del envejecimiento acelerado por arriba del 79%, mientras que los genotipos G4, G5, G14, G19, G18, G11 y G9 fueron los más afectados por el EA, al tener los más bajos valores de germinación y por consecuencia presentaron los mayores porcentajes de SSG. En cuanto a la variable LMP, Cerro prieto, trigo, triticale y avena junto a los genitpos G1 y G3 resultaron en el primer grupo estadístico con la longitud más alta desde 9.49 a 9.6 cm pl^{-1} ; en cambio en la variable PS, los genotipos G4, G9, G2, G8, G1 y GABYAN95 entre otros tuvieron mayor peso acumulado en las plántulas desde 18.54 a 14.0 mg pl^{-1} , que los testigos de otras especies incluyendo a Cerro prieto. Con respecto al estudio del contenido de proteínas, destacaron los genotipos G4, G9, Cerro prieto y GABYAN95 entre otros al tener la mayor concentración de albuminas desde 719.23 a 684.17 $\mu g mL^{-1}$; mientras G16, G4, G18 y avena con las más altas concentraciones de glutelina arriba de 1,000 $\mu g mL^{-1}$; y destacando nuevamente el genotipo G16 y G18 junto a otros genotipos de cebada forrajera en el contenido de gliadinas por arriba de 600 $\mu g mL^{-1}$. Con respecto a los resultados de la cualificación de proteínas, se logró identificar la misma proteína gliadinas a G17 y G19, así como los testigos con un peso molecular de 97.4 a 116.3 kD, lo que indica que se trata de un mismo tipo de proteína; mientras que a los genotipos G9 al G17 y testigos avena, Cerro prieto y triticale se les encontraron glutelinas con pesos moleculares entre 67.8 a 45.0 kD. En el resultado del análisis de correlaciones entre variables, se encontró relación positiva y significativa en PN

con PA y LMP, así como negativa con SSG; además el PS presentó una relación positiva y significativa con el contenido de albúminas en las semillas. En conclusión, existe un efecto en el vigor entre los genotipos a través del EA, teniendo un alto vigor G16, G15, G1, Cerro prieto y avena Cuauhtémoc, con alto porcentaje de PN; pero sobresalieron G4 y GABYAN95 en PS. En el estudio de proteínas, G16 y G18 se distinguieron con alta contenido de glutelinas y gliadinas pero baja albúmina; mientras avena presentó alta glutelina pero baja gliadina y albúmina. Al presentarse mayor PN, se tendrá mayor PS y LMP, además bajo porcentaje de SSG, comportamientos dados por G1, G13, G16, Cerro prieto y trigo AN-366. Al existir relación positiva entre albúminas y PS, es debido a que estas proteínas son estructurales, a mayor PS se tendrá mayor contenido y viceversa, como fueron G4, G9 y GABYAN95

INTRODUCCIÓN

Los cereales son una de las principales fuentes de alimentación para la humanidad. Se estima que los cereales aportan más de 50% de la energía total consumida por la población humana. A nivel mundial, después del trigo maíz y arroz, la cebada ocupa el cuarto cereal cultivado, pertenece al género *Hordeum*, y dentro de este género se encuentran las especies: *H. vulgare*, L., y *H. distichum*, L., la primera de seis hileras y la segunda de dos hileras; además, se considera uno de los cultivos más antiguos, por tener más de 15,000 años bajo el cuidado del hombre y cuyos granos se utilizaron para la panificación incluso antes que el trigo.

Es de importancia considerar que se tienen diferentes utilidades de los cereales que resultan aprovechados de manera indirecta para beneficio del ser humano, como es el alimento para ganado, que al final del producto (forraje o grano) o de la materia prima (semillas) con que se genera el producto, debe contar con ciertas características o adaptación a diferentes condiciones climáticas y ser competitivos en el mercado agrícola, como es la cebada que tiene algunas ventajas sobre otros cereales que se producen en el mismo ciclo, por ser vigoroso, resistente a la sequía, a la salinidad y puede cultivarse en suelos marginales; además de presentar rápido desarrollo, por lo que produce forraje y/o grano en relativamente menor tiempo y costo en comparación con otros cereales (Colín *et al.*,2007).

Sin embargo, la producción de semilla de cebada requiere estar dentro de los estándares de calidad debido a su demanda y que cada vez es más competitiva frente a otros cereales, por lo que se debe contar con nuevas o mejores variedades comerciales, así como nuevas tecnologías de producción que aporte el incrementar la producción y obtener una mejor calidad de la semilla (García, 2003). Se sabe que la cariósida o grano maduro de una semilla está compuesta de proteínas, carbohidratos, compuestos nitrogenados, lípidos, vitaminas y sales minerales.

Estos componentes químicos toman un papel importante en los procesos metabólicos, fisiológicos y anatómicos en la semilla, generando resistencia,

tolerancia, longevidad, adaptabilidad en un lote de semillas, lo que puede ser medido de manera indirecta a través de pruebas de calidad; sin embargo, según Guerrero (2003) menciona que en la mayoría de los cereales se encuentran al menos cuatro fracciones proteicas como son las solubles que están constituidas por albúminas y globulinas y las insolubles constituidas por prolaminas y glutelinas. De acuerdo al valor nutritivo, las proteínas de las harinas de los cereales varían en su composición de aminoácidos pero el contenido de lisina de todos ellos es bajo y también el contenido de metionina, especialmente en el trigo, el centeno, la cebada, la avena y el maíz comparados con la proteína de la carne, los huevos y la leche. Al estudiar estas proteínas las cuales se encuentran en los cereales, podemos obtener el papel que desempeñan en cuanto a la calidad de la semilla.

La calidad de la semilla es un concepto agronómico múltiple que engloba a un conjunto de atributos físicos, fisiológicos, genéticos y sanitarios (Bishaw, 2007), donde el atributo fisiológico, es determinado por parámetros que evalúan la viabilidad, germinación y vigor de una semilla, dentro de este último se encuentra el envejecimiento acelerado, prueba más aplicada a semillas comerciales basada en el deterioro artificial de la misma (Vashisth, 2009; Durán *et al.*, 2011) por su exposición a temperaturas y humedades relativas altas (González, 2014), mermando su capacidad germinativa, el crecimiento inicial de plántulas, tolerancia a condiciones adversas en forma desuniforme en las semillas, aún en un mismo lote (McDonald, 1999; Mohammadi, H., y Soltani, *et al.*, 2011).

El Programa de cereales de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ha generado nuevos materiales genéticos de cebada forrajera imberbe, que dentro de la bioquímica de semillas no se ha determinado, ni estudiado el tipo y cantidad de proteínas presentes en semillas, así tampoco se ha tenido información de su relación con el vigor de la semilla aplicando deterioro artificial a través del envejecimiento acelerado, por lo cual se plantearon los siguientes objetivos general y específicos:

Objetivo general

Comparar 22 genotipos de cebada y otras especies de cereales (avena, trigo, triticale) a través de parámetros de vigor por el envejecimiento acelerado, tipo y cantidad de proteínas presente en la semilla de cada material genético.

Objetivos específicos

- Determinar el efecto del vigor por deterioro artificial (envejecimiento acelerado) de 20 progenies de cebada forrajera, dos cebadas comerciales variedades Cerro prieto y GABYAN95, una avena comercial variedad Cuauhtémoc, una línea experimental de trigo AN-366 y una variedad de triticale Eronga 83.
- Determinar el tipo y cantidad de proteína presente en semillas de los genotipos antes mencionados, mediante espectrofotometría y electroforesis vertical.

Hipótesis

- Al menos una de las progenies de cebada forrajera presenta una mejor respuesta y diferente al resto de materiales genéticos estudiados en alguno de los parámetros de vigor mediante el envejecimiento acelerado.
- Al menos una de las progenies de cebada forrajera, presenta en la semilla una cantidad y tipo de proteína diferente al resto de los genotipos estudiados.
- El contenido de gliadinas y glutelinas tiene una relación con los parámetros de vigor en cuanto al del envejecimiento acelerado en los materiales genéticos estudiados.

REVISIÓN DE LITERATURA

Cereales

La producción de cereales tiene un papel preponderante en la actividad agrícola mundial. De todos los cultivos agrícolas, los cereales son generalmente considerados como los más importantes. Se siembran en cerca del 75% de la superficie cultivada del mundo, y suministran directamente cerca de dos tercios de la energía y la mitad de la proteína de las necesidades del mundo, indirectamente suministrada en grandes cantidades de comida cuando se convierte en carne, leche, huevo, etc.

Con el crecimiento de la población humana, la demanda de cereales se incrementará considerablemente para el año 2030. Por ello, los rendimientos medios mundiales de trigo (2.8 t ha^{-1}) y cebada (2.7 t ha^{-1}), deberían aumentar a 4.4 y 4.1 t ha^{-1} , respectivamente, hacia el año 2030 para cubrir los requerimientos esperados. Madrigal (2013) cita a (Santoyo y Quiroz, 2004). Sin embargo, menciona que el cambio climático en muchos casos, ha llamado la atención sobre la capacidad de mantener la productividad y realizar un manejo sustentable de recursos en las áreas donde se producen cereales como trigo, cebada, avena y triticale.

Estadísticas indican que en México, la producción de cebada se concentra en la zona centro del país principalmente en Hidalgo, Tlaxcala, México, Guanajuato, Puebla, Zacatecas, Michoacán y Querétaro. En conjunto, produjeron en promedio casi 90 % del total de la cebada en México durante el periodo 2000-2007. Durante el ciclo de primavera – verano se produce 75 % de la producción nacional, aproximadamente 99 % es sembrado bajo condiciones de temporal. En el ciclo de otoño – invierno se produce el 25 por ciento restante, de éste, casi 95 % es bajo condiciones de riego. El incremento de la producción principalmente en zonas de temporal hace necesario la obtención de variedades con mayor rendimiento, tolerancia a las principales enfermedades, calidad maltera y cervecera (Solano *et al.*, 2008)

Cereales de grano pequeño

El grupo forrajero denominado cereales, comprende a todas aquellas plantas pertenecientes a la familia de las Gramíneas que se cultivan mayoritariamente para la producción de cereal grano: trigo, cebada, avena, centeno y triticale. Representan el 30 % de la superficie total destinada a la producción forrajera. El 97 % de las hectáreas dedicadas a producir cereales de invierno para uso forrajero son de secano. La forma de aprovechamiento más importante es el consumo en verde (49 %), seguido de la de heno con un 42 %, y la fracción restante, como ensilado.

En condiciones templadas bajo riego o temporal del Estado de México, los cultivos más empleados son avena, ballico anual, veza, cebada, triticale y trigo, que se caracterizan por producir un volumen alto de forraje de buena calidad en un periodo corto de tiempo. La mayor disponibilidad de forraje suele presentarse durante los meses de marzo a septiembre, y a partir de octubre hasta inicios de marzo existe una marcada reducción de forraje por efecto de temperaturas bajas y presencia de heladas, que limitan la capacidad fotosintética, persistencia y rendimiento de forraje.

Los cereales de grano pequeño pueden utilizarse como corte o como pastoreo, en el suroeste de E. U. A., se siembra un área considerable de hectáreas de trigo invernal para doble propósito. La producción de forraje es importante en aquellas zonas donde se cosecha para verdeo o silo, es necesario considerar el rebrote si va a ser pastoreado y/o posteriormente se deja para producir semilla (Brownch y Patterson, 1992). En este caso la producción de forraje es influenciado por el genotipo, aunque se pone énfasis por parte de los mejoradores en este aspecto, considerándose principalmente la producción de grano (Briggle y Reitz, 1963).

Cebada (*Hordeum vulgare* L.)

La cebada es un cultivo radicado en México, y su importancia es por su uso en la alimentación de ganado y por su demanda en la industria de la cerveza. Por lo general los países que más la producen la utilizan en esas dos formas.

La cebada es mayormente utilizada para la alimentación de ganado vacuno debido a sus propiedades nutritivas, se cultiva principalmente en Norte América y Europa, las formas en que se consume la cebada en la alimentación pecuaria son: mediante el pastoreo, en forraje para henificado o ensilado, uso del grano en dietas de engorda o mediante el uso de la paja como complemento alimenticio. Debido a su composición química, el grano de cebada se considera una importante fuente de proteína, carbohidratos y minerales que pueden ser incluidos en las dietas de pequeños rumiantes, ganado monogástrico y aves de corral (Zamora y Pérez, 2017)

Origen geográfico

La cebada se cree que fue una de las primeras plantas domesticadas al comienzo de la agricultura. Poehlman (1981), que describe dos centros de origen. Uno de ellos; Etiopía y África del Norte, de donde proceden muchas de las variedades cubiertas con barbas largas, mientras que del otro centro; China, Japón y el Tíbet, proceden las variedades desnudas, de barbas cortas o imberbes y los tipos de granos cubiertos por caperuzas.

Las cebadas cultivadas se han clasificado recientemente dentro de tres especies:

Hordeum vulgare: de seis carreras con tres florecillas fértiles en cada uno de los nudos del raquis donde los granos laterales son ligeramente más pequeños que los del centro.

Hordeum distichum: de dos carreras, solamente las flores de la hilera central producen granos normalmente ya que la florecillas laterales tienen sus órganos sexuales reducidos.

Hordeum irregulare: las florecillas centrales son fértiles, las florecillas laterales pueden ser estériles, sin sexo, estando distribuida de un modo irregular la proporción de las mismas en la espiga.

Su importancia

La cebada (*Hordeum vulgare*L.) es el cuarto cereal más cultivado en el mundo después del trigo, el maíz y el arroz (Alam *et al.*, 2006), se considera el segundo cultivo de invierno en importancia y tiene como destino la producción de malta para la elaboración de cerveza, utilizándose para otros destinos rechazos o excedentes. El desarrollo de cultivares con adaptación, potencial creciente de rendimiento y alta calidad maltera es esencial para su viabilidad como opción agrícola.

Hernández (1987), menciona que pocos cultivos tienen la importancia social de la cebada, ya que de la producción de este cereal dependen económicamente más de 36,000 familias en zonas temporales del país. El cultivo de la cebada tiene la ventaja de que en países de invierno benigno se puede producir durante todo el año debido a su amplia adaptación, por lo cual se considera de invierno y primavera.

Considerando las características que presenta la cebada en cuanto a su rusticidad y tomando en cuenta que aproximadamente el 80% del área agrícola en nuestro país es de temporal, el aprovechamiento de este cultivo es de gran importancia para su establecimiento sobre todo en aquellas áreas en las que otros cultivos no prosperan.

Clasificación taxonómica

Méndez (2004) cita la siguiente clasificación taxonómica para la cebada.

Reino: Vegetal.
División: *Tracheophyta*.
Subdivisión: *Pterosidae*.

Clase:	Angiosperma.
Subclase:	<i>Monocotiledónea.</i>
Grupo:	<i>Glumiflora.</i>
Orden:	<i>Graminales.</i>
Familia:	<i>Poaceae.</i>
Género:	<i>Hordeum.</i>
Especie:	<i>vulgare</i>

Las cebadas cultivadas se distinguen por el número de espiguillas que quedan en cada diente del raquis. Si queda solamente la espiguilla intermedia, mientras abortan las laterales, tendremos la cebada de dos carreras (*Hordeum distichum*), si aborta la espiguilla central, quedando las dos espiguillas laterales, tendremos la cebada de cuatro carreras (*Hordeum tetrastichum*) (Guerrero, 1999).

Descripción botánica

La cebada tiene un ámbito de crecimiento anual, con tendencias a convertirse en perenne bajo condiciones muy especiales. Existen variedades de cebada de primavera e invierno. Las de primavera tienen un ciclo vegetativo corto, de 60 a 70 días. Se siembra a fines del invierno o al principio de la primavera. Tiene un coeficiente de transpiración superior al trigo, aunque, por ser el ciclo más corto, la cantidad de agua absorbida es algo inferior.

Hojas

La cebada es una planta de hojas estrechas y color verde claro. La planta de cebada suele tener un color verde más claro que el del trigo y en los primeros estadios de su desarrollo la planta de trigo suele ser más erguida.

Raíces

El sistema radicular es fasciculado, fibroso y alcanza poca profundidad en comparación con el de otros cereales. Se estima que un 60% del peso de las raíces se encuentra en los primeros 25 cm del suelo y que las raíces apenas alcanzan 1.20 m de profundidad.

Zúñiga (1987) menciona que los tallos llegan a medir en promedio de 20 cm en las variedades cortas bajo condiciones de sequía y 154 cm en variedades altas en buenas condiciones de manejo.

Tallo

El tallo es erecto, grueso, formado por unos seis u ocho entrenudos, los cuales son más anchos en la parte central que en los extremos junto a los nudos. La altura de los tallos depende de las variedades y oscila desde 0.50 m a un metro.

Flores

Las flores tienen tres estambres y un pistilo de dos estigmas. Es autógama. Las flores abren después de haberse realizado la fecundación, lo que tiene importancia para la conservación de los caracteres de una variedad determinada.

Fruto

El fruto es un cariósipide, con las glumillas adheridas, salvo en el caso de la cebada desnuda.

Grano o semilla

El tamaño del grano depende de la influencia del ambiente y sus dimensiones varían como sigue: puede alcanzar una longitud máxima de 9.5 mm y una mínima de 6.0 mm; de ancho mide entre 1.5 y 4.0 mm.

Robles (1990), establece que la cebada tiene un hábito de crecimiento anual, con tendencia a convertirse en perenne bajo condiciones muy especiales. Existen variedades de primavera e invierno. Las primeras tienen un ciclo corto de 80 a 90 días, se siembran a fines de invierno o a principios de primavera, usadas principalmente para la producción de grano. Las variedades de invierno poseen un ciclo hasta de 160 días, utilizadas principalmente para la producción de forraje.

La madurez fisiológica es el punto máximo que alcanza la vida de las semillas. o el grano Delouche, (1974). En este punto las semillas logran el máximo peso seco, la máxima germinación y el máximo vigor. Después de la madurez fisiológica, la calidad de la semilla empieza a disminuir. La calidad puede ser controlada al

cosechar la semilla en el momento más adecuado y más tarde con la manipulación de las condiciones de almacenaje. Para el momento óptimo de la cosecha de la semilla es importante tomar en cuenta varios factores, estos son: contenido de humedad de la semilla, etapa adecuada para cosechar (ya sea en madurez fisiológica y después de madurez fisiológica), temperatura del lugar, humedad relativa etc.

Por otra parte Roque (2010) cita a Olmos (1995), dice que para cosechar la cebada hay que esperar a que madure el grano (que esté lleno, seco y de un color amarillo uniforme), sin embargo, no debe de retardarse esta operación para evitar pérdidas por desgrane. Si se cosecha mecánicamente, debe de ajustarse bien la trilladora para evitar pelar o quebrar grano, por lo cual se debe evitar cosechar grano con humedad arriba del 16.5%, porque al secarse este se chupa. La cebada con humedad arriba de 13.5% no debe de almacenarse debido a que se calienta, favoreciendo el desarrollo de hongos, afectando su germinación y reduciendo su calidad.

Calidad de la semilla

La calidad de la semilla es determinada por cuatro atributos: genético, visto a través de las variedades mejoradas; físico, esto es de los componentes tradicionales de pureza, a la incidencia y a la severidad de daño mecánico; sanitario, tipo e incidencia de enfermedades transmitidos por semilla y fisiológico a través de germinación y vigor.

La calidad fisiológica de la semilla incluye aquellos atributos intrínsecos de las semillas las cuales determinan su capacidad para germinar y emerger rápidamente, así como para producir una población uniforme de plantas vigorosas bajo un rango de condiciones de campo que pueden ser encontradas desde el momento de sembrar, hasta en el proceso de control de calidad de semillas que utilizan varias pruebas para determinar su valor como semillas y ser sembradas. La calidad de la semilla es un término relativo y significa el grado de

excelencia cuando se compara con un estándar aceptable.

Thomson (1979), menciona que la calidad de semillas es un concepto múltiple que puede ser calificado particularmente a partir de ciertos atributos como pureza varietal, germinación, vigor, sanidad, apariencia, uniformidad, pureza física, daño mecánico, estado de madurez.

Bishaw *et al.* (2007), mencionan que la calidad de la semilla es un concepto agronómico múltiple que engloba al conjunto de atributos mencionados.

De acuerdo a Moreno (1996), entre los factores que afectan la viabilidad de las semillas se pueden citar: el genotipo, el medio ambiente, la nutrición de la planta, el estado de madurez al momento de la cosecha, tamaño, peso volumétrico, daño físico, deterioro y envejecimiento, tiempo de almacenamiento y patógenos presentes en la semilla.

Flores (1993), menciona que la calidad fisiológica se refiere a parámetros de viabilidad de la misma, a la capacidad de germinación y el vigor para establecer nuevos individuos y que como unidad biológica puede sufrir alteraciones.

Calidad genética

El género *Hordeum* comprende cerca de 25 especies. Se encuentran tanto especies diploides como tetraploides. A diferencia del trigo y de la avena, las especies cultivada son especies diploides.

Especies diploides ($2n=14$)

Especies cultivadas. *Hordeum vulgare*, *Hordeum distichum*, *H. irregulare*.

Especies silvestres. *Hordeum spontaneum*, *H. agriocrithon*, *H. pucillum*.

Especies tetraploides ($4n=28$)

Especies silvestres. *Hordeum murinum*, *H. bulbosum*, *H. jubatum*, *H. nodosum*.

Bustamante (1995), menciona que dentro de la calidad genética se encuentra la fidelidad o autenticidad de una muestra de semillas de una determinada variedad;

que después de varias generaciones de incremento, conserva el mismo genotipo con el cual fue liberado por el genetista, para preservar y asegurar que el genotipo de una variedad, mantiene dentro de los límites aceptables en los diferentes incrementos, es necesario vigilar sus características de tipo agronómico, morfológico, fisiológico y bioquímico, todo ello puede ser realizado mediante una descripción varietal y comparada con una muestra original, tal y como fue liberado.

El mejoramiento tradicional de plantas como es el caso de la mayoría de los cereales se basa principalmente en la obtención de líneas puras, las que una vez seleccionadas por sus características de rendimiento, de adaptabilidad y de calidad, pasan a la categoría de variedades mejoradas (Márquez, 1988).

En otros métodos de fitomejoramiento se planea que se lleve a cabo por medio de cruza múltiple; en las que intervienen muchas líneas con caracteres favorables diferentes, los que se desea incorporar en la integración de una línea pura como variedad mejorada (Robles, 1986).

En los últimos 35 años, más del 95% de las variedades de trigo que se siembran a nivel nacional se derivaron directamente de líneas avanzadas del programa de mejoramiento genético del CIMMYT. Así mismo existen programas de mejoramiento de cebada, con el fin de desarrollar germoplasma para ayudar a la sustentabilidad de países en vía de desarrollo, para que obtengan germoplasma mejor adaptado a condiciones climáticas (ICARDA, CIMMYT).

Calidad fisiológica

La calidad fisiológica implica la integridad de las estructuras y procesos fisiológicos que permiten a la semilla mantener altos índices de viabilidad. Esta última se refiere a la alta capacidad de germinación y vigor para establecer nuevos individuos (Bustamante, 1982). Los principales indicadores de la calidad fisiológica son la germinación y el vigor, que dependen del genotipo y del cuidado de su desarrollo en la producción y manejo de poscosecha. Así como menciona (Antuna

y Rincón, 2003) que dentro de un programa de producción de semillas, es importante determinar los componentes de la calidad fisiológica en términos de viabilidad y vigor, los cuales pueden contribuir a predecir el establecimiento y producción de híbridos sobresalientes con altos índices de calidad, así como un manejo adecuado del cultivo.

La prueba de germinación estándar es el procedimiento más común para evaluar la calidad fisiológica de un lote de semillas y sirve para determinar en gran medida la viabilidad de la semilla, que tiene la capacidad de producir una plántula normal, la cual establece la capacidad de germinación.(García *et al.*, 2004).

Calidad Física

Los cereales difieren en sus propiedades físicas. Estas variaciones hacen que los cereales se seleccionen en base a estas propiedades porque se relacionan con sus diferentes segmentos industriales. Las propiedades físicas de los granos se relacionan con su composición química y las propiedades funcionales. La caracterización de la clase y el grado de calidad de los cereales juega un papel fundamental y crítico en el mercadeo y movimiento de granos en el mundo. En la comercialización de granos, generalmente se consideran los atributos y pruebas de calidad establecidos en normas (López *et al.*, 2001)

(Walter *et al.*, 2009). Mencionan que una semilla de calidad física es aquella que presenta un alto porcentaje de semilla pura, y el mínimo contenido de semillas de malezas de otros cultivos y materia inerte. También contempla otros atributos físicos en la semilla como son el contenido de humedad, el tamaño, la uniformidad y densidad.

(López *et al.*, 2006). Atribuye que el peso de la semilla es otro indicador de la calidad, ya que un cultivo sujeto a falta de nutrientes, daños por helada o granizo lo verá reflejado en su peso volumétrico.

Calidad bioquímica

La cebada es el cuarto cereal más importante en el mundo después del trigo, el arroz y el maíz. La cebada como todos los cereales es deficiente en determinados aminoácidos esenciales como son lisina, histidina, metionina, treonina y triptófano (López *et al.*, 2006). El análisis químico de la cebada es muy importante para evaluarla como alimento de consumo humano, pero el valor nutricional real de las proteínas no se refleja en la composición química (Zhu *et al.*, 2001).

Proteínas

Las proteínas son esenciales para el desarrollo de nuestro organismo y los cereales son alimentos muy ricos en proteínas de origen vegetal. La cascara y el germen de los cereales contienen más vitaminas, minerales, antioxidantes naturales y fibra dietética. Y en cuanto al contenido de proteína se encuentra principalmente en el endospermo el cual también contiene almidón, sin embargo, proporcionalmente aporta más, ya que la cantidad de endospermo que hay en un grano de cereal es mayor. Los compuestos proteicos de los granos se localizan en todos sus tejidos, pero el germen y la capa de aleurona concentran la mayor cantidad de compuestos nitrogenados. Las proteínas se clasifican de acuerdo con su solubilidad en hidrosolubles (albuminas) y soluciones iónicas débiles (globulinas) que se encuentran principalmente en el germen. Son conformadas por enzimas, nucleoproteínas y glicoproteínas, sustancias biológicamente activas que juegan un papel crítico durante la germinación. De las cuatro fracciones proteicas las albuminas y las globulinas tienen el mejor balance de aminoácidos esenciales porque, son especialmente ricas en lisina. Dentro de los cereales, la avena se distingue porque contiene el mayor porcentaje de estas fracciones proteicas. Aproximadamente el 80% de las proteínas del grano es de almacenamiento y reserva. La fracción proteica más abundante en la mayoría de los cereales es la que contiene a las prolaminas (Villanueva, 2012).

Según Bello (2000) menciona que la solubilidad, en la mayoría de los cereales se distinguen en cuatro fracciones proteicas: las fracciones proteicas solubles en

agua que están constituidas por albúminas y globulinas, y las insolubles constituidas por prolaminas y gluteninas, que de acuerdo a las clasificaciones se diferencian de la siguiente manera:

- Albuminas. Solubles en agua y precipitables por las soluciones salinas concentradas. A este tipo corresponde numerosas proteínas alimenticias, como la lactoalbúmina y el factor anatrípico de las leguminosas.
- Globulinas. Solubles en soluciones salinas. Las de origen animal suelen coagular por el calor. Suelen integrar las reservas proteicas de muchos productos naturales, como clara de huevo, leche, carnes, vegetales.
- Glutelinas. Solubles en soluciones salinas muy concentradas. Abundan en cereales, de modo especial en trigo y maíz.
- Prolaminas. Solamente se disuelven en etanol de 70-80 %. Son todas de origen vegetal y abundan en los cereales: gliadina del trigo, hordeína de la cebada, zeína del maíz.

En cuanto a las proteínas, gluteninas y gliadinas, están relacionadas estructuralmente pero presentan solubilidades diferentes. Las gliadinas son monómeros que interactúan por fuerzas no covalentes, mientras que las gluteninas son polímeros de alto peso molecular estabilizados por puentes disulfuro (Shewry *et al.*, 2004). Se considera que las gliadinas le dan extensibilidad y viscosidad a las masas, mientras que las gluteninas le dan elasticidad y fuerza (Díaz *et al.*, 2006)

Lípidos

Los cereales poseen pequeñas cantidades de lípidos o grasas. El cereal que más lípidos contiene es la avena (6-8%) y son predominantemente insaturados. El resto de cereales no posee más de un 2%. Los lípidos insaturados han demostrado ser beneficiosos ya que su consumo ayuda a reducir el colesterol total y el LDL. Dentro de este grupo se encuentran los ácidos grasos esenciales

(linoleico y linolénico), que son aquellos que el organismo no puede fabricar y que tienen que ser ingeridos en la dieta.

Se considera a las proteínas como componentes de la membrana que desempeñan funciones específicas tales como, transporte, soporte y comunicación, añade, que en el caso de los lípidos, las proteínas pueden girar alrededor de su eje y muchas de ellas pueden desplazarse lateralmente (difusión lateral) por la membrana.

Carbohidratos

La cebada tiene una alta concentración de carbohidratos, que son los que nos brinda energía por varias horas. También es fuente de proteínas que, combinadas con leguminosas, se complementan y ofrecen una proteína de buena calidad, equiparable a la de la carne.

Además, la cebada es rica en fósforo, potasio, minerales necesarios para el buen mantenimiento de nuestra salud ósea y cardiovascular.

También es fuente de ácidos grasos insaturados, es decir, el tipo de grasa que se considera saludable (Lahouar, 2017).

Relación de las proteínas con la calidad fisiológica de la semilla

Las proteínas son complejos formados por cadenas de cientos o incluso miles de residuos o restos de aminoácidos. Las propiedades estructurales y funcionales de cada proteína dependen de la secuencia singular y específica de los aminoácidos que las constituyen (Astiasarán, *et al.*, 2003).

Estudios más recientes en bioquímica en cuanto a las semillas han señalado una relación en la composición química, genética y fisiológica, con respecto a diferentes tipos de semillas, siendo así el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) una de las semillas más evaluadas en comparación a otras, de donde se tiene una gran diversidad en tamaño, forma y composición de la semilla debido a factores genéticos, ambientales y a la ubicación de ésta en la mazorca. En cuanto a nivel genético existen diferentes factores y unidades de transcripción que influyen directamente en la composición del almidón en el endospermo.

Con respecto a la composición bioquímica de las semillas se tiene en cuenta que la cantidad total de almidón en la semillas, el endospermo aporta en promedio 87%; además, contiene diversos tipos de proteínas: albúminas, globulinas, prolaminas (zeínas) y gluteinas, así como cantidades menores de aceites, cenizas y azúcares (Pérez, 2007).

Torres (2004) menciona en cuanto a los estudios realizados para la obtención de proteínas en maíz que las concentraciones de zeína en el endospermo y el embrión, están estrechamente relacionadas con el vigor principalmente con peso seco y longitud de plúmula por ser una proteína de tipo estructural.

Según Mora (2011) realizó un estudio en cuanto a la calidad física, fisiológica y química de la semilla encontrando que se tiene una relación en cuanto al tipo y contenido de proteína en el genotipo 10, que fue el que presentó los cuatro tipos de proteínas demostrando su calidad fisiológica en la prueba de germinación, en el caso del genotipo 14 que presentó altos contenidos de albumina, globulina y

glutelina en la prueba de germinación se reflejó su buena calidad pero siendo perjudicado por el envejecimiento acelerado, los que conservaron su calidad antes y después del envejecimiento fueron los genotipos 15, 16, 17 y 18 que se ubicaron en el primer grupos estadístico en albumina, globulina y glutelina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos, de Departamento de Fitomejoramiento en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coahuila, México.

Material genético

Se evaluaron veinte nuevos genotipos de cebada forrajera imberbe, generados entre la cruza cv. Esperanza y cv. GABYAN95 (recientemente registrada por la UAAAN), proporcionados por el Programa de Cereales de Grano Pequeño del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, se consideraron cinco testigos: una avena comercial cv. Cuauhtémoc, dos cebadas comerciales cv. Cerro Prieto y cv. GABYAN95, una línea de trigo experimental AN-266 y el triticale cv. Eronga-83, identificadas en el Cuadro 3.1 siguiente:

Cuadro 3.1 Identificación de genotipos estudiados, Noviembre, 2017.

Identificación	Genotipo
G1	CANI-1
G2	CANI-9
G3	CANI-15
G4	CANI-63
G5	CANI-69
G6	CANI-70
G7	CANI-77
G8	CANI-80
G9	CANI-81
G10	CANI-82
G11	CANI-83
G12	CANI-85
G13	CANI-99
G14	CANI-103
G15	CANI-104
G16	CANI-108
G17	CANI-126
G18	CANI-128
G19	CANI-130
G20	CANI-131
G21 (Testigo)	Avena vr. Cuauhtémoc
G22 (Testigo)	Cebada Cerro Prieto
G23 (Testigo)	Cebada GABYAN95
G24 (Testigo)	Trigo AN-366
G25 (Testigo)	Triticale Eronga-83

Metodología

Para realizar el estudio de los materiales genéticos se consideraron dos etapas: 1) El deterioro artificial mediante Envejecimiento Acelerado (EA); y 2) El estudio de proteínas, descritos a continuación:

Etapas 1: Deterioro artificial de Envejecimiento Acelerado (EA)

Se realizó mediante la metodología propuesta por AOSA (1992). Evaluando 75 semillas por genotipo, se colocaron en una malla metálica dentro de una cámara interna soportando la malla en un cilindro de alambre inoxidable en un vaso de precipitado conteniendo 100 mL de agua destilada cubriendo cada vaso con un plástico y sujetando con una liga, cada vaso se colocó dentro de la cámara de envejecimiento Modelo VWR Científica una temperatura de $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 72 horas con una humedad relativa de 95 %.

Después del deterioro artificial, se evaluó la semilla de cada genotipo en una prueba de capacidad de germinación, determinando: el porcentaje de plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG) y el vigor mediante longitud media de plúmula (LMP) y peso seco de plántula (PS).

Etapas 2: Estudio de proteínas

Para este estudio, se realizó mediante tres pasos: 1) La extracción a través de la solubilidad de las proteínas Albúminas, Gliadinas y Glutelinas; 2) La cuantificación de acuerdo a la metodología de Bradford (1976), utilizando un reactivo de Bradford, que contiene azul de coomassie, etanol y ácido orto fosfórico produciendo un reactivo ácido y tomando la lectura mediante un espectrofotómetro Modelo Serie BioMate 3 a una absorbancia de 595 nm y; 3) La cualificación, identificando el peso molecular de las proteínas extraídas por medio de la electroforesis vertical en gel de poliacrilamida-Sulfato dodécil de sodio (PEG-SDS).

Para la preparación de muestras se utilizó la semilla entera (embrión y endospermo) de cada material genético, se procedió a moler con ayuda de un mortero de porcelana, colocando 20 semillas hasta obtener harina. Luego se pesaron 0.5 g de la harina y se colocaron en tubos ependorf de 2.0mL por cada genotipo (Figura 3.1), realizando tres repeticiones de cada uno.



Figura 3.1 Preparación de muestras para la cuantificación y cualificación de proteínas de los genotipos estudiados.

Variables evaluadas

Etapa 1

Capacidad de germinación

Se realizó en tres repeticiones, sembrando 25 semillas por genotipo sobre papel húmedo en forma y cubriendo con otro papel, se enrollaron a formar un “taco” con diámetro de 2.5 cm, se colocaron en una bolsa de polietileno y se llevaron a un cámara de germinación Modelo Biotronnettemark III a una temperatura de 25 ± 1 °C por 7 días, después se evaluaron las siguientes variables:

Plántulas normales (PN). Se consideraron plántulas normales aquellas que presentaron sus estructuras esenciales intactas como se muestra en la Figura 3.2; el sistema radicular bien desarrollado, la plúmula intacta es decir una hoja verde y que tuvieran más de 2.5 cm de longitud para poderse considerar como normales.

Plántulas anormales (PA). Se consideró como plántula anormal aquellas que durante la prueba presentaron deficiencia en el desarrollo de sus estructuras

esenciales tales como; defectos que limitan su crecimiento y desarrollo como; plántulas retorcidas; talluelos hinchados, coleóptilos sin hojas verdes, que miden menos de 2.5 cm.



Figura 3.2 Evaluación de la prueba de capacidad de germinación después del envejecimiento acelerado.

Semillas sin germinar (SSG). Se determinó como semilla sin germinar a aquellas que se mantuvieron durante y al final de la prueba de germinación, ya que no absorben agua porque tienen cubierta impermeable, no muestran ningún signo de desarrollo y comúnmente están flácidas, decoloradas y con presencia de hongo.

Vigor

Se realizó conforme a Perry (1987). Sembrando 25 semillas en tres repeticiones, con el embrión hacia abajo de forma equidistante en una cinta de doble pegamento, sobre una línea media horizontal marcada en el centro de una hoja de papel de 38 x 25.6 cm, así mismo se marcaron en seguida hacia arriba otras líneas equidistantes a 2 cm como indica la Figura 3.3, luego se humedeció con agua desionizada, se cubrió con otra hoja de papel y se procedió a enrollar a formar un “taco” con un diámetro de 2.5 cm (Figura 3.3). Se colocaron en una bolsa de polietileno y se llevaron a una cámara de germinación Modelo Biotronetmark III de alta capacidad a una temperatura de 25 ± 1 °C, en condiciones de 8 horas de luz blanca de 15 lux y 16 horas de oscuridad por 7 días, después se evaluaron las siguientes variables de vigor:

Longitud media de plúmula (LMP). Después de los 7 días de incubación, se cuantificaron las plántulas normales (PN) descritas por el manual de la AOSA (1992), y el número de plúmulas encontradas en cada paralela del “taco”. El número de plúmulas encontradas en cada paralela se multiplicó por el valor de la misma y se sumó el total, dividiendo la suma entre el número de semillas sembradas expresando el resultado en centímetros.

Peso seco (PS). Se evaluaron las plántulas consideradas como normales de la prueba de germinación, obtenidas del conteo final, descartando el resto del grano de cada plántula y el mesocolito, colocando la plúmula y la radícula en bolsas de papel estraza perforada, llevándolas a una temperatura de 75 ± 1 ° C por un lapso de 24 horas.



Figura 3.3 Evaluación del vigor mediante longitud media de plúmula y peso seco.

Etapas 2

Albuminas. De las muestras de harina en tubos de ependorf de 2.0 mL, de cada repetición por genotipo, se le añadió 1.0 mL de agua a 4°C, se mezcló el contenido y se colocó en un agitador oscilador en frío por 15 min, posteriormente se dejó reposar por 4 horas en refrigeración, después del tiempo, se centrifugó por 10 minutos a 4000 rpm. Después se separó el sobranate a otro tubo ependorf de 2.0mL. y se lavó el sedimento o residuo con 1.0 mL de agua a 4°C; se agitó por 5 minutos manteniéndolo a la misma temperatura, y se repitió la centrifugación (10 minutos a 4000 rpm), se colectó el sobrenadante con lo anterior. Una vez extraída

la proteína en el sobrenadante se cuantificó en el espectrofotómetro, registrando el dato en $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 3.4)



Figura 3.4 Cuantificación de proteínas mediante solubilidad y utilizando un espectrofotómetro Modelo Serie BioMate 3

Gliadinas. Al sedimento o residuo de la proteína anterior, se le agregaron 1.0mL de solución A (25 mL Etanol al 70 %, 50 mg Pironina Y/G en 100 mL de agua destilada) (Figura 3.5), se agitó y se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente. Después se centrifugó por 10 minutos a 4000rpm, se separó el sobrante a otro tubo ependorf de 2.0mLy se cuantificó en el espectrofotómetro, registrando el dato en $\mu\text{g mL}^{-1}$.



Figura 3.5 Aplicación de la solución “A” (Etanol al 70 %, Pironina Y/G y agua destilada) para la extracción de gliadinas.

Glutelinas. Al residuo de la proteína anteriormente descrita, se le agregan 1.0mL de solución B (27 g Urea, 3.0 mL Mercaptoetanol y 10 g de Sulfato dodécil de sodio, en un volumen de 100 mL de agua destilada), se agitó y se dejó reposar en

refrigeración por toda la noche. Se centrifugó por 10 minutos a 4000 rpm, se separó el sobrante en otro tubo ependorf de 2.0 mL y se cuantificó en el espectrofotómetro, registrando el dato en $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Cualificación por electroforesis vertical con poliacrilamida (PAGE-SDS)

De cada proteína extraída por repetición y genotipo, se realizó la cualificación, empleando una electroforesis en geles de poliacrilamida con sulfato dodécil de sodio (SDS- PAGE), utilizando un equipo Modelo Bio-Rad. Para la identificación del tipo de proteínas, se cargaron las muestras de cada repetición por genotipo en un gel concentrador a 6.8% y se dejaron correr en otro gel de corrida a 4.8%, para su preparación se utilizaron las siguientes soluciones y concentraciones (Cuadro 3.2):

Cuadro 3.2 Soluciones para la preparación de geles, de corrida y concentrador en la prueba de electroforesis vertical.

Gel concentrador 6.8%		Gel de corrida 4.8%	
Buffer 4x pH=8.8	4.27 ml	Buffer 4x pH=6.8	2.03 ml
Acrilamida–bisacrilamida 30%	2.5 ml	Acrilamida–bisacrilamida 30%	1 ml
TEMED 8.4%	50 μl	TEMED 8.4%	20 μl
Persulfato de amonio 10%	100 μl	Persulfato de amonio 10%	40 μl

Una vez polimerizados los geles, se colocaron 15 μL de cada muestra, se agregó el buffer de corrida 10x, (SDS, tris-OH, glicina y agua destilada) en la cámara de electroforesis, hasta cubrir los vidrios. Se colocó la cubierta y se insertaron los cables del aparato de electroforesis a la fuente de poder positivo (rojo) y el negativo (negro), con un poder de 150 Voltios (Figura 3.6).

Al cabo de 2.5 horas, se realizó la tinción del gel con una solución de azul de coomassie al 0.3%, en 25 minutos, y se procedió a desteñir con una solución de ácido acético glacial, etanol y agua destilada, en una proporción de 5:4:1 respectivamente se repitió 3 veces (Figura 3.7), hasta que la banda de las proteínas fueran visibles, las bandas obtenidas en cada fracción se compararon

con los testigos.

Una vez realizado todo este proceso se lavó el gel con agua destilada y se guardó en una bolsa de polietileno con cierre, se escanearon en un foto-documentador Marca Labnet International, Inc y se tomaron las impresiones respectivas de cada material evaluado (Figura 3.8).



Figura 3.6 Espectrofotometro vertical para cualificación de proteínas

Figura 3.7 Proceso de tinción y desteñido de gel de poliacrilamida para cualificación de proteínas.

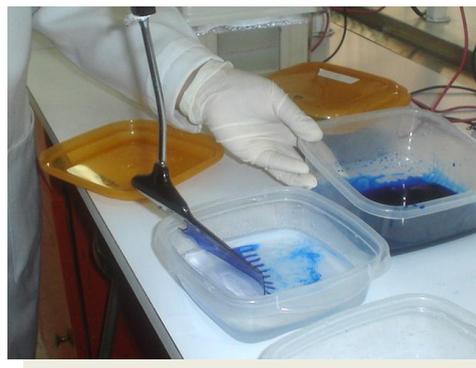


Figura 3.8 Conservación del gel de poliacrilamida y foto-documentador Marca Labnet International, Inc.

Diseño Experimental

Para las variables evaluadas en laboratorio se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones en las variables de vigor y en la cuantificación de cada proteína se realizaron tres repeticiones.

Análisis Estadístico

Todos los análisis de varianza se realizaron mediante el paquete estadístico SAS Versión 9.0, (2002), con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_i = \mu + T_i + \epsilon_i$$

Y_i = Valor observado.

μ = Efecto de la media general.

T_i = Efecto del i ésimo genotipo.

ϵ_i = Error experimental.

$i = 1, 2, \dots, n$ repeticiones

Comparacion de medias

Para comparar entre los genotipos se realizó la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) según Steel y Torrie (1986) y se calculó mediante:

$$DMS = (t_{\alpha/2, g. l. EE}) \sqrt{2 \text{ CMEE} / r}$$

Dónde:

CMEE = Cuadrado medio del error

R = número de observaciones usadas para calcular un valor medio

α = nivel de significancia

g.l.EE = grados de libertad del error experimental

t = valor tabular que se usa en la prueba, con los grados de libertad del error y el nivel de significancia deseado.

Adicionalmente se calcularon las correlaciones entre pares de variables mediante la ecuación de Pearson con la finalidad de identificar la relación que pudiera existir entre las variables estudiadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa 1: Deterioro artificial mediante Envejecimiento Acelerado (EA)

Una vez elaborado el análisis de las variables evaluadas para los genotipos estudiados se describen los resultados a continuación:

Para la variable plántulas normales después de envejecimiento acelerado, los resultados del análisis de variación (ANVA), indicaron una diferencia altamente significativa en la fuente de variación (FV) genotipos como se muestra en el Cuadro 4.1, lo que indica que uno de los genotipos estudiados tuvo una germinación diferente al resto.

Cuadro 4.1 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de las variables evaluadas en la prueba de germinación de los genotipos de cebada.

FV	GL	PN (%)	PA (%)	SSG (%)	LMP (mg/plántula)	PS (cm/plántula)
Genotipo	24	624.32**	12.88 NS	716.76**	8.98**	15.85**
E. Exp.	50	145.49	13.01	158.08	1.86	10.15
Total	74					
% CV		19.8	112.73	35.34	21.35	22.69

** Altamente significativo; % CV= Porcentaje del Coeficiente de Variación; GL= Grados de Libertad; PN= Plántulas Normales; PA= Plántula Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; PS= Peso Seco.

Con respecto al análisis de varianza en la variable de Plántulas Anormales (PA), como muestra el Cuadro 4.1, no hubo diferencia significativa, lo cual nos indica que no se presentó diferencia entre los materiales genéticos. Esta variable se reportó con un coeficiente de variación de 112.73%, sugiriendo que probablemente no se tuvo una distribución normal en dichos datos o presencia de valores cero.

En cuanto a las variables Semillas sin Germinar (SSG), Longitud Media de Plúmula (LMP) y Peso Seco (PS) en la prueba de capacidad de germinación se refleja un alto nivel de significancia entre los genotipos lo que nos indica que al menos un genotipo presento diferencias en su valor para dichas variables.

Resultados de la prueba de comparación de medias

Plántulas Normales después de EA

En la prueba de comparación de medias para esta variable plántula normal entre genotipos se encontraron 9 grupos estadísticos, donde en el grupo A lo formaron 8 genotipos al obtener germinaciones desde 85.3 a 70.66%, donde el testigo Cerro prieto (G22) sobresalió con el mayor valor de 85.3%, seguido de avena (G21) con un valor de 80.0%, al igual el genotipos G16 y G1 con un 78.66%, así como dentro del mismo grupo estadístico triticale (G25) con un valor de 77.33%, resaltando que el testigo trigo (G24) se posiciono dentro del mismo grupo pero con un valor menor de 72.0% como se muestra en la Figura 4.1.

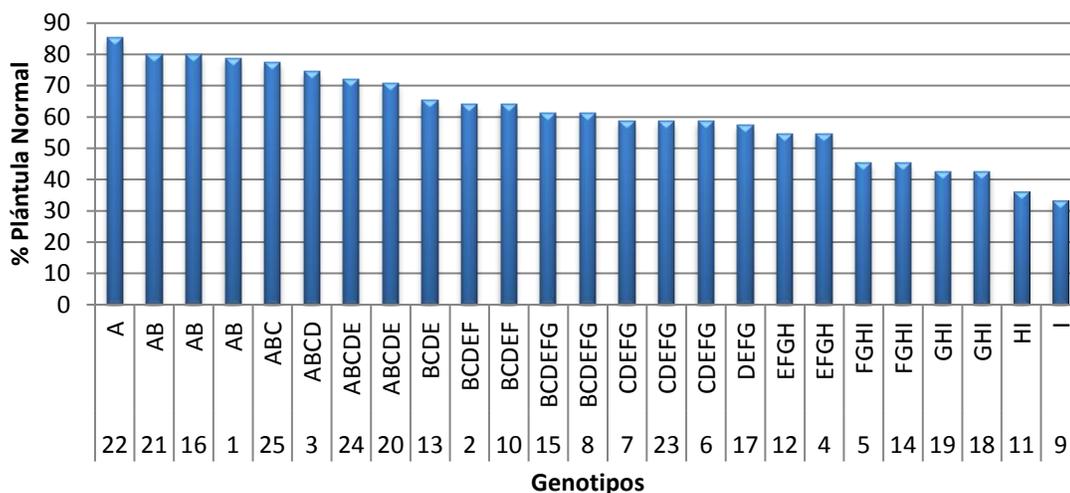


Figura 4.1 Resultado de comparación de medias en la variable PN después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.

En cuanto al testigo GABYAN95(G23), se encontró en el grupo C con un porcentaje de germinación de 58.66%; mientras que en el último grupo estadístico se encontraron 6 genotipos principalmente progenies derivadas de la variedad GABYAN95 (Figura 4.1), siendo G9 quien presentó el menor porcentaje de vigor con 33.33% de germinación.

El testigo Cerro prieto obtuvo un valor elevado de 85.3% de plántulas normales, mientras que en los demás genotipos sometidos a pruebas de envejecimiento

acelerado, con el método tradicional, se obtuvo una disminución de plántulas normales. En cuanto a Ellis y Roberts (1980) observaron diferencias entre especies para tolerar al tratamiento de envejecimiento acelerado. Ellos indican que la reproducción de los resultado de envejecimiento acelerado depende de la precisión en controlar la temperatura (debe variar como máximo ± 0.5 °C), la humedad relativa y el tiempo de duración de la prueba. Así mismo mencionan que la prueba de envejecimiento acelerado puede ser usada también para obtener semilla con un mínimo de deterioro en el campo y sin daño mecánico. Sugiere esto que los testigos comerciales fueron más tolerantes al deterioro.

Plántulas Anormales después de EA

En la prueba de comparación de medias de la variable entre genotipos que se muestra en el Figura 4.2 se encontraron 3 grupos estadísticos, donde los genotipos con mayor porcentaje de plántula anormal se encuentran en el grupo A, que consta de 11 genotipos con valores de 9.33 hasta 4.0%, en el cual destacó el testigo trigo (G24) con el valor más alto, seguido del testigo avena (G21) con un valor de 6.66%, dentro del mismo grupo estadístico se encuentran los genotipo G14 y G12 con un 5.33% al igual que el testigo Cerro prieto(G22) con un valor de 4.0%, comparado con el testigo triticaleG25 que se encuentra en el grupo B obteniendo un valor de 2.66% y el testigo GABYAN95(G23) con un valor de 1.33% siendo de los materiales con bajo porcentaje de plántulas anormales, resaltando que los genotipos G10 y G19 del grupo C que obtuvieron un valor nulo de 0% indicando que al ser sometidos a la prueba de envejecimiento acelerado fueron los materiales de mejor porcentaje al no presentar plántulas anormales.

Esto confirma que los genotipos que expresaron un alto valor de plántulas anormales son materiales de baja calidad fisiológica por tener porcentajes elevados de anormalidades, como menciona Moreno (1996), que la baja calidad es el resultado del deterioro de la semilla dada por un aumento en las plántulas anormales y semillas sin germinar. Donde los dos últimos materiales presentaron hasta un cero por ciento de plántulas anormales siendo los mejores.

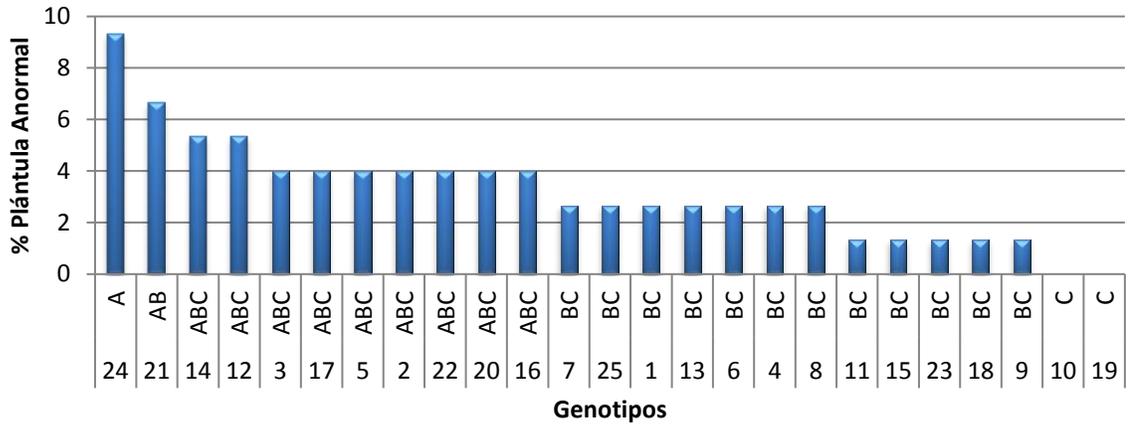


Figura 4.2 Resultado de comparación de medias de la variable PA después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.

Los valores de plántulas anormales entre los genotipos siguieron una tendencia inversa con respecto al número de plántulas normales, en cuanto al testigo trigo (G24) fue el genotipo de mayor valor, determinando que es el material con mayores plantas anormales continuando con el testigo avena (G21). Confirmando lo que menciona Besnier (1989), que tales anomalías se deben a diferentes causas: diferencias nutritivas de plantas madres, deficiente maduración, infección por microorganismos y plagas, daños mecánicos, etc. Donde las plántulas anormales no llegan a nacer o mueren rápidamente poco después de haberlo hecho; es por ello que el número de anomalía se incrementa.

Semillas sin Germinar después de EA

De acuerdo a la comparación de medias de la variable semillas sin germinar, mostró 10 grupos estadísticos, donde nuevamente las progenies G1 y G16, se encontraron en el último grupo estadístico con bajo porcentaje de SSG, junto con los testigos avena y cebada Cerro prieto (G21 y G22) y otros; en cambio el genotipo G9, presentó el mayor porcentaje de 65.33, seguido por los genotipos G11, G19 y G18 (con 62.67, 57.33 y 56.0%, respectivamente), junto con el G5 y G14 siendo los más afectados por el EA; así mismo, el testigo GABYAN95 (G23) formó parte del grupo C con 40.0 %, teniendo mayor porcentaje de SSG que el resto de los testigos, como se muestra en la Figura 4.3.

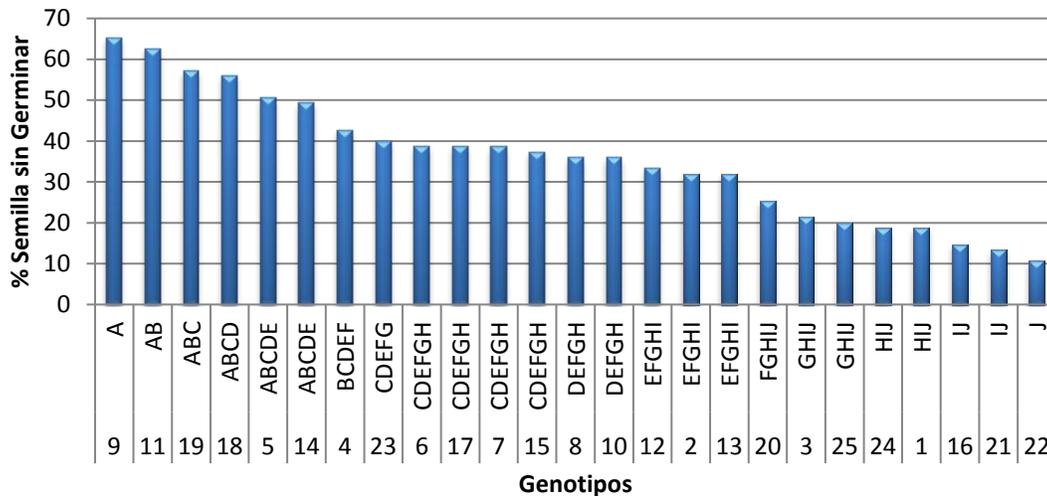


Figura 4.3 Resultado de comparación de medias de la variable SSG después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.

Cabe señalar que la prueba de deterioro controlado permite distinguir el vigor entre lotes de semillas que están sufriendo una disminución en su supervivencia, al estar todas las semillas sometidas a niveles similares de deterioro por alto contenido de humedad y elevada temperatura Powell (1995) citado por Salinas *et al.*, (2001) . Así mismo menciona que al tener efectos altos en cuanto al porcentaje de semillas muertas o sin germinar, como se encontró en el estudio, señala que el vigor de las semillas se basa en el comportamiento físico o fisiológico de un lote de semillas, incluyéndose: 1) cambios en los procesos bioquímicos; 2) la tasa y uniformidad de germinación y crecimiento de las plántulas y 3) la germinación o capacidad de emergencia de las semillas al ser expuestas a condiciones de estrés. Teniendo así, una emergencia en campo muy desuniforme como menciona Benett (2002), quien asegura que al tener valores aceptables de vigor es posible que se tenga una buena emergencia en campo, pero si los niveles son bajos en el vigor el desarrollo será muy pobre y desuniforme.

Longitud Media de Plúmula después de EA

En la prueba de comparación de longitud media de plúmula, se obtuvieron 8 grupos estadísticos, dentro del grupo A donde el testigo Cerro prieto (G22)mostró el valor más alto de 9.49cm pl⁻¹ (Figura 4.4), seguido de los genotipos G1 y G3 presentando valores de 9.18 y 9.6cm pl⁻¹, dentro del mismo grupo estadístico se encuentran los testigos trigo(G24), triticale(G25) y avena(G21) con valores de 8.26,8.10 y 7.4 cm pl⁻¹ considerados como de los de niveles altos de vigor por encontrarse en el primer grupo, mientras que el testigo GABYAN95 (G23)se encontró en el grupo F, considerado con menor vigor (4.82cm pl⁻¹),sin embargo, el genotipo G5, resultó con la longitud más baja de 3.78cm pl⁻¹, ubicándose en el último grupo estadístico.

Dentro de los resultados de longitud media de plúmula realizada en la prueba de envejecimiento acelerado, en dicha variable se observó que el genotipo que presento la mayor longitud de plúmula fue el genotipo (G3) aunque estadísticamente igual a los integrantes de su grupo; sin embargo, Torres (2004), menciona que el vigor alto de una semilla se presenta al obtener un valor de 13 cm pl⁻¹cm/semilla en la prueba de longitud media de plúmula.

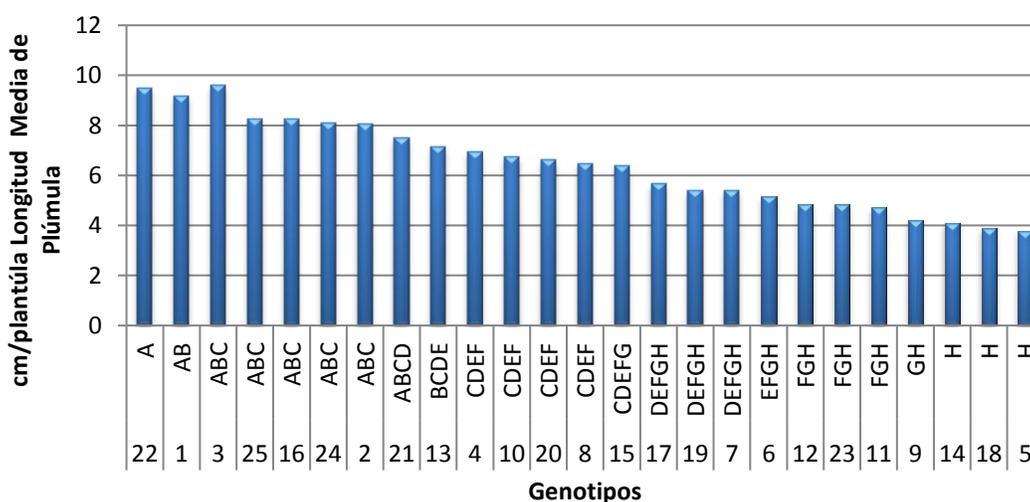


Figura 4.4 Resultado de comparación de medias de la variable LMP después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.

Tasa de Crecimiento de Plántula (Peso seco) después del EA

En cuanto a la comparación de medias para la variable de peso seco, se encontraron 5 grupos estadísticos, formando el grupo A, los de mayor vigor en peso seco, el genotipo G4 (18.54mg pl⁻¹) y GABYAN95(G23) con 17.6mg pl⁻¹; sin embargo, los genotipos G9 y G2 también destacaron con pesos de 16.42 y 15.74 mg pl⁻¹, así como triticale (G25) con 14.58 mg pl⁻¹, quienes formaron el mismo grupo estadístico, mientras trigo(G24), se ubicó en el grupo B, obteniendo un valor de 12.43 mg pl⁻¹ seguido por la cebada Cerro prieto(G22) con un peso de 12.27mg/plántula; en cambio, avena (G21) obtuvo el valor más bajo (6.72mg pl⁻¹) teniendo un bajo vigor en acumulación de materia seca, como se observa en la Figura 4.5. Como se puede observar, la respuesta de acumulación de peso en la plántula de algunos genotipos, resultó favorable aún a pesar del envejecimiento acelerado, que algunos materiales puede llegar a mantener su capacidad de producir materia seca aún en condiciones desfavorables.

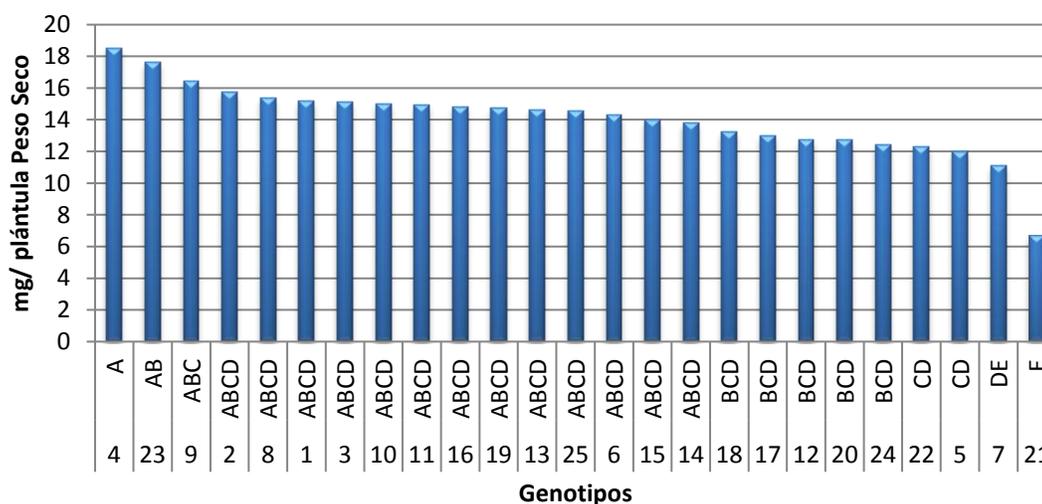


Figura 4.5 Resultado de comparación de medias de la variable tasa de crecimiento de plántula (PS) después de EA de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.

Etapa 2: Estudio de proteínas

Contenido de proteínas

En el resultado de análisis de varianza, se encontró una diferencia altamente significativa entre los genotipos evaluados en las proteínas de albúmina, gliadina y glutelina (Cuadro 4.2), indicando que al menos uno de los genotipos estudiados presentó un contenido de proteína diferente al resto, teniendo un coeficiente de variación de 17.2 % en glutelina, 15.6% en gliadina y 9.5% en albumina.

Cuadro 4.2 Cuadrados medios y significancia del análisis de varianza de las variables de contenido de proteína de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.

FV	gL	ALB ($\mu\text{g/mL}$)	GLIA ($\mu\text{g/mL}$)	GLUT ($\mu\text{g/mL}$)
Genotipo	24	26404.96**	38947.90**	127568.83**
E. Exp.	50	3271.42	7264.51	20536.57
Total	74			
% CV		9.51	15.68	17.23

** Altamente significativo; % CV= Porcentaje del Coeficiente de Variación; gL= Grados de Libertad; ALB= Albúmina; GLIA=Gliadina; GLUT=Glutelina

Albúmina

La prueba de comparación de medias para esta variable, como se muestra en la Figura 4.6, se registraron 12 grupos estadísticos, destacando el genotipo G4 con la mayor concentración ($719.23 \mu\text{g mL}^{-1}$) seguidos G9 ($702.67 \mu\text{g mL}^{-1}$), los testigos GABYAN95 (G23), triticale (G25) y Cerro prieto (G22) con valores de 700.73 a $684.17 \mu\text{g mL}^{-1}$ y otros ocho genotipos, quienes formaron el primer grupo estadístico, además de haber presentado el mayor número de plántulas normales en la prueba de envejecimiento acelerado. Mientras, avena resultó en el último grupo al presentar la más baja concentración de $329.6 \mu\text{g mL}^{-1}$.

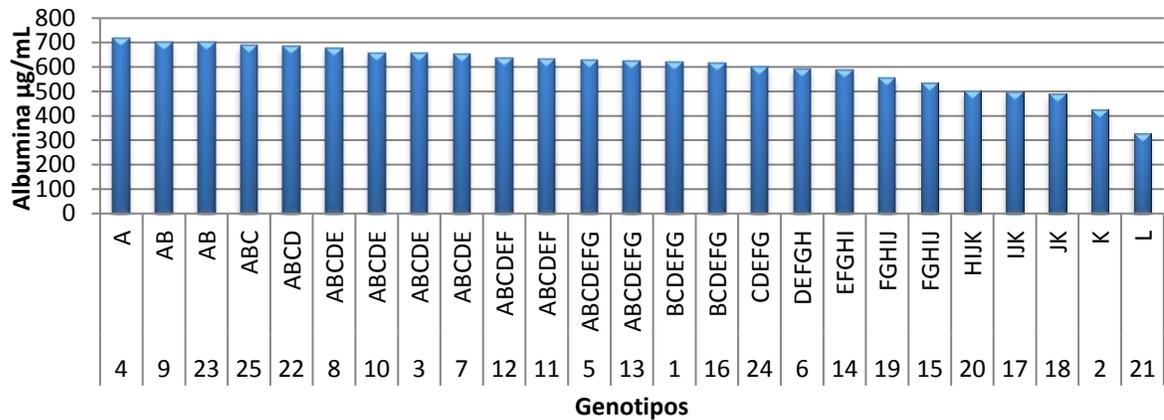


Figura 4.6 Resultado de comparación de medias en contenido de proteína Albúmina de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.

Gliadina

Con respecto a proteína gliadina, la prueba de comparación de medias indicó 9 grupos estadísticos, sobresaliendo nuevamente el genotipo G16 con $731.93 \mu\text{g mL}^{-1}$ y a G20 con $679.83 \mu\text{g mL}^{-1}$, seguidos G18 y G13 con concentraciones de 672.33 y $657.23 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, en conjunto con los testigos triticales (G25) y Cerro prieto (G22) con contenidos de 612.47 y $596.33 \mu\text{g mL}^{-1}$, todos en el mismo grupo estadístico (Figura 4.7). En cambio, la cebada GABYAN95 (G23) presentó una concentración menor de $585.13 \mu\text{g mL}^{-1}$, formando el grupo estadístico B, y en el último grupo se encontró el genotipo G7 en la última posición con la más baja concentración ($277.95 \mu\text{g mL}^{-1}$).

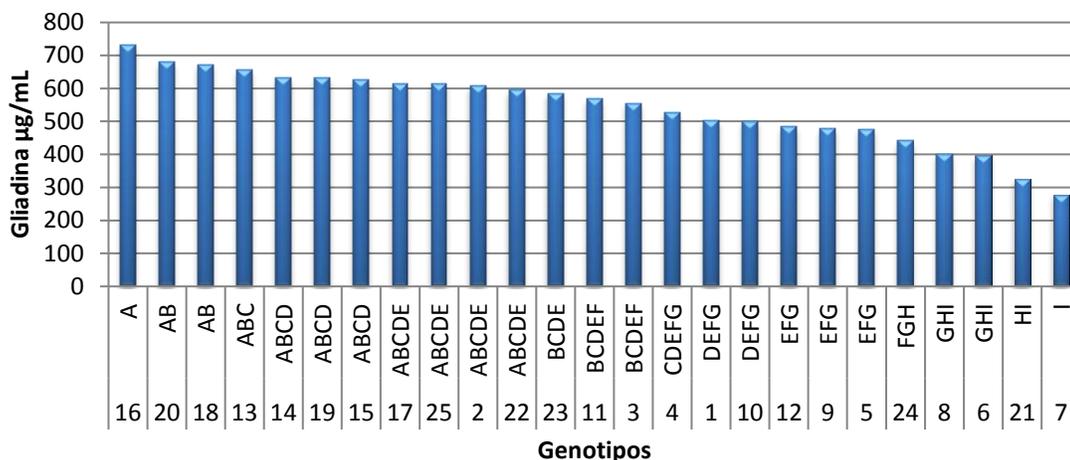


Figura 4.7 Resultado de comparación de medias en contenido de proteína Gliadina de 25 genotipos de cereales de grano pequeño.

Es de señalar que los genotipos que sobresalieron en esta proteína, tienen una coincidencia en la prueba de acumulación de peso seco en la plántula, debido a que las gliadinas, son proteínas de reserva presentes en el endospermo (Shewry & Halford, 2004) y están asociadas con la viscosidad de las masas.

Glutelina

La prueba de comparación de medias para esta variable, mostró 13 grupos estadísticos, teniendo al genotipo G16 en el grupo estadístico A, con la más alta concentración ($1,235.7 \mu\text{g mL}^{-1}$), lo que pudiera indicar que es un genotipo de alta calidad, ya que fue uno de los que presentó mayor vigor en las pruebas anteriores y coincide en su respuesta de tener mayor contenido de glutelina, como lo encontró Torres (2004) en genotipos de maíz; dentro del mismo grupo estadístico le siguieron el testigo avena (G21) con $1,192.0 \mu\text{g mL}^{-1}$, G18 con $1,077.7 \mu\text{g mL}^{-1}$ y G4 con $1,020.7 \mu\text{g mL}^{-1}$, como se muestra en la Figura 4.6. Mientras la cebada GABYAN95 (G23) con $573.5 \mu\text{g mL}^{-1}$, junto con G14, G10 y G15y Trigo (G24)formaron el último grupo estadístico, teniendo este último la más baja concentración de proteína con $414.6 \mu\text{g mL}^{-1}$.

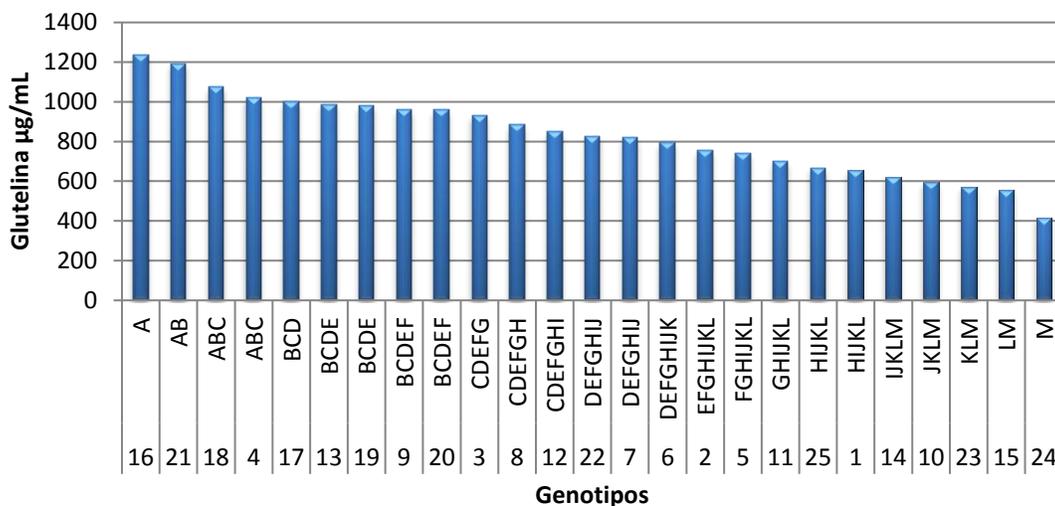


Figura 4.8 Resultado de comparación de medias en contenido de proteína Glutelina de 25 genotipos de cereales de grano pequeño

Tipos de proteína

Los resultados obtenidos en la cualificación de las proteínas gliadinas a través de la electroforesis vertical, se lograron identificar una banda bien definida entre el peso molecular de 97.4 y 116.3 kD dada en los genotipos G17 y G19, así como de los testigos avena, Cerro prieto, GABYAN95, trigo y triticale (G21, G22, G23, G24 y G25) como se muestra en la Figura 4.9, indicando que se trata de una misma proteína. Sin embargo, los genotipos G18 y G20, se logra observar una banda más tenue en un peso molecular de 116.3 kD, indicando que está presente la gliadina de peso molecular 116 kD, como lo menciona Mendoza (2008); la distribución de los diferentes tipos de gliadinas depende fuertemente de la variedad (genotipo) y condiciones de crecimiento (Dupont y Altenbach, 2003) siendo el caso en el análisis realizado.

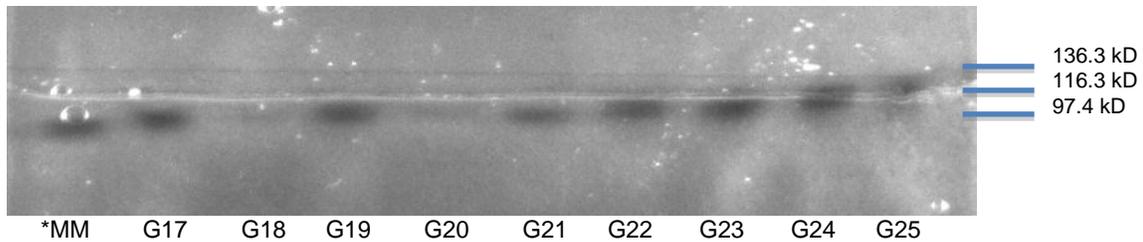


Figura 4.9 Separación por electroforesis vertical PAGE-SDS de gliadinas en genotipos de cebada y otras especies de cereales de grano pequeño (*Marcador molecular).

El resultado de la cualificación de glutelinas, se logró identificar en diferentes bandas definidas la presencia de esta proteína en los pesos moleculares de 67.8 a 45.0 kD en los genotipos del G9 al G17 como se muestra en la Figura 4.10; mientras en los genotipos G1, G2, G6 y G7, así como en los testigos avena, Cerro prieto y triticale (G21, G22 y G25), se consideró la banda de peso molecular de 67.8 kD y la de 45 kD con mayor definición, por lo que se marcó con más presencia de glutelina en los genotipos mencionados. Cabe señalar que entre los genotipos con mayor definición de glutelinas, son genotipos que presentaron mayores porcentajes de vigor, como fue G16, G1, G13, así como el testigo Triticale Eronga-83 (G25), por lo que se puede asegurar que se tratan de este grupo de proteínas al ser solubles en diluciones ácidas de acuerdo con el sistema de clasificación de Osborn en 1907 citado por Loponen *et al.* (2007)

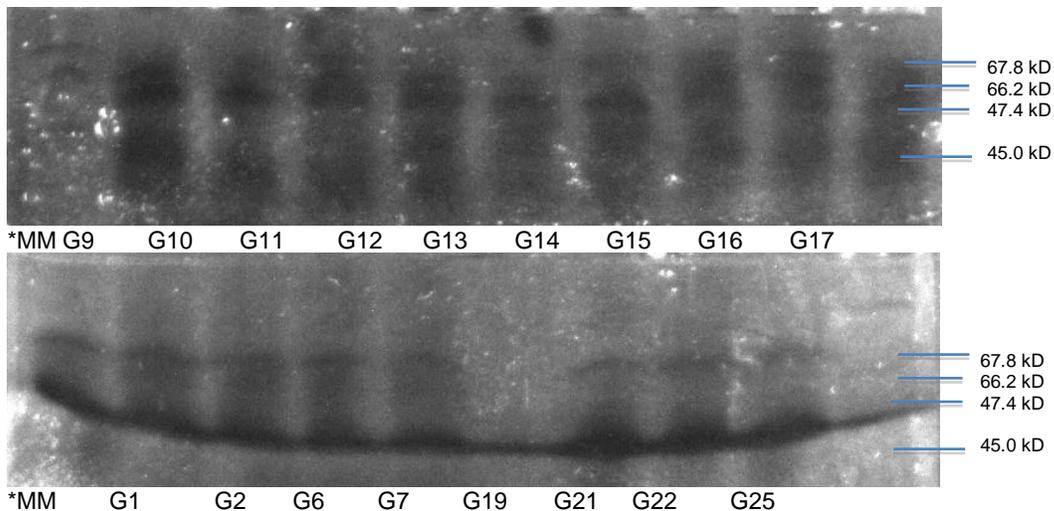


Figura 4.10 Separación por electroforesis vertical PAGE-SDS de glutelinas en genotipos de cebada y otras especies de cereales de grano pequeño (*Marcador molecular).

Con respecto a la identificación de albúminas en los genotipos estudiados a través de la electroforesis vertical, se logró observar los genotipos G10, G11, G12, G13, G14, G15, G16 y G17; una banda entre los pesos moleculares de 225 y 200 kD (Figura 4.11); nuevamente se encontraron a los genotipos G13 y G16 ahora en esta proteína, lo cual reafirma su actividad metabólica para obtener un alto vigor dentro de los materiales estudiados, ya que es una proteína funcional y soluble en agua, proteínas citoplasmáticas con actividades enzimáticas por lo cual se menciona que estos materiales tienen una alta calidad (Dupont y Altenbach, 2003).

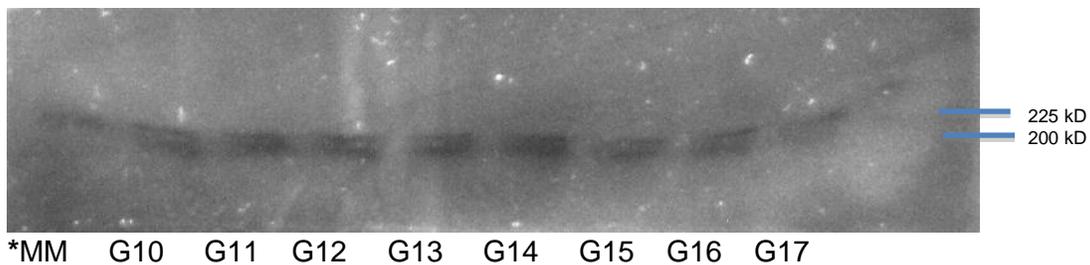


Figura 4.11 Separación por electroforesis vertical PAGE-SDS de albuminas en genotipos de cebada y otras especies de cereales de grano pequeño (*Marcador molecular).

Relación entre variables

En el análisis de correlaciones entre las variables estudiadas, se encontró la variable de plántulas normales tuvo una relación significativa ($p < 0.05\%$) y positiva con las plántulas anormales después del envejecimiento acelerado con $r = 0.41$ (Cuadro 4.3); mientras que con la variable semillas sin germinar fue negativa ($r = -0.985$); lo que quiere decir que posiblemente al realizar una prueba de envejecimiento acelerado, se obtendrá un incremento en número de anomalías, si la germinación es mayor (PN), sin embargo, el porcentaje de SSG será bajo. Así mismo, se obtuvo una relación significativa ($p < 0.05\%$) y negativa entre las variables PA y SSG ($r = -0.54$); indicando que a mayor porcentaje de PA después del EA; existirá menor porcentaje de SSG.

Cuadro 4.3 Resultados de del análisis de correlaciones y desviación estándar entre las variables evaluadas en el estudio de 25 genotipos de cereales de granos pequeño.

	DE	PN	PA	SSG	LMP	PS	GLU	GLI	ALBU
PN	14.42	1.00	0.414	-0.985	0.888	-0.266	0.072	-0.0003	-0.107
PA	2.07		1.00	-0.540	0.295	-0.525	-0.015	-0.224	-0.295
SSG	15.45			1.00	-0.856	0.328	-0.075	0.033	0.132
LMP	1.73				1.00	-0.020	-0.017	0.087	-0.013
PS	2.29					1.00	-0.364	0.369	0.590
GLU	209.43						1.00	0.141	-0.408
GLI	113.94							1.00	-0.063
ALB	93.61								1.00

DE= Desviación estándar; GLU=Glutelina; GLI=Gliadina; ALB= Albúmina PN= Plántulas Normales; PA= Plántula Anormales;SSG= Semilla sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; PS= Peso Seco

Además, al tener mayor porcentaje de PA, también decrecerá el promedio del peso seco de las plántulas, por presentarse una correlación significativa ($p < 0.05\%$) y negativa entre estas variables de $r = -0.52$ (Cuadro 4.3); otro efecto negativo se ve reflejado entre la variable SSG y la longitud media de plúmula después del deterioro siendo de $r = -0.85$, indicando que el incremento de SSG producirá un efecto negativo en la longitud de plántulas normales.

En cuanto a la variable plántulas normales después de un envejecimiento acelerado en la semillas, se obtuvo una asociación significativa ($p < 0.05\%$) y

positiva con la longitud media de plúmula de 0.888 (Cuadro 4.3); lo que puede permitir estudiar que los genotipos al tener mayor porcentaje de plántulas normales, tendrá también una mayor longitud de la plántula.

Con respecto a la asociación entre las pruebas fisiológicas y el contenido de proteínas, se encontró que la albúmina tiene una relación significativa ($p < 0.05\%$) y positiva con el peso seco de la plántula de $r=0.59$ (Cuadro 4.3); en cambio, presentó una relación negativa con la glutelina ($r=-0.408$); lo que indica que al tener mayor contenido de albúmina se tendrá una disminución de las glutelinas en la semilla de los cereales de grano pequeño.

CONCLUSIONES

En base a los datos analizados y resultados obtenidos en el presente estudio, y considerando los objetivos e hipótesis planteados se concluye que:

- Existe un efecto diferente entre en el vigor de los genotipos estudiados, al ser sometidos a deterioro artificial a través de envejecimiento acelerado, sobresaliendo con alto vigor los genotipos G16, G15 y G1, así como la cebada Cerro prieto y avena Cuauhtémoc, al presentar mayor porcentaje de plántulas normales, y obtener mayor longitud media de plúmula. Sin embargo, en la prueba de vigor de peso seco de plántulas, el genotipo G4 y GABYAN95, sobresalieron por lo que también se pueden considerar de alto vigor a pesar del deterioro.
- Existen diferencias en el tipo y cantidad de proteínas presentes en la semillas de los genotipos estudiados, destacando los genotipos G16 y G18 con alto contenido de glutelinas y gliadinas en la semilla pero bajos contenidos de albúmina; mientras que la avena presentó alto contenido de glutelinas pero bajos contenidos de gliadina y albúmina comparada con resto de los genotipos estudiados.
- Entre los genotipos evaluados existe una relación entre las variables de vigor evaluadas, al presentarse mayor porcentaje de plántulas normales, se tendrá un mayor peso seco y longitud media de plúmula, además de disminuir el porcentaje de SSG, comportamientos presentados en los genotipos G1, G13 y G16, así como en la cebada Cerro prieto y trigo AN-366.
- Existe una relación positiva entre el contenido de albúminas en la semillas y el peso seco de las plántulas después del deterioro, probablemente debido a que las albúminas son proteínas estructurales, a mayor peso seco se tendrá mayor contenido y viceversa, sobresaliendo los genotipos G4 y G9, además de la cebada GABYAN95.

LITERATURA CITADA

- Alam , M. Z., Stuchbury, T., & Naylor R, E. L. (2006). Early identification of salt tolerant genotypes of rice (*Oryza sativa* L.) using controlled deterioration. *Experimental Agriculture*, Vol. 42(No.1), pp 65-77.
- Antuna,O., Rincón, F., Gutiérrez,E., Ruíz, N., y Bustamante, L. (2003). Componentes genéticos de caracteres agronómicos y de calidad fisiológica de semillas en líneas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, Vol.26(No.1), 11-17 pp.
- Astiasarán Anchra, I., Lasheras Aldaz, B., Ariño Plana, A. H., & Martínez Hernández, A. (2003). *Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria*. Madrid, España: Días de Santos, S. A. 503p.
- Bello Gutiérrez, J. (2000). *Ciencia bromatológica principios generales de los alimentos*. Madrid, España: Díaz de Santos, S. A.573p .
- Bennett , M. A. (2002). Saturated Salt Accelerated Aging (SSAA) and Other Vigor Tests for Vegetable Seeds. *Seeds: Trade, Production and Technology*, 188-192.
- Besnier Romero , F. (1989). *Selillas Biología y Tecnología* (Vol. Vol.2). Madrid: S.A. Mundi prensa libros, 637p.

- Bishanw, z., Niane, A. A., & Gan, Y. (2007). The lentil: botany, production and uses. Western Australia: Seed quality and alternative seed delivery systems.
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Protein-Dye Binding. *Anal. Bioquímica* 72: 248-254.
- Briggle , L. W., & Reitz, L. P. (1963). Classification of triticum species and of wheat varieties grown in the United States. *Research Agronomist Crops Rescarch Division Aricultural Research Service*(No. 1), 135.
- Brown, C. M., & Patterson , F. L. (1992). Conventional oat breeding. *Oat Sciencie and Technology*, WI, pp 613- 56.
- Bustamante, G. L. (1982). Semillas: control y evaluación de su calidad. UAAAN y Asociación Mexicana de Semilleros, A.C, México. pp 99-106.
- Colín R, M. (2007). Producción de materia seca, valor nutritivo e interacción genotipo ambiente en líneas imberbes de cebada forrajera. Tesis de maestria , UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 97 p.
- Delouche , J. C. (2000). Germinación, deterioro y vigor de semilla. *SEED news*, 6(6).
- Delouche, J. C. (1974). Maintaining soybean seed quality. *Soybean, Production, Marketing And Use*, Bul. 69, 46-62.
- Díaz Dellave , P., Dalla Rizza, M., Vázquez, D., & Castro, M. (2006). Elementos de análisis cualitativo y cuantitativo en proteínas del gluten de trigo. *Agricultura Técnica*, Vol.66(No. 4), 360-369.

- Durán H, D., Gutiérrez H, G. F., Arellano V, J. L., García R, E., & Virgen V, J. (2011). Caracterización molecular y germinación de semillas de maíces criollos azules con envejecimiento acelerado. *Agronomía Mesoamericana*, Vol. 22(NO.1), 11-20.
- Dupont F, M., y Alteanbach S, B. (2013). Impactos moleculares y bioquímicos de los factores ambientales en el desarrollo del grano de trigo y la síntesis de proteínas". *Revista de ciencia de cereales*, Vol. 38(No. 2), 133-146.
- Ellis R, H., y Roberts, E. H. (1980). Pruebas de envejecimiento acelerado, tradicionales y dinámica. En *producción moderna de semilla*. P. Hebblethwalte, Londres, Inglaterra. 693-701p.
- Flores M, S. (1993). Efecto de la fertilización y densidad de siembra en la producción de semilla de triticale forrajero en Navidad, Nuevo León. Tesis de Licenciatura , UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila. Mexico.
- García del Moral, L. F., Rharrabti , Y., Villegas, D., & Royo, C. (2003). Evaluation of grain yield and its components in durum wheat under Mediterranean Conditions: An Ontogenic Approach. *Agronomy Journal*, 95(2), 155.
- García L, J. I., Ruíz T, N. A., Lira S, R. H., Reyes V, L., y Méndez A, B. (2004). Evaluar germinación, vigor y calidad fisiológica de semillas sometidas a dosis de nanopartícula. Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) . Saltillo, Coahuila, México : Catedras CONACYT-CIQA.
- Giraldo, G., Méndez, M., y Bosco Franco , J. (2000). Manual para el manejo pre y poscosecha de semilla producida de manera artesanal bajo el esquema de pequeñas empresa semilleras. (G. Editores, Ed.) Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 59 p.

- González, F. (2014). Accelerated aging on the quality of maize seeds for alternative sprouted fodder production. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol.8, p. 1487-1493.
- Goodman , B. E. (2002). Transport of small molecules across cell membranes: Water channels and urea transporters. *Biophysical Journal*, 83(1), 154-160 pp.
- Guerrero G, A. (1999). *Cultivos herbáceos extensivos (Ed.6A)*. Mundiprensa.779 p.
- Guerrero Ramírez, L. A. (2003). *Procedimiento para el recibo almacenamiento de cereales y leguminosas*. Univerdidad Naciona Abierta y Distancia (UNAD). Bogota D.C : Facultad de Ciencias Basicas e Ingenieria 140p.
- Gutiérrez G, A. S., Carballo C, A., y Mejía, J. A. (2006). Caracterización de trigos harineros mediante parámetros de calidad física y fisiológica de la semilla. *Agricultura técnica en México*, Vol.32(No.1).
- Hernández U, A. (1987). *Prueba de adaptacion y rendimiento de 56 Líneas y variedades comerciales de cebada maltera en la region de Navidad N. L. Ciclo 1985-1986*. Tesis de Licenciatura , Buenavista,Saltillo Coahuila.
- Jara , P. A., Arancio, G., Moreno , R., & Carmona , M. R. (2006). Factores abióticos que influncian la germinación de seis especies herbáceas de la zona árida de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, Vol. 79, 309-319.
- Lahouar, L., Ghrairi, F., Arem, A., Medimagh, S., Felah, M., Salem, H. B., y otros. (2017). Biochemical composition and nutritional evaluation of barley rihane (*Hordeum vulgare L.*). *Lahouar., Afr J Tradit Complement Altern*, 14(1), 310-317.

- Lopez P, P., Sanchez O, I., y Roman G, A. D. (2006). Evaluación biológica de calidad proteica de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum*) cultivadas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala, Mexico . Sociedad Chilena de Nutrición, Bromatología y Toxicología, Vol. 33, 9.
- López P, P., Guzmán Ortiz, F. A., & Román Gutiérrez , A. D. (2001). calidad física de diferentes variedades de cebada (*Hordeum sativum* Jess) cultivadas en los Estados de Hidalgo y Tlaxcala. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo . Pachuca, Hidalgo, México: Centro de Investigaciones Químicas.
- Loponen, J., Stang-Strohm, T., Venalainen, J., & Salovaara, H. (2007). Prolamin hydrolysis in wheat sourdoughs with differing proteolytic activities. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 55, pp 978-84.
- Madrigal S, M. (2013). Estudio de la competencia en mezclas binarias de cereales en la producción de grano y forraje. Tesis de Posgrado , UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila. 79 p.
- Marquez S, F. (1988). Genotecnia vegetal. Métodos-Teoría-Resultados (Vol. II). (S.A., Ed.) México: AGT. 500 p.
- Martínez Manrique, E., & Jimenez Vera , V. (2016). Cereales (técnicas de análisis) (Primera edición ed.). Cuatitlán Izcali, Universidad Nacional Autónoma de México : Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, pp 1-6 .
- McDonald, M. B. (1999). Seed Deterioration: physiology repair and assessment. American Journal of Plant Sciences, Vol. 27(No. 1), 177-237.

- Méndez V, M. V. (2004). Comportamiento de cebadas forrajeras imberbes (*Hordeum vulgare* L.) a través de cuatro ambientes. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México: Tesis de licenciatura.
- Mendoza L, E. O. (2008). Determinación de proteasas en el germinado de trigo que rompan epítopes de las prolaminas en la harina de trigo. Tesis Licenciatura , Instituto Tecnológico de Colima y Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Colima, Tecomán, Colima, México. 58 p.
- Mohammadi, H., & Soltani, A. (2011). Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. *International Journal of Plant Production*, Vol. 5(1), pp 65-70.
- Mora Mata , E. (2011). *Calidad física, fisiológica y bioquímica en genotipos de maíz que combina poliembrionía y alto contenido de aceite*. Tesis de posgrado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, 83p.
- Moreno M, E. (1996). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas (Ed. 3A ed.). México, UNAM: Programa Universitario de Alimentos.
- Olmos B, G. (1995). El cultivo de la cebada maltera de temporal. Impulsora Agrícola S.A de C.V, 42 p.
- Palma R, M. P., López H, A., & Molina, J. C. (2000). condiciones de almacenamiento y germinación de semillas de *Cenchrus ciliaris* L. y *andropogon gayanus* Kunth. *Agrociencia*, Vol. 34(No. 1), 41-48 pp.

- Pérez Camacho, I., González Hernandez, V. A., & Ayala Garay, O. J. (2012). Calidad fisiológica de semillas de *Physalis ixocarpa* en función de madurez a cosecha y condiciones de almacenamiento. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 3(No. 1).
- Pérez de la Cerda , F. J., Carballo, A., & Santacruz , A. (2007). Calidad fisiológica en semillas de maíz con diferencias estructurales. *Agricultura Técnica en México*, Vol. 33(Num 1), 53-61 p.
- Perry D, A. (1987). *Introduction; methodology and application of vigour tests; topographical tetrazolium tests*. ISTA .*Handbook of vigour tests methods..* (2a Ed ed.) Zurich, Switzerland. 72 p.
- Poehlman, J. M. (1981). *Mejoramiento genético de las cosechas* (2A ed.). México: Limusa.
- Rivera R, M. F., Sosa, L. R., Fernández, E. A., Reale, M. I., y Villarreal , V. (2007). Efecto del estrés hídrico a distintas temperaturas sobre la germinación de semillas de *Bulnesia retama* (Gill. ex. Hook.) Griseb. -Zigofiláceas - en San Luis, Argentina. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, Vol. 76, 5-17 pp.
- Robles Sánchez, R. (1986). *Genética elemental y fitomejoramiento práctico* (1 ed.). México: Limusa. 477 p.
- Robles Sanchez, R. (1990). *Producción de granos y forrajes* (5A ed.). México: Limusa. pp 267-284.
- Roque López , S. (2010). *Calidad de semilla de cebada forrajera imberbe bajo diferentes dosis de fertilización nitrogenada*. Tesis de Licenciatura , UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

- Salinas , A. R., Yoldjian , A. M., y Craviotto, R. M. (2001). Pruebas de vigor y calidad fisiológica de semillas de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Vol.3, No.2.
- Silva, P., Kolopp, J., & Acevedo, E. (2007). Calidad de trigo candeal, fisiología y manejo agronómico. Chile: Series Ciencias Agronómicas, 185p.
- Santoyo C, E., y Quiroz M, J. (2004). Guia para el cultivo de cereales en el Estado de México. *ICADEX* , Vol. 3(1,2,3), 2 p.
- Shewry, P. R., & Halford, N. G. (2004). Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, 974-958.
- Solano Hernández , S., Zamora Díaz , M., Gómez Mercado , R., Rojas Martínez, I., Ireta Moreno , J., Garza García Ramón, y otros. (2008). Adabella: variedad de cebada maltera para valles altos de la mesa central de México. *Agricultura técnica en México*, Vol. 34(No. 4), 491-493.
- Thomson, J. R. (1979). An introduction to seed technology. Litho Ltd. East Kilbride, Scotland. Great Britain. pp 1-15.
- Torres T, M. A. (2004). Identificación y cuantificación de proteínas en semillas de maíz relacionadas en germinación y vigor. Tesis de Posgrado , UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila 134 p.
- Vashisth, A., & Nagarajan, S. (2009). Germination characteristics of seeds of maize (zea mays l.) exposed to magnetic fields under accelerated ageing condition. *Journal of Agricultural Physics* , 9, pp 50-58.

- Villanueva Flores, R. (2012). Compuestos importantes para la salud encontrados en los cereales enteros. *Ingeniería Industrial*(30), 209-224.
- Walter Quirós, O., & Orlando Carrillo, A. (2009). La importancia del insumo semilla de buena calidad. Oficina Nacional de Semillas, Inedito, 1-7 pp.
- Zamora D, M. R., y Pérez R, J. A. (2017). Maravilla: variedad de cebada forrajera para Valles Altos de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol. 8, pp 1449-1454.
- Zamora D, M., Solano H, S., Garza, R., Islas, J., Huerta Z, R., & López C, M. (2010). nueva variedad de cebada maltera para riego en el bajío. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* Vol.1 , pp 723-726.
- Zhu, J., Huang, S., Khan, K., & Brien, L. (2001). Relationship of protein quantity, quality and dough properties with chinese steamed bread quality. *Journal of Cereal Science*, Vol. 33, pp 205-212 .
- Zuñiga E, J. C. (1987). Comparación de diferentes características cuantitativas y correlaciones en cebada de dos hileras (*Hordeum distichum*) y de seis hileras (*Hordeum vulgare*). Tesis de Maestría , UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Fuentes de Internet

<http://www.abcagro.com/herbaceos/cereales/cebada.asp>) citado 16/11/18

<http://lacebada10.blogspot.mx/2010/06/morfologia-y-taxonomia-de-la-cebada.html>
citado 20/11/18

<http://www.asociacioncereales.es/cereales-de-desayuno/los-cereales-de-desayuno-y-la-salud/composicion-y-valor-nutricional/>