

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**CALIDAD FISIOLÓGICA Y FÍSICA DE SEMILLA DE
ALGODÓN TRANSGÉNICA TIPO DELTA PINE**

POR:

JOSÉ MANUEL RODRÍGUEZ LOMAS

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

FEBRERO DE 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

CALIDAD FISIOLÓGICA Y FÍSICA DE SEMILLA DE ALGODÓN
TRANSGÉNICA TIPO DELTA PINE

TESIS DEL C. JOSÉ MANUEL RODRÍGUEZ LOMAS ELABORADA BAJO LA
SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA Y APROBADO
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

COMITÉ PARTICULAR:

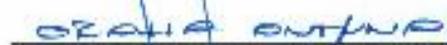
ASESOR PRINCIPAL:


Ph. D. SALVADOR GODOY ÁVILA

ASESOR:


ING. HERIBERTO QUIRARTE RAMIREZ

ASESOR:


DRA. ORALIA ANTUNA GRIJALVA

ASESOR:


DR. HÉCTOR JAVIER MARTÍNEZ AGÜERO


DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

Torreón, Coahuila, México

Febrero De 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS QUE EL C. JOSÉ MANUEL RODRÍGUEZ LOMAS SOMETE A LA
CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR, COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

APROBADO POR:

PRESIDENTE:


Ph. D. SALVADOR GODOY ÁVILA

VOCAL:


ING. HERIBERTO QUIRARTE RAMÍREZ

VOCAL:


DRA. ORALIA ANTUNA GRIJALVA

VOCAL SUPLENTE:


DR. HÉCTOR JAVIER MARTÍNEZ AGÜERO


DR. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE
CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por darme la vida, por guiarme y cuidarme siempre, por darme la oportunidad de terminar una carrera profesional, por poner personas y bendiciones en mi camino, que formaron parte de este gran logro pero sobre todo por darme salud, amor y fortalezas para seguir adelante. Gracias padre celestial.

A MI “ALMA MATER”

Por cobijarme y abrazarme en estos 4 años y medio por que en ti, viví mis momentos de tristeza y alegrías, pero sobre todo por darme la oportunidad de adquirir nuevos conocimientos y crecer como ser humano y sobre todo profesionalmente, siempre pondré tu nombre en alto. Mil gracias.

Al Dr. Salvador Godoy Ávila

Por darme la oportunidad de ser su tesista y por los conocimientos que me transmitió y por todas esas oportunidades de trabajo que me brindo, Gracias

Al Ing. Heriberto Quirate Ramírez

Por su apoyo incondicional y sus sabios consejos que me fueron de gran ayuda. Gracias

A la Dra. Oralia Grijalva Antuna

Por su comprensión y ayuda durante mi estancia en la universidad por sus regaños que me sirvieron de gran ayuda. Gracias

A MIS ASESORES

Por su gran apoyo en la elaboración de este proyecto que gracias a ellos obtendré mi título por todos esos momentos que pasamos y compartimos juntos. Gracias

A MIS PROFESORES

A todos aquellos que durante este largo camino que tome estuvieron presentes para que pudiera adquirir nuevos conocimientos y salir adelante, gracias por todo.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos, muchas gracias por estar conmigo en todo este tiempo donde he vivido momentos felices y tristes, gracias por ser mis amigos y recuerden que siempre los llevaré en mi corazón.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Roberto Rodríguez Zandate y Angelita Lomas Monsiváis por haberme dado la vida y ser el primer escalón de mi vida y aun que ya no se encuentre a mi lado siempre estarán en mi corazón y los recordare a cada momento de mi vida esperando y me sigan guiando por el buen camino.

A MIS ABUELOS

Lorenzo Rodríguez Méndez y Graciela Zandate Emiliano por criarme como uno más de sus hijos y sobre todo por apoyarme en cada una de mis decisiones y por sus sabios consejos que me han ayudado a ser una mejor persona así como por el gran apoyo que me dieron durante mi preparación profesional ya que sin ellos no hubiera llegado hasta donde me encuentro por eso y más gracias siempre los llevare en mi corazón y los recordare con gran amor y alegría. Los amo nunca lo olviden y que Dios me los cuide en todo momento.

A MIS HERMANOS

Roberto y Anahí Por brindarme amor y cariño siempre así como por hacer más divertida mi vida los quiero

A MI FAMILIA

Por ese apoyo que me brindaron en todos y cada uno de los momentos que lo necesite así como por su comprensión, amor y cariño que me han brindado siempre. Los quiero Dios los bendiga

RESÚMEN

Actualmente en la Comarca Lagunera se están cultivando variedades de algodón genéticamente modificado y por lo tanto es necesario e importante conocer si las semillas de las mismas presentan ventajas fisiológicas sobre las convencionales.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la calidad física y fisiológica de variedades de algodón transgénico (DP0912B2RF, DP0935B2RF, DP1032B2RF, DP1034B2RF y DP1133B2RF), en semilla comercial que se obtuvo de un lote en la pequeña propiedad San Patricio municipio de San Pedro, Coahuila.

Las semillas se sometieron a pruebas de Germinación Estándar (T), Envejecimiento Acelerado y Prueba Fría, de acuerdo a los procedimientos establecidos por la International Seed Testing Association (ISTA), y la Association of Official Seed Analysis (AOSA).

Los resultados indicaron diferencias altamente significativas para los Métodos de Germinación (Germinación Estándar, Prueba Fría y Envejecimiento Acelerado), siendo el método de envejecimiento acelerado el que mayor porcentaje de germinación y plantas normales presentó.

Mientras que la variedad DP0912B2RF es la que tiene mayor porcentaje en plantas normales, aún más alto que el Testigo Comercial con mayor uso DP0935B2RF. Esto probablemente pueda deberse a que presentó mayor peso de 1000 semillas y mayor peso hectolítrico.

Es importante destacar que para futuros ensayos se tome en cuenta entre otras consideraciones, añadir una variedad convencional como testigo y también incluir variedades de otras compañías para así poder hacer una comparación más completa; así mismo cabe mencionar que para que la investigación sea más precisa la semilla que se utilice se debe tomar directamente de un semilla comercial (registrada o certificada) y no de un lote derivado de una siembra comercial ya que presentan valores muy bajos en los diferentes parámetros evaluados para las pruebas consideradas y en consecuencia no aprueban el porcentaje de germinación establecido para semillas comerciales, todo lo cual puede contribuir a establecer criterios sesgados al juzgar la calidad de la semilla para siembras comerciales.

Palabras claves: Calidad Física, Calidad Fisiológica, Vigor, Algodón, Germinación.

Índice De Contenido

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo.....	3
1.2 Metas	3
1.3 Hipótesis.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Concepto de Semilla	4
2.2 Calidad de la Semilla	4
2.3 Características físicas	5
2.4 Tamaño y Forma	6
2.5 Calidad Fisiológica.....	7
2.6. Clasificación de la Semilla	8
2.6.1. Semillas Frescas	8
2.6.2. Semillas Duras	9
2.6.3. Semillas Latentes.....	9
2.6.4. Semillas Muertas.....	9
2.6.5. Semillas de Calidad	10
2.7. Germinación.....	10
2.8. Proceso de Germinación.....	11
2.8.1 Imbibición.....	11
2.8.2 Activación enzimática	12
2.8.3. Iniciación del crecimiento del embrión.....	12
2.9. Factores que Afectan a la Germinación	13
2.9.1 Factores internos:	13
2.9.2. Factores Externos.....	15
2.9.3. Tipos de Germinación	17
2.9.4. Clasificación de Plántulas	18
2.9.5 Latencia	21

2.9.6 Causas de la Latencia	21
2.9.7. Tipos de Latencia.....	23
2.9.8. Métodos para romper la latencia	24
2.10. Vigor	26
2.10.1. Factores que afectan el vigor.....	26
2.10.2. Factores que influyen en el vigor de la semilla.....	28
2.11. Germinación estándar	30
2.12. Ensayo de Envejecimiento Acelerado (EA)	31
2.13. Prueba Fría (Cool test)	32
2.14. Peso de 1000 semillas	33
2.15. Peso Hectolítrico	34
2.16. Variedades Transgénicas de Algodón	34
III. MATERIALES Y MÉTODOS	37
3.1. Ubicación del sitio experimental.....	37
3.2. Material genético	37
3.3. Descripción de las variedades evaluadas.....	38
3.3.1. DP0912B2RF	39
3.3.2. DP0935B2RF	40
3.3.3. DP1032B2RF.....	40
3.3.4. DP1034B2RF.....	40
3.3.5. DP1133B2RF	41
3.4. Variables evaluadas en laboratorio	41
3.5. Calidad fisiológica.....	42
3.5.1 Germinación estándar.....	42
3.5.2. Ensayo de Envejecimiento Acelerado (EA)	43
3.5.3. Prueba Fría (Cool test)	43
3.6. Calidad Física.....	44
3.6.1. Peso de 1000 semillas	44

3.6.2. Peso Hectolítrico	45
3.7. Transformación de datos	45
3.8. Diseño Experimental	46
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
4.1. Porcentaje de Semillas Germinadas (PSG).....	47
Cuadro 4.1. Efectos de tres métodos de germinación sobre el porcentaje de germinación de cinco variedades transgénicas de algodónero.UAAAN.UL.2013.	48
4.2. Porcentaje de Plantas Normales (PPN).....	48
4.3. Porcentaje De Plantas Anormales (PPA).....	50
4.4. Porcentaje De Semillas Muertas (PSM)	51
4.5. Porcentaje De Semilla Duras.....	53
V. Conclusión.....	55
VI. Bibliografía.....	56

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1 Nivel De Vigor En Prueba Frio	33
Cuadro 3.1 Variedades de algodón transgénico evaluadas en la Comarca Lagunera.UAAAN.UL.2013.....	37
Cuadro 3.2. Descripción de cinco variedades transgénicas de algodón evaluadas en la Comarca Lagunera. UAAAN.UL.2013.....	39
Cuadro 3.3. Escala de madurez de cinco variedades evaluadas en la Comarca Lagunera.UAAAN.UL. 2013.....	39
Cuadro 4.1. Efectos de tres métodos de germinación sobre el porcentaje de germinación de cinco variedades transgénicas de algodónero.UAAAN.UL.2013.....	48
Cuadro 4.2. Porcentaje de plantas normales para tres métodos de germinación y cinco variedades transgénicas de algodónero. UAAAN.UL 2013	49
Cuadro 4.3. Porcentaje de plantas anormales para tres métodos de germinación y cinco variedades transgénicas de algodónero. UAAAN.UL 2013.....	51

Cuadro 4.4. Porcentaje de semillas murtas para tres métodos de germinación y cinco variedades transgénicas de algodónero. UAAAN.UL 2013..... 52

Cuadro 4.5. Porcentaje de semillas duras para tres métodos de germinación y cinco variedades transgénicas de algodónero. UAAAN.UL 2013.....54

I.INTRODUCCIÓN

La semilla que generalmente utilizan los agricultores proviene de tres actividades diferentes: a) del trabajo del fitomejorador para formar nuevas variedades con las cualidades que el productor y la industria necesitan; b) de la producción de semilla de buena calidad; c) del mantenimiento y conservación de la pureza genética de las variedades recomendadas.

Estas tres actividades deben estar perfectamente coordinadas y bajo la responsabilidad de especialistas en la materia para proporcionar al productor la mejor variedad y la mejor calidad de semilla para siembra. La actividad del fitomejorador es inútil si no existen los caminos adecuados para que las variedades sean utilizadas y se produzca semilla de calidad. En sí el trabajo del fitomejorador es muy importante y digno de análisis por separado. La semilla de alta calidad le asegura al productor el establecimiento de una población óptima de plantas con características deseables como: buen vigor, precocidad, buenos rendimientos, etc. Al usar semilla de alta calidad se tiene una germinación más uniforme, produciéndose a la vez, plántulas que emergen más rápido del suelo tanto bajo condiciones favorables como adversas.

Una plantación de plantas uniformes y vigorosas es la base de un programa de producción de semilla de algodón económicamente redituable.

La obtención de tal población constituye también la fase inicial de una serie de problemas que afectan al productor. Diferentes factores y su interacción pueden ocasionar fallas en la densidad de siembra. Entre estos factores se pueden citar: mala preparación del terreno o cama de siembra; temperaturas bajas en la época de siembra y días subsecuentes; impedimentos mecánicos a causa de la dureza del suelo; contenido de humedad deficiente o excesivo; enfermedades de las plántulas; daños químicos o baja calidad de la semilla; probablemente la baja calidad de la semilla es la principal causa de las fallas en el establecimiento del cultivo y la obtención de bajos rendimientos ya que las plántulas que se originan de dichas semillas son más susceptibles a las condiciones adversas (Palomo y Godoy, 1992) .

Una limitante para la producción de semilla de algodón para siembra es la carencia de investigaciones específicas diseñadas para determinar la mejor tecnología para la producción de semilla de alta calidad destinada a siembras comerciales. Actualmente los productores e instituciones dedicadas a esta actividad aplican la tecnología recomendada para la producción de fibra; sin embargo, se desconoce si esta tecnología es también la idónea para producir semilla para siembra de alta calidad, la semilla que se obtiene de las siembras comerciales se considera un co-producto y se utiliza para la extracción de aceites para consumo humano, elaboración de jabones, grasas vegetales o bien como alimento de ganado rumiante.

La calidad de la semilla se refiere a un conjunto de cualidades genéticas, fisiológicas, sanitarias y físicas, que dan a la semilla su capacidad para poder dar origen a plantas productivas.

Una semilla de calidad es una semilla altamente viable, es decir es una semilla susceptible de desarrollar una plántula normal aún bajo condiciones ambientales no ideales (Peretti, 1994)

1.1 Objetivo

Evaluar las características físicas y fisiológicas en diferentes variedades de algodón transgénico tipo Deltapine.

1.2 Metas

Determinar cual método de germinación evalúa con mayor precisión las características físicas y fisiológicas de las semillas de diferentes variedades

1.3 Hipótesis

Ho: No existen diferencias entre los métodos de germinación reflejados en diferencias para los parámetros evaluados

Ha: Por lo menos uno de los métodos de germinación deberá mostrar superioridad respecto a los otros en los parámetros bajo evaluación

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Concepto de Semilla

Moreno (1996) menciona que en términos agronómicos y comerciales se conoce como semilla a toda clase de granos, frutos y estructuras más complejas (unidad semilla) que se emplea en las siembras agrícolas.

Camacho (1994) define a la semilla en un estricto sentido botánico como un óvulo fecundado, independiente de la planta madre, que ha madurado hasta adquirir la diferenciación y capacidad fisiológica para originar un nuevo vegetal.

Serrato (1994) señala que una semilla verdadera es un óvulo fecundado que posee una planta embrionaria. Es un cigoto formado por la unión de los gametos masculino y femenino.

2.2 Calidad de la Semilla

El manejo de la semilla se basa en normas internacionales y nacionales según sea el uso de la semilla producida. El concepto de calidad total se basa en cuatro conceptos fundamentales:

Genético: garantiza la pureza genética, adaptación y potencial de la variedad mejorada o híbrido.

Aspecto físico: garantiza la presencia de semillas completas y fisiológicamente maduras, es decir evita tener semillas quebradas, deshidratadas o mal manejadas.

Fisiológico y Sanitario: garantiza un alto vigor y germinación en el lote producido. Garantiza semilla sana, no portadora de virus y hongos, o algún otro tipo de patógenos. En la década de 1980 se consideraba a la germinación, la pureza genética y a la sanidad como criterios únicos para determinar la calidad de la semilla en el laboratorio. Actualmente se incorpora como un cuarto factor el vigor de la semilla, que representa la característica más importante para determinar el comportamiento en campo.

2.3 Características físicas

La calidad de la semilla es un concepto que comprende varios atributos. Estos indican su aptitud para la siembra, pudiendo ser su calidad particular clasificada de acuerdo a varios criterios: apariencia, insectos, materia inerte, enfermedades, daño mecánico, químico, grado de deterioro y estado de madurez, Thomson (1979).

García (1980) señala que la calidad física involucra aspectos tales como: pureza física, color, peso, tamaño, y contenido de humedad principalmente. La pureza física indica el grado de contaminación con semillas extrañas y materia inerte. El color de la semilla es una característica, propia de cada especie, variedad, híbrido o línea y puede ser fácilmente afectado por factores ambientales. El contenido de humedad de la semilla es el principal factor que afecta la calidad fisiológica de la semilla durante su almacenamiento, debido a que su actividad metabólica depende de la cantidad de la misma; además es influenciada por la temperatura que prevalezca en el medio en donde se encuentre.

La calidad de semilla es un concepto múltiple que comprende varios aspectos (Bustamante, 1982). Para un agricultor, la calidad significa idoneidad para sembrar en un momento determinado del año y para su propósito personal. La calidad de las semillas en una muestra se define por la proporción de semillas capaz de germinar y formar nuevas plantas y por la proporción de semillas de otras especies, material muerto, semillas rotas, tierra, piedras, insectos, y residuos vegetales incluidos como impurezas (Humphrey, 1980).

2.4 Tamaño y Forma

El tamaño de las semillas es irregular según las variedades. Dentro de una determinada variedad está demostrada la correlación entre el tamaño

de las semillas y el vigor de las plántulas para una determinada partida de semillas maduras en unas condiciones específicas. Sin embargo, la mayor ventaja inicial de las plántulas procedentes de semillas grandes no persiste a lo largo de todo el ciclo del cultivo, al intervenir en su desarrollo otros factores; en general, no suele haber correlación entre el tamaño y el rendimiento. Si se siembra semilla de los tamaños comerciales, obedecen en general, a las exigencias de las operaciones de limpieza que obligan a eliminar ciertas porciones de semillas pequeñas si se quiere garantizar la eliminación de determinadas impurezas. La eliminación de las semillas más pequeñas obedece al criterio de presentación comercial.

Un indicador del tamaño y peso de la semilla puede ser el peso de mil semillas y menos preciso, el peso de semillas contenidas en cierto volumen como un hectolitro (Thomson, 1979).

2.5 Calidad Fisiológica

La calidad fisiológica está integrada por los atributos de germinación y vigor, refiriéndose al primero como el porcentaje de semillas que producen plántulas normales capaces de desarrollarse bajo condiciones favorables de campo, y el segundo como el potencial de emergencia de calidad más allá de la germinación que señala la completa habilidad de la semilla para establecer plántulas en condiciones adversas (McDonald, 1975).

La calidad fisiológica se refiere a mecanismos intrínsecos de la semilla, los cuales determinan su capacidad para germinar y emerger rápidamente y producir una población de plantas más vigorosas, bajo cierto margen de condiciones de campo que pueden ser encontradas al momento de la siembra (Delouche, 1982). Por ello la importancia de conocer el nivel de calidad que las semillas para siembra tienen, por lo cual el ensayo de calidad de semilla continúa llamando la atención de la industria semillera (McDonald, 1982).

La germinación y pureza física son dos criterios de la calidad de la semilla los cuales están debidamente establecidos y son determinados en pruebas rutinarias (Perry, 1980)

2.6. Clasificación de la Semilla

2.6.1. Semillas Frescas

La ISTA (1996) menciona que las semillas frescas son aquellas que han absorbido agua pero que están aletargadas y no han pasado de esta fase inicial de la germinación.

2.6.2. Semillas Duras

La ISTA (1996) señala que las semillas duras son aquellas que no han absorbido agua como consecuencia de la impermeabilidad de sus cubiertas.

A su vez, Moreno (1996) refiere que las semillas duras permanecen intactas hasta el final de la prueba de germinación, ya que no absorben agua porque tienen una cubierta impermeable. Por ejemplo, en las familias *Leguminosae* y *Malvaceae* se debe de registrar el porcentaje de semillas duras, que a su vez es una manifestación de latencia endógena y/o exógena.

2.6.3. Semillas Latentes

Se les denomina así a las semillas viables (diferentes de las semillas duras) pero que no germinan, aún cuando estén bajo las condiciones de germinación ideales que se especifican para dicha especie.

2.6.4. Semillas Muertas

Son aquellas semillas que no germinan y que no se les clasifican como latentes o duras, a las cuales se les deberá ser consideradas como semillas muertas.

2.6.5. Semillas de Calidad

Moreno (1996) indica que la pureza física, pureza varietal, poder germinativo, vigor, sanidad y el contenido de humedad, definen la calidad de la semilla. Las propiedades que determinan la calidad de la semilla son las propiedades internas (pureza varietal “potencial genético”, carencia de enfermedades, alta germinación y vigor) y extremas de la semilla (pureza analítica, clasificación por tamaño, peso de 1000 semillas o granos, peso volumétrico y contenido de humedad).

2.7. Germinación

Moreno (1996) determina que la germinación es el desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables de humedad, temperatura, luz y oxígeno. En este mismo sentido, Serrato (1994) precisa que la germinación es el crecimiento y continuación del desarrollo del embrión, hasta el momento de romper sus envolturas (pericarpio o testas) para que la radícula y el talluelo o gémula broten y salgan.

Camacho (1994) puntualiza que la germinación es el proceso mediante el cual un embrión adquiere el metabolismo necesario para reiniciar el crecimiento y transcribir las porciones del programa genético que la convierten en una planta adulta. Por otra parte la ISTA (1996), define la

germinación de semillas como la emergencia, desarrollo de la plántulas a un estado donde el aspecto de sus estructuras esenciales indican si son o no capaces de desarrollarse en una planta satisfactoria y productiva bajo condiciones favorables del suelo y clima. Por su parte Hartmann y Kester (1999), señalan que para que la germinación dé inicio, se deben cumplir tres condiciones:

- 1) La semilla debe ser viable; esto quiere decir que el embrión debe estar vivo y tener capacidad para germinar.
- 2) Las condiciones internas de la semilla deben ser favorables; deben de haber desaparecido las barreras físicas o químicas para que ocurra la germinación.
- 3) La semilla debe encontrarse en las condiciones ambientales apropiadas, como la disponibilidad de agua, temperatura apropiada, una provisión de oxígeno y a veces luz con adecuada intensidad.

2.8. Proceso de Germinación

Hartmann y Kester (1999), dividen el proceso de germinación en tres etapas las cuales son:

2.8.1 Imbibición

La absorción inicial implica la imbibición de agua por los coloides de la semilla seca, que suaviza las cubiertas de la misma e hidrata al protoplasma.

La absorción del agua depende de:

1). Composición de la semilla. El componente responsable de la imbibición de agua son las proteínas.

2). Permeabilidad de la cubierta de la semilla. El área micropilar es el área por donde entra la humedad de la semilla, aunque también puede hacerse por la cubierta.

- Disponibilidad de humedad del suelo
- Grado de contacto de la semilla con el suelo
- Temperatura del suelo

2.8.2 Activación enzimática

Al iniciarse la imbibición, ciertas enzimas empiezan a romper el alimento almacenado (enzimas hidrolíticas como fosfatasa y ribonucleasa degradan carbohidratos, lípidos, proteínas, etc.) a formas solubles y las translocan a los puntos de crecimiento del embrión.

2.8.3. Iniciación del crecimiento del embrión.

La primera evidencia del proceso de germinación es la brotación de la radícula a través de la cubierta de la semilla, posteriormente emerge la plúmula. Cada uno continúa con su desarrollo y crecimiento (tamaño y peso): la radícula para dar suficiente anclaje a la plántula y habilidad de toma de nutrientes y agua; la plúmula emerge sobre la superficie del

suelo iniciando el proceso de fotosíntesis, dejando de depender de sus reservas e inicia a consumir agua, nutrientes y elaborar su propio alimento, con ello empieza a crecer y a establecer en el suelo una nueva plántula.

2.9. Factores que Afectan a la Germinación

Los factores que afectan la germinación se pueden dividir en dos tipos:

2.9.1 Factores internos:

(intrínsecos): propios de la semilla: madurez y viabilidad de la semilla.

2.9.1.1 Madurez de las Semillas

Una semilla es madura cuando ha alcanzado su completo desarrollo tanto desde el punto de vista morfológico como fisiológico. La madurez morfológica se consigue cuando las distintas estructuras de la semilla han completado su desarrollo, dándose por finalizada cuando el embrión ha alcanzado su máximo desarrollo. También, se le relaciona con la deshidratación de los diferentes tejidos que forman la semilla.

La madurez se suele alcanzar sobre la misma planta, sin embargo, existen algunas especies que diseminan sus semillas antes de que se alcance, como ocurre en las semillas de muchas orquídeas, que presentan embriones muy rudimentarios, apenas diferenciados (<http://www.euita.upv.es>) (Revisado el 17 de septiembre de 2012).

Aunque la semilla sea morfológicamente madura, muchas de ellas pueden seguir siendo incapaces de germinar porque necesitan experimentar aún una serie de transformaciones fisiológicas. Lo normal es que requieran la pérdida de sustancias inhibitoras de la germinación o la acumulación de sustancias promotoras.

En general, las semillas necesitan reajustes en el equilibrio hormonal y/o en la sensibilidad de sus tejidos para las distintas sustancias activas. La madurez fisiológica se alcanza al mismo tiempo que la morfológica, en la mayoría de las especies cultivadas; o bien haber diferencia de semanas, meses y hasta años entre ambas.

2.9.1.2. Viabilidad de las Semillas

La viabilidad de las semillas es el periodo de tiempo durante el cual las semillas conservan su capacidad para germinar. Es un periodo variable y depende del tipo de semilla y de las condiciones de almacenamiento.

Salisbury (1992) reporta que la viabilidad de la semilla se pierde a menudo con más rapidez si las semillas se almacenan en aire húmedo y en temperaturas de 35°C o más cálidas. Parte de la pérdida, quizá se deba a organismos patógenos internos.

2.9.2. Factores Externos

Los factores externos son aquellos que dependen del ambiente; agua, temperatura y gases.

2.9.2.1. Humedad

La absorción de agua es el primer paso y el más importante que tiene lugar durante la germinación; porque para que la semilla recupere su metabolismo, es necesaria la rehidratación de sus tejidos.

La entrada de agua en el interior de la semilla se debe exclusivamente a una diferencia del potencial hídrico entre la semilla y el medio que lo rodea. En condiciones normales, este potencial hídrico es menor en las semillas secas que en el medio exterior. Por ello, hasta que emerge la radícula, el agua llega al embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal; siempre a favor de un gradiente de potencial hídrico.

Aunque es necesaria el agua para la rehidratación de las semillas, un exceso de la misma actuaría desfavorablemente para la germinación, pues dificultaría la llegada de oxígeno al embrión.

2.9.2.2. Temperatura

La temperatura es un factor decisivo en el proceso de la germinación, ya que influye sobre las enzimas que regulan la velocidad de las reacciones bioquímicas que ocurren en las semillas después de la rehidratación.

La actividad de cada enzima tiene lugar entre un máximo y un mínimo de temperatura, existiendo un óptimo intermedio. Del mismo modo, en el proceso de germinación pueden establecerse límites similares. Por ello, las semillas solo germinan dentro de un cierto margen de temperatura. Si la temperatura es muy alta o muy baja, la germinación no tiene lugar aunque las demás condiciones sean favorables. La temperatura mínima sería aquella por debajo de la cual la germinación no se produce, y la máxima, aquella por encima de la cual se anula el proceso. La temperatura óptima, puede definirse como la más adecuada para conseguir el mayor porcentaje de germinación en el menor tiempo posible.

2.9.2.3. Gases

La mayor parte de las semillas requieren para su germinación un medio suficientemente aireado que permita una adecuada disponibilidad de O_2 y CO_2 . De esta forma el embrión obtiene la energía imprescindible para mantener sus actividades metabólicas. La mayoría de las semillas germinan bien en atmósfera normal con 21% de O_2 y un 0.03 de CO_2 . Sin embargo, existen algunas semillas que aumentan su porcentaje de germinación al disminuir el contenido de O_2 por debajo del 20%. Los casos mejor conocidos son *Typha latifolia* y *Cynodon dactylon* (grama), que germinan mejor en presencia de un 8% de O_2 . Para que la germinación tenga éxito, el O_2 disuelto en el agua de imbibición debe llegar hasta el embrión.

Además, hay que tener en cuenta que la cantidad de O_2 que llega al embrión disminuye a medida que aumenta la disponibilidad de agua en la semilla. A todo lo anterior hay que añadir que la temperatura modifica la solubilidad de O_2 en el agua que absorbe la semilla, siendo menor la solubilidad a medida que aumenta la temperatura.

2.9.3. Tipos de Germinación

Hay básicamente dos tipos de germinación (que a veces presentan algunas variantes), la germinación epígea y la hipógea.

2.9.3.1. Germinación Epigea

El hipocotíleo se alarga y aleja a los cotiledones del suelo; los cotiledones tienen con frecuencia color verde y realizan funciones fotosintéticas durante el crecimiento temprano de la plántula, la testa se desprende lo cual permite la expansión de las hojas cotiledonarias

2.9.3.2. Germinación Hipógea

El hipocotíleo no se desarrolla y los cotiledones permanecen bajo el suelo o ligeramente sobre éste. En este caso, las hojas cotiledonarias tienen solo una función almacenadora de nutrientes. La testa de la semilla puede permanecer cubriendo los cotiledones (<http://oMega.ilce.edu>) (Revisado el 14 de agosto de 2013).

2.9.4. Clasificación de Plántulas

Moreno (1996) clasifica a las plántulas en normales y anormales.

2.9.4.1. Plántulas Normales

Las plántulas normales son aquellas que poseen las estructuras esenciales para producir plantas normales en condiciones favorables de agua, luz y temperatura. Cuando la prueba de germinación haya sido

realizada en sustrato artificial, se consideran plántulas normales a aquellas que presenten las siguientes estructuras esenciales:

1. Sistema radicular bien desarrollado, incluyendo raíz primaria, excepto para aquellas plantas, por ejemplo gramíneas, que generalmente presentan raíces seminales, de las cuales deben estar presentes cuando menos dos de ellas.
2. Hipocotílo desarrollado e intacto y/o un epicotílo sin daño en el tejido conductor y en las dicotiledóneas una plúmula normal.
3. Plúmula intacta en las gramíneas, que debe presentar una plúmula verde bien desarrollada dentro o emergiendo.
4. Un cotiledón en monocotiledóneas y dos cotiledones en dicotiledóneas.
5. Aquellas que presentan los siguientes defectos ligeros, siempre y cuando el resto de sus estructuras revele un desarrollo vigoroso y balanceado:
 - a) Plántulas de todas las especies de malváceas y todas las leguminosas de semilla grande que presenten una raíz primaria dañada, con raíces adventicias y laterales lo suficientemente largas y vigorosas como para sostener la plántula en el suelo.
 - b) Plantas con daño superficial o deterioro en el hipocotílo, epicotílo o cotiledones, siempre y cuando el daño no afecte a los tejidos conductores.
 - c) Plántulas dicotiledóneas que presenten solamente un cotiledón y sano.

6. Aquellas que estén invadidas por hongos o bacterias, siempre y cuando sea evidente que la fuente de infección no es la misma semilla, y que estén presentes las estructuras esenciales.

2.9.4.2. Plántulas anormales

1- Las que se pueden clasificar como normales por tener alguna deficiencia en el desarrollo de sus estructuras esenciales, lo que les impide su desarrollo normal cuando crecen en suelo preparado y en condiciones favorables de agua luz y temperatura.

2- Las que presentan los siguientes defectos al germinar en un sustrato artificial:

a) Plántulas dañadas, sin cotiledones, con fisuras o lesiones que dañen el tejido conductor del hipocotílo, epicotílo o raíz; sin raíz primaria en aquellas especies donde esta estructura es esencial.

b) Plántulas deformes, con un desarrollo débil o desequilibrado de las estructuras primordiales: plúmulas retorcidas en espiral; plúmulas, hipocotílos y epicotílos poco desarrollados, talluelos hinchados y raíces sin desarrollo; plúmulas hendidas sin hojas verdes; plantas acuosas o bien plántulas que no presentan desarrollo después de haber salido de los cotiledones.

c) Plántulas con estructuras esenciales deterioradas por hongos o bacterias, excepto que se determine que dicha infección no proviene de dicha semilla.

2.9.5 Latencia

Flores (2004) define a la latencia, como la capacidad de la semilla para retrasar su germinación hasta que el tiempo y lugar sean propicios y representan un mecanismo de sobrevivencia de la semilla. La latencia es un fenómeno complejo que resulta en un desafío para los investigadores y analistas de semillas. Por su parte Serrato (1994) menciona que la latencia, es la habilidad de la semilla para retrasar su germinación, hasta que se presenten las condiciones adecuadas; es un mecanismo importante de sobrevivencia, las plantas con una larga historia de domesticación muestran menor latencia que las que se encuentran en medio natural.

Salisbury (1992) señala a la latencia como condición de una semilla que no puede germinar aún cuando disponga de una amplia humedad externa, esté expuesta a condiciones atmosféricas típicas propias de suelos bien aireados o en la superficie de la tierra, y que la temperatura esté dentro del rango comúnmente asociado con la actividad fisiológica.

2.9.6 Causas de la Latencia

Según el origen de las causas de la latencia en semillas, pueden ser incluidas en las siguientes categorías:

2.9.6.1 Embrión Inmaduro o Rudimentario

En esta categoría, el embrión no está completamente desarrollado cuando la semilla se desprende de la planta. Si estas semillas se colocan a germinar bajo condiciones favorables, la germinación se retrasará hasta que el embrión sufra las modificaciones anatómicas y fisiológicas que le permitan completar su diferenciación y crecimiento (<http://www.virtual.unal.edu.co>) (Revisado el 02 de septiembre de 2013).

2.9.6.2. Impermeabilidad al Agua

Las semillas pueden poseer un tegumento que impide la absorción de agua y la ruptura de la testa, e iniciar su crecimiento.

2.9.6.3 Impermeabilidad al Oxígeno

Se dá cuando las estructuras como el pericarpio o tegumento impiden el intercambio gaseoso. Esta forma de latencia es común en gramíneas.

2.9.6.4 Restricciones Mecánicas

El tegumento o cubierta protectora puede presentar resistencia mecánica capaz de impedir el crecimiento del embrión. Esta dormancia puede ser superada removiendo o perforando la cubierta protectora de la

semilla (<http://www.virtual.unal.edu.co>) (Revisado el 02 de Septiembre de 2013).

2.9.6.5. Embrión Formante

Se caracteriza porque la causa de la latencia está en el embrión. Estas semillas presentan exigencias en cuanto a luz o temperatura, para superar la latencia causada por inhibidores químicos.

2.9.6.6. Combinación de Causas

La presencia de una causa de latencia no elimina la posibilidad de que otras causas estén presentes.

2.9.7. Tipos de Latencia

Según Serrato (1994) la latencia se clasifica en:

2.9.7.1. Impuesta

Es cuando el medio ambiente restringe o limita su germinación.

2.9.7.2 Innata o Verdadera

Es cuando la semilla podría germinar o no, bajo condiciones favorables. Cuando la semilla tiene un período establecido de

latencia, el embrión no está bien desarrollado y entra en un período para desarrollarse. Esta se rompe dejando a la semilla un período de tiempo para que se rompa.

2.9.7.3. Relativa

Cuando la semilla necesita ser sujeta a un tipo de estrés o tratamiento químico para poder germinar.

2.9.8. Métodos para romper la latencia

El método a seguir depende del tiempo de latencia; las técnicas más empleadas son:

2.9.8.1 Escarificación mecánica

Consiste en pasar las semillas por superficies abrasivas, con el fin de causar daño en la testa pero sin tocar el embrión (<http://www.virtual.unal.edu.co>) (Revisado el 02 de Septiembre de 2013).

2.9.8.2 Escarificación ácida

Consiste en sumergir las semillas en H_2SO_4 por un tiempo determinado, luego se lavan con agua corriente y se dejan secar.

2.9.8.3 Lavado con agua corriente

Algunas sustancias inhibitoras son solubles en agua y pueden ser removidas por simple lavado de las semillas.

2.9.8.4 Secado previo

Las semillas recién cosechadas pueden perder la latencia si se secan por algunas semanas en una cámara a 40°C.

2.9.8.5. Pre enfriamiento

Algunas semillas pierden la latencia sometiéndolas a bajas temperaturas.

2.9.8.6. Estratificación

Este tratamiento se emplea con el fin de inducir procesos fisiológicos en el embrión, necesarios para la germinación.

2.9.8.7. Imbibición en nitrato de potasio

Algunas semillas superan la latencia con este tratamiento.

2.9.8.9. Exposición a la luz

Las semillas requieren de un determinado tratamiento de luz para poder germinar, (<http://www.virtual.unal.edu.co>) (Revisado el 02 de Septiembre de 2013).

2.10. Vigor

Moreno (1996) menciona que en 1977, el Comité de Pruebas de Vigor de la ISTA definió vigor como la suma total de aquellas propiedades que determinan el nivel de actividad y comportamiento de la semilla o lote de semilla durante su germinación y emergencia de la plántula. Las que se comportan bien se llaman semillas de alto vigor y las que se comportan pobremente son denominadas semillas de bajo vigor.

Serrato (1994) indica que es el potencial para una rápida y uniforme germinación y rápido crecimiento de plántulas bajo condiciones de campo. Por su parte, Moreno (1996), menciona que las causas de la variabilidad del vigor de la semilla son las siguientes: Genotipo, Medio ambiente y nutrición de la planta, Estado de madurez, tamaño, peso y peso volumétrico, Daño físico, Deterioro y envejecimiento, Patógenos presentes en las semillas.

2.10.1. Factores que afectan el vigor

2.10.1.1. Genotipo

La constitución genética determina el vigor de las plántulas.

2.10.1.2. Madurez de la semilla

Según madura la semilla, su potencial para germinación y vigor aumenta. Las semillas maduras dan su máxima expresión de vigor en contraste con semillas inmaduras.

2.10.1.3. Condiciones ambientales

Temperatura del aire y disponibilidad de humedad en el suelo durante su desarrollo, afectan el tamaño de la semilla, rendimiento posterior, germinación y vigor.

2.10.1.4. Tamaño de la semilla

Si la semilla no es suficientemente grande puede afectar la germinación, ya que se va a encontrar escasa de reservas y la planta puede presentar problemas.

2.10.1.5. Daño mecánico

Semillas dañadas mecánicamente pueden parecer normales, pero presentan menor vigor que las semillas sin dañar. Pueden ser en la trilla, limpieza, tratado, envasado, transporte y siembra.

2.10.1.6. Envejecimiento

Al envejecer la semilla, involucra una disminución en su vigor.

2.10.2. Factores que influyen en el vigor de la semilla

Copeland y McDonald (1985) mencionan que el crecimiento de una semilla comprende una serie de importantes escenarios genéticos.

Cada uno de estos escenarios representa un cambio en la morfología y fisiología genética, donde éstas pueden alterar el rendimiento potencial de la semilla. El pico en que la semilla alcanza su máximo peso seco es llamado madurez fisiológica. En este vértice, está el mayor potencial para tener una máxima germinación y vigor.

2.10.2.1. Deterioro

De manera práctica, el deterioro de semillas puede ser visto como un complejo de cambios que ocurren con el pasar del tiempo, causando perjuicios a sistemas y funciones vitales, resultando en la disminución en el grado de la capacidad de desempeño de las semillas.

Flores (2004) define el deterioro de semillas como la incapacidad morfológica y/o fisiológica para la germinación y desarrollo normal de la plántula. El deterioro engloba todos los cambios progresivos negativos de la semilla hasta que esta muere. Además cita las características que distinguen al fenómeno de deterioro, las cuales son:

- 1) Es inexorable.
- 2) Es irreversible.
- 3) Es mínimo el tiempo en que la semilla alcanza su madurez fisiológica.
- 4) Varía entre especies.
- 5) Lotes de la misma especie.
- 6) Semillas de un mismo lote.

Anderson y Baker (1982) indican que el proceso de deterioro puede ocurrir en el campo después de que la semilla ha alcanzado su madurez fisiológica particularmente si la cosecha se realizó en temporada de lluvia y en el almacén cuando las condiciones de humedad y temperatura son elevadas.

2.10.2.2. Síntomas de deterioro

Los síntomas fisiológicos del deterioro según Copeland y McDonald (1985), son la baja actividad enzimática, la reducción en la respiración y los cambios de color asociados con el envejecimiento.

Eventualmente el deterioro de la semilla se observa en su bajo funcionamiento durante la germinación. Las plántulas que no germinan inmediatamente están entre los primeros síntomas, seguido por un lento crecimiento de la planta y un decremento en la germinación.

2.11. Germinación estándar

El objetivo del ensayo de la germinación estándar es obtener información con respecto a la capacidad de la semilla para producir plántulas normales y hacer comparaciones del poder germinativo entre diferentes lotes de semilla de la misma especie (ITSA, 2004).

La prueba de germinación intenta evaluar que tan variable es la semilla que se está ensayando. A la germinación generalmente se le asocia con una serie de factores que de una u otra manera influyen en los resultados, una de las más restrictivas es el vigor de la semilla (AOSA, 1983).

La capacidad de germinación es el criterio comúnmente usado para determinar la viabilidad o calidad de la semilla y que es universalmente aceptado que la germinación y la viabilidad de la semilla se consideran términos sinónimos para los semilleros (Copeland y McDonald, 1985).

2.12. Ensayo de Envejecimiento Acelerado (EA)

La prueba de envejecimiento artificial fue adaptada inicialmente para predecir el potencial de almacenamiento de algunas de las semillas de soya sembradas en el campo, es decir, se definió como una prueba de vigor, la cual permite predecir la capacidad de almacenamiento de las semillas en diversos cultivos y la emergencia en campo (Delouche y Baskin, 1976).

McDonald (1980) señala las ventajas de la prueba de envejecimiento acelerado : a) es simple y económico; fácil de ser conducida; no requiere de equipo adicional excepto la cámara de envejecimiento y la evaluación de los resultados es semejante al procedimiento para la prueba de germinación; b) es rápida con tiempo de duración aproximadamente similar a la prueba de germinación; y c) es aplicable universalmente para la mayoría de las especies vegetales, las cuales sufren estrés durante su envejecimiento natural.

Según Tekrony (1995) la germinación de la semilla después del envejecimiento será similar a la germinación antes del envejecimiento acelerado, cuando las semillas son de alto vigor, por otra parte la germinación será menor en semillas con medio o bajo vigor. De esta manera, los resultados pueden ser utilizados para clasificar los lotes de semilla según su vigor y para la toma de decisiones en cuanto a la capacidad de almacenamiento o potencial de siembra de cada lote de semillas.

2.13. Prueba Fría (Cool test)

El Cool test ha sido utilizado durante muchos años en los semilleros como una prueba para verificar la efectividad de los tratamientos de semillas y como ensayo interno de control de calidad de los lotes de maíz. Luego se ha aplicado a otros cultivos. La variación del sustrato en cada región es un obstáculo para la estabilización del método. De allí el interés para desarrollar técnicas con compost, o directamente para usar un medio inerte como vermiculita, toallas de papel o papel de filtro, y evaluando como único factor ambiental adverso la baja temperatura.

Hasta la fecha faltan datos experimentales consistentes para la aplicación de esta metodología a los diferentes cultivos.

En el caso del trigo se acondicionan los granos en rollos de papel humedecidos y se envuelven en bolsas de polietileno a 5°C durante 7 días en obscuridad; luego se llevan a la germinación a 20°C durante 4 días, con 8 horas de luz diaria. Para registrar los resultados se aplican los criterios de evaluación del ensayo de germinación estándar (Perreti, 1994).

El vigor de las plántulas se evaluó según la siguiente escala:

Cuadro 2.1 Nivel de vigor en prueba frio

Poder germinativo	Vigor
Mayor de 80%	Alto
Entre 70-80%	Medio
Menor de 70%	Bajo

2.14. Peso de 1000 semillas

El peso de 1000 semillas se utiliza para determinar la cantidad necesaria de semilla para lograr un número de plantas predeterminado, éste es variable y está determinado en gran parte por las condiciones ambientales en que se desarrollan las plantas. Así mismo, entre especies hay diferencias en el peso de 1000 semillas, debido a los diferentes tamaños de las semillas.

2.15. Peso Hectolítrico

Es el parámetro que mejor conoce el productor agropecuario. Se define como el peso en kilogramos de un volumen de grano de 100 litros. Es un valor muy útil porque resume en un solo valor que tan sano es el grano. Esto es importante porque entre más sano sea (menor cantidad de impurezas, granos dañados o quebrados, picados, granos con fusarium o con presencia de cualquier enfermedad), mayor será la presencia de almidón en el grano y mejor será la separación del endospermo del resto del grano. Por lo tanto, mientras más sano, mayor extracción de harina. A su vez es una medida de la homogeneidad de la partida del trigo, factor clave en el proceso industrial. Por consiguiente, el peso hectolítrico es una buena estimación tanto de la calidad física del grano, como de la calidad molinera. (<http://www.oedrus-bc.gob.mx/sispro/.../Industrializacion/InformeCalidad.pdf>) (Revisado el 05 de febrero del 2013)

2.16. Variedades Transgénicas de Algodón

El tema de los organismos genéticamente modificados (GM) es controversial. Mientras unos abogan por su potencial para incrementar la productividad y reducir costos de producción, otros los reprueban por sus riesgos ambientales.

Al respecto, al analizar la evolución en la productividad del algodón se observa que en 1996, cuando comenzaron a sembrarse cultivos transgénicos a nivel mundial, México produjo 765, 000 toneladas de algodón en 314, 000 hectáreas (solo 896 fueron genéticamente modificados). De acuerdo con los avances de cosecha aportados por SAGARPA en el ciclo 2011-2012 se obtuvieron 733,000 toneladas de algodón a partir de 192,000 hectáreas, de las cuales las variedades OGM representaron 83%. Así con solo el 61% de la superficie utilizada en 1996, durante el 2011 se obtuvo una producción equivalente 95% del año base. (<http://eleconomista.com.mx>) (Revisado 5 de febrero de 2013).

El consumo aparente de algodón en el 2011 fue de 192,000 toneladas, así se puede afirmar que el déficit comercial se ubica en 27% de la demanda. Este incremento en la productividad es claramente atribuida al empleo de organismos genéticamente modificados (OGM) de algodón.

La productividad promedio de Chihuahua, Baja California, Sonora y Durango es de 1.9 veces superior a la de Tamaulipas, estado en el cual hasta el 2011 se realizaron las primeras siembras transgénicas; sin duda, el algodón GM representa beneficios para los agricultores mexicanos al significarle ahorros tanto en fertilizantes y agroquímicos como en superficie.

Por lo tanto, es posible concluir que las variedades transgénicas son benéficas para generar derramas económicas en el campo mexicano. No obstante, quien las emplee debe cumplir responsable y cabalmente la normatividad mexicana que regula los transgénicos, evitando con ello daños colaterales. (<http://eleconomista.com.mx>) (Revisado el 05 de febrero de 2013)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del sitio experimental

El estudio se realizó en el periodo Enero-Junio 2012, en el Laboratorio 1 de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, la cual se localiza entre los paralelos 25° 33' 12.59" Latitud Norte y los 103° 22' 29.95" Longitud Oeste, a una altura de 1100 a 1200 msnm (Atlas Nacional del Medio Físico, 1982).

3.2. Material genético

El material utilizado para el experimento fue semilla de cinco variedades transgénicas de Algodón (*Gossypium hirsutum L*), la cual se obtuvo durante el ciclo primavera-verano 2010, en la Pequeña Propiedad San Patricio, Municipio de San Pedro, Coahuila, México.

Cuadro 3.1. Variedades de algodón transgénico evaluadas en la Comarca Lagunera.UAAAN.UL.2013.

Variedades	Compañía
DP 0912 B2RF	Monsanto
DP 0935 B2RF	Monsanto
DP 1032 B2RF	Monsanto
DP 1034 B2RF	Monsanto
DP 1133 B2RF	Monsanto

3.3. Descripción de las variedades evaluadas

Las plantas B2RF: Son plantas que contienen un gen de la bacteria *Bacillus thuringiensis*, comúnmente conocido como Bt, lo que las hace producir, durante todo su ciclo de vida, pequeñas cantidades de una proteína Cry δ -endotoxina que es tóxica para ciertos insectos.

Las proteínas Cry requieren que sean ingeridas para tener una actividad insecticida. En el intestino del insecto, la proteína se solubiliza debido al alto pH (alcalino) y se degrada hasta quedar el núcleo protéico que genera la actividad tóxica. El núcleo de la proteína se une a receptores específicos en el intestino medio de insectos lepidópteros, se inserta dentro de la membrana y forma poros que rompen el flujo de iones existentes en el tubo digestivo. De esta forma se produce parálisis en la digestión y se causa la muerte del insecto.

Los tejidos del sistema digestivo de insectos no objetivo, mamíferos, pájaros y peces carecen de receptores donde se pueda unir a la proteína Cry1, tienen un pH ácido, lo que impide que se interrumpa la digestión y en consecuencia esta no es tóxica para especies distintas a insectos lepidópteros (Monsanto Agricultura España, 2002).

Cuadro 3.2. Descripción de cinco variedades transgénicas de algodón evaluadas en la Comarca Lagunera. UAAAN.UL.2013

Compañía	Nombre de la Variedad	Año de liberación	Escala de madurez	Gen
Monsanto	Delta Pine	09	12	B2RF
Monsanto	Delta Pine	09	35	B2RF
Monsanto	Delta Pine	10	32	B2RF
Monsanto	Delta Pine	10	34	B2RF
Monsanto	Delta Pine	11	33	B2RF

Cuadro 3.3. Escala de madurez de cinco variedades evaluadas en la Comarca Lagunera.UAAAN.UL.2013.

10-19	Precoz
20-29	Precoz-Intermedia
30-39	Intermedia
40-49	Intermedia-Tardía
50-59	Tardía

3.3.1. DP0912B2RF

Ciclo precoz, su tipo de hoja es semi-lisa, es una planta mediana de tipo arbustiva, compacta, tiene un excelente vigor vegetativo con un crecimiento inicial fuerte y buena tolerancia al calor, a pesar de su precocidad no es una variedad muy determinada por lo que su fin de floración efectiva no es tan drástico, tiene una buena respuesta a reguladores de crecimiento y buena adaptación a diferentes tipos de suelo y condiciones de riego limitado.

3.3.2. DP0935B2RF

Ciclo intermedio, su tipo de hoja es liso, es una planta mediana de tipo arbustiva, tiene un crecimiento moderado durante el ciclo por lo que puede requerir dosis menores de reguladores de crecimiento, buena retención inicial y su floración efectiva no termina drásticamente permitiéndole mantener el amarre de bellotas, excelente estabilidad de rendimiento, capullo compacto pero que permite una cosecha limpia, buena reacción al defoliante quedando una planta muy limpia.

3.3.3. DP1032B2RF

Ciclo precoz-intermedio, su tipo de hoja es lisa, es una planta mediana de tipo arbustiva, tiene resistencia a la mancha o tizón bacteriano, tiene un excelente potencial de rendimiento y calidad de fibra.

3.3.4. DP1034B2RF

Ciclo intermedio, su tipo de hoja es lisa, es una planta mediana, tiene un excelente potencial y calidad de fibra.

3.3.5. DP1133B2RF

Ciclo intermedio, su tipo de hoja es lisa, es una planta de tipo arbustiva compacta, tiene el potencial de rendimiento excepcional para el Este de Texas, con la calidad de fibra que el mercado está buscando.

3.4. Variables evaluadas en laboratorio

En la primera fase de evaluación se determinó la calidad fisiológica de la semilla sometiendo a los materiales a la prueba de germinación estándar mediante el método de papel secante o toalla. El vigor se midió con las pruebas de envejecimiento acelerado y prueba fría. Posteriormente en la segunda fase se evaluó la calidad física con la determinación del peso de mil semillas y peso hectolítrico.

Previo al ensayo y evaluación de la calidad fisiológica y física, la semilla fue desbarrada químicamente con ácido sulfúrico al 100% grado reactivo. Se colocó la semilla en un vaso de precipitado de 4L; durante 2 minutos se agitó constantemente para eliminar el exceso de fibra. Transcurrido el tiempo se enjuagó con agua y finalmente se aplicó otro enjuague con cal deshidratada (CaO), para neutralizar el efecto del ácido sobre la semilla.

Se dejó secar la semilla a ambiente durante un período de 24 horas, transcurrido este espacio de tiempo se dió tratamiento a la semilla para evitar la contaminación de hongos con un fungicida el cual se describe a continuación: CAPTAN 50 PH de contacto con un ingrediente activo de: N-triclorometiltio-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida.

3.5. Calidad fisiológica

3.5.1 Germinación estándar

Para determinar la capacidad de germinación se utilizó el método de papel toalla recomendado por la ISTA (1996). Para ello se realizaron cuatro repeticiones de 100 semillas (400 semillas previamente desborradas y tratadas) por variedad, las cuales fueron colocadas en papel para germinación, cada uno de los tratamientos fueron enrolladas en forma de taco o muñeca y sujetados con ligas en los extremos. Los tacos fueron después colocados dentro de bolsas de polietileno y posteriormente, se colocaron en una incubadora marca Thermo Scientific Modelo 818 a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, dando riegos cada tercer día a los tacos para mantener la humedad durante la prueba. Se realizó un primer conteo (PC) al cuarto día y se registraron únicamente las semillas germinadas. Al octavo día se realizó el conteo final (segundo conteo (SC)) determinando el porcentaje de germinación con las plántulas que presentaban todas las estructuras intactas (ISTA, 1996).

3.5.2. Ensayo de Envejecimiento Acelerado (EA)

Se llevó a cabo de acuerdo a la metodología establecida por la ISTA (2004), donde la semilla se sometió a una temperatura de $42^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante un período de 72 h, con una humedad relativa de 90 por ciento, condiciones que se mantuvieron en un horno de aire forzado marca FELISA modelo 248A. Se utilizaron vasos de precipitado de 600 ml, agregándoles 100 ml de agua destilada a cada uno de los vasos. Para evitar el contacto de la semilla con el agua se utilizó como soporte interno una malla en forma de tubo y otra donde se depositaron 100 semillas tomadas al azar de las variedades, los vasos se cubrieron con bolsas de polietileno y se sujetaron con ligas de hule del N°. 18, una vez transcurrido el tiempo, se extrajo la semilla de la cámara y se realizó la prueba de germinación estándar.

3.5.3. Prueba Fría (Cool test)

Para realizar esta prueba se utilizó la metodología propuesta por Peretti (1984); se tomaron cuatro repeticiones de 100 semillas por variedad, se sembraron en toallas de papel y se enrollaron en forma de taco, se sujetaron los extremos con ligas, luego se colocaron en bolsas de polietileno. Posteriormente fueron llevadas a un refrigerador donde se sometieron a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 4 días, al transcurrir el tiempo se trasladaron las muestras a la incubadora marca Thermo-Scientific modelo 818 a una

temperatura de 25°C± 1°C por 8 días para así someterla a la prueba germinación estándar.

3.6. Calidad Física

3.6.1. Peso de 1000 semillas

El conteo se realizó en forma manual, ya que no se disponía de un contador de semillas. Se tomaron ocho repeticiones de 100 semillas al azar por variedad. Cada una de las ocho repeticiones se pesó en gramos con el mismo número de cifras decimales en una balanza digital marca Transcell TechnologyInc, modelo ESW. Posteriormente se calculo la varianza, la desviación típica y el coeficiente de variación para todo el conjunto de repeticiones de acuerdo a las siguientes fórmulas:

La Varianza (S^2)

$$S^2 = x = \frac{n(\text{sumatoria } x^2) - (\text{sumatoria } x)^2}{n(n - 1)}$$

La Desviación Típica:

$$S = s^2$$

Coeficiente de Variación:

$$cv = \frac{s}{x} * 100$$

donde x = peso en gramos de cada repetición, n = número de repeticiones y
 \bar{x} = media del peso de 100 semillas.

Cuando el coeficiente de variación (CV) no excedía de 4.0 el resultado de prueba fue aceptado.

3.6.2. Peso Hectolítrico

Se pesó cada una de las muestras de semilla de las variedades en una Balanza para grano marca Seedburo modelo 8800 SS/A y el peso se expresó en kg hl⁻¹.

3.7. Transformación de datos

Para hacer que los datos manejados en la investigación se ajustaran a una distribución normal y consecuentemente fueran más comparables entre sí, se sometieron a una transformación mediante la aplicación de raíz cuadrada, con la siguiente fórmula:

$$\sqrt{x} + 1/2$$

3.8. Diseño Experimental

Las variables fueron sometidas a un análisis de varianza para un Diseño Completamente al Azar con Arreglo Combinatorio 3x5 en donde el factor A consistió de los tres Métodos de Germinación(A) y el factor B de las cinco variedades de algodónero, con 4 repeticiones, usando el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + Var_j + (T * Var)_{ij} + Rep_k + E_{ijk}$$

Donde μ = medida general, T_i = los efectos del tratamiento, Var_j = variedades T =tratamientos, Rep_k = Repeticiones y E_{ij} = error experimental para cada observación (ij).

Tamaño de muestra: 100 semillas por variedad

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Porcentaje de Semillas Germinadas (PSG)

El análisis de varianza señalo diferencias altamente significativas para, Tratamiento, métodos, y la interacción de métodos por variedades.

Con la finalidad de conceder objetividad a las comparaciones de los tratamientos estudiados se consideró conveniente efectuar contrastes ortogonales. Dados los niveles de cada factor probados se originan 14 contrastes, algunos de ellos ilógicos, por lo que con fines prácticos en este estudio únicamente se discutirán 6 de ellos.

Al respecto el contraste para los métodos de germinación señalo diferencia altamente significativa para ellos, en donde las máximos porcentajes fueron alcanzados por los métodos Germinación Estándar y Envejecimiento Acelerado con 86.8 % y 90.9 %, en tanto que la Prueba Frio solo mostró un 35.0 %.

El contraste para las Variedades, señalo que no existe diferencias entre los mismos sin embargo la comparación de DP0935B2RF que corresponde a la

variedad del tipo Delta Pine de mayor uso solo mostro 71.7 % contra un promedio de 70.5 % para las restantes, valor insignificante.

Respecto a la comparación de DP1133B2RF contra las restantes son diferenciad mínimamente son de 1.3 % en el porcentaje de germinación. La comparación de DP0935B2RF (Testigo actual) y la más reciente de ellas DP1133B2RF es de solo 0.6 % .

Cuadro 4.1. Efectos de tres métodos de germinación sobre el porcentaje de germinación de cinco variedades transgénicas de algodónero.UAAAN.UL.2013.

Metodo A	DP0912	DP0935	DP1032	DP1034	DP1133	Media
Estandar(T)	54.5	87.7	97.5	96.2	96.0	86.4
Frio	45.0	35.7	44.0	22.5	27.7	43.7
Acelerado	90.0	89.5	89.0	90.7	95.2	90.9
Media	63.1	71.0	76.8	69.8	73.0	70.7

4.2. Porcentaje de Plantas Normales (PPN)

El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas para los factores: Tratamientos, métodos, variedades y su respectiva interacción.

Referente a los métodos de germinación el contraste del método de Germinación Estándar (Testigo) resulto diferente al Método Frio y al Envejecimiento Acelerado; el menor porcentaje lo mostro el método de Frio.

La comparación entre variedades en el caso de DP0935B2RF contra las restantes no mostro diferencias significativas entre los porcentajes normales las cuales para el testigo de mayor uso fue de 73.2 %, en tanto que para el resto, varió desde un 66.9% hasta 85.6 %.

Cuadro 4.2. Porcentaje de plantas normales para tres métodos de germinación y cinco variedades transgénicas de algodónero. UAAAN.UL 2013

Método A	DP0912	DP0935	DP1032	DP1034	DP1133	Media
Estándar(T)	80.3	90.0	93.2	89.5	96.0	89.8
Frio	77.0	33.2	34.7	15.2	16.5	35.4
Acelerado	99.0	96.2	97.7	95.9	98.7	97.5
Media	85.6	73.1	75.2	66.9	70.4	74.2

Igualmente al comparar la variedad de más reciente liberación DP1133B2RF contras las restantes liberadas en 2009 y 2010 tampoco mostraron diferencias significativas; para DP1133B2RF su valor resultó de 70.4 % contra valores que variaron desde 66.9 % hasta 85.6 %.

Finalmente al comparar la variedad del tipo Delta Pine con mayor uso comercial en siembra DP0935B2RF contra la de más reciente liberación DP1133B2RF, presentan valores muy semejantes, 73.2 % contra 70.4 %.

La manifestación de estos resultados señalan algunas anormalidades en el bajo porcentaje de plantas normales al igual que para el porcentaje de germinación, razón debida al origen de la semilla utilizada para efectuar

este estudio y la cual se obtuvo de semilla comercial proveniente de la original certificada para siembra comercial. Esta consideración deberá tomarse en cuenta para estudios futuros para obtener conclusiones pertinentes.

4.3. Porcentaje De Plantas Anormales (PPA)

El análisis de varianza indicó diferencias altamente significativas para tratamiento, método y la interacción de métodos por variedad, mientras que para variedades no hubo diferencia significativa.

Al respecto los contrastes mostraron que el método de Germinación Estándar (Testigo) presenta diferencia contra los métodos de Frio y Envejecimiento Acelerado con un 13.5 % y un 1.0 %, mientras que el Testigo presenta un 5.3 % de plantas anormales, siendo el método Frio el que mayor porcentaje de plantas anormales tiene.

La comparación de variedades se efectuó entre DP0935B2RF contra las otras variedades utilizadas, no presentando diferencias significativas en los porcentajes, correspondiendo un 22.7 % a la variedad con mayor uso comercial, mientras que el porcentaje de las demás variedades utilizadas varía de un 12.5 % hasta un 21.3 %

Cuadro 4.3. Porcentaje de plantas anormales para tres métodos de germinación y cinco variedades transgénicas de algodónero. UAAAN.UL 2013

Método A	DP0912	DP0935	DP1032	DP1034	DP1133	Media
Estándar(T)	11.5	4.5	2.75	3.2	4.5	5.3
Frio	1.0	17.0	14.0	15.2	16.6	12.7
Acelerado	0	1.2	1.2	1.5	0.2	0.8
Media	4.1	7.5	6.0	6.6	7.1	6.3

De igual manera al comparar la variedad de menor uso comercial DP1133B2RF contras las otras variedades utilizadas, no presenta diferencias significativas entre ellas; el porcentaje de plantas anormales que presenta la variedad de menor uso DP1133B2RF es de un 7.1 %, mientras que las otras variedades presentan un porcentaje de plantas anormales que va desde 4.1% hasta un 7.5%.

Para finalizar las comparaciones entre las variedades de mayor y menor uso DP0935B2RF Y DP1133B2RF, no se presentaron diferencias significativas entre ellas, presentando valores semejantes: 7.58 % contra 7.11 %.

4.4. Porcentaje De Semillas Muertas (PSM)

El análisis de varianza informo diferencias altamente significativas para Tratamientos, Métodos y Variedades, mientras que para la interacción Métodos por Variedades se presentó diferencia significativa.

Al comparar los contrastes entre la prueba Estándar o Testigo contra las otras, se presentan diferencias entre las mismas, con un 24.95 % para la prueba Frio y un 0.45 % para la prueba de Envejecimiento y el Testigo mostro un 0.90 %; siendo la prueba Frio la que mayor porcentaje de semillas muertas presentó.

El contraste para las variedades mostró que no hay diferencias significativas entre ellas. Señalando que la variedad con mayor uso comercial DP0935B2RF presentó un 4.6 %, y las otras variedades mostraron porcentajes que van desde 5.2 % hasta 13.5%

Cuadro 4.4. Porcentaje de semillas murtas para tres métodos de germinación y cinco variedades transgénicas de algodónero. UAAAN.UL 2013

Metodo A	DP0912	DP0935	DP1032	DP1034	DP1133	Media
Estandar	0.7	0.50	1.00	1.75	.50	0.9
Frio	14.5	22.50	39.25	32.5	16.00	24.9
Acelerado	0.25	0	0.25	1.50	0	0.4
Media	5.16	4.60	13.50	11.91	5.5	8.3

Al comparar la variedad de menor superficie sembrada DP1133B2RF contra las otras variedades utilizadas pudimos darnos cuenta que presentan diferencias significativas entre ellas, siendo un 5.5 % el valor de semillas muertas de la variedad con menor uso DP1133B2RF, mientras que las demás variedades presentan unos valores que van de 5.1 % hasta 13.5.

Finalmente, la comparación de la variedad de mayor demanda en el mercado DP0935B2RF y la de menor demanda DP1133B2RF, no presentó diferencias significativas entre ambas ya que cuentan con valores muy semejantes entre ellas 4.6% y 5.5 %.

4.5. Porcentaje De Semilla Duras

El análisis de varianza indicó diferencias altamente significativas para Tratamientos, Métodos y la interacción entre métodos por variedad, mientras que para Variedades solo señalo diferencia significativa.

Al realizar los contrastes realizados encontramos que para los métodos de germinación no hubo diferencias significativas, señalando que los porcentajes más altos de semillas dura los alcanzo la prueba frio con un 22.0 % y la prueba estándar con un 4.9 %, mientras que la prueba de envejecimiento acelerados solo alcanzo 1.2 % de semillas duras.

El contraste para las variedades mostro que no hay diferencias significativas entre ellas, sin embargo la comparación de DP0935B2RF correspondiente a la variedad con mayor uso comercial tubo un 6.8 %, y las variedades restantes obtuvieron valores que variaron desde 2.4 % hasta 9.4%.

Respecto a la comparación de la variedad más reciente en el mercado y con menor uso comercial DP1133B2RF indica un valor de 9.4 % de semillas duras mostrando diferencias significativas, mientras que las variedades restantes tienen valores de 2.4 % hasta 6.8 %

Cuadro 4.5. Porcentaje de semillas duras para tres métodos de germinación y cinco variedades transgénicas de algodónero. UAAAN.UL 2013

Método A	DP0912	DP0935	DP1032	DP1034	DP1133	Media
Estándar	7.5	5.0	3.0	5.5	3.5	4.9
Frio	4.0	27.2	9.2	25.2	42.5	21.6
Acelerado	0.7	1.7	0.7	1.7	1.0	1.2
Total	12.2	34.0	13.0	32.5	47	27.7
Media	2.4	6.8	2.6	6.5	9.4	5.5

Finalmente al comparar la variedad de mayor superficie sembrada o uso comercial DP0935B2RF contra la variedad mas reciente y de menor uso comercial DP1133B2RF señalo que no existe diferencia significativa ya presentan valores semejantes, 6.8 % para DP0935B2RF y un 9.4 % para DP1133B2RF.

V. Conclusión

En base a los resultados que se obtuvieron se puede señalar preliminarmente que el método más apropiado para efectuar pruebas de germinación en algodónero es el de Envejecimiento Acelerado ya que presenta valores más altos que el método de Germinación Estándar(Testigo), en lo referente a un mayor número de semillas germinadas y no presenta altos y significativos porcentaje de semillas duras y muertas; mientras que el método Frio no es viable para hacer pruebas de germinación en algodónero ya que es un método diseñado para cereales.

Por otro lado las pruebas mostraron que la variedad con más porcentaje de plantas normales fue la DP0912B2RF reflejando que tiene mayor vigor y mayor capacidad de germinación alcanzando el porcentaje de germinación establecido para semillas comerciales que es de un mínimo de 85 %, mientras que las otras variedades obtuvieron valores de 66.9 % a 75.2 %.

Igualmente en futuros trabajos de esta naturaleza, la semilla valorada para este tipo de tratamientos deberá provenir de lotes de semilla certificada para estar en condiciones de inferir apropiadamente.

VI. Bibliografía

- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Hemisferio Sur. S.A. Pasteur 210-211. Buenos Aires, Argentina. Pp. 46
- Association of Official Seed Analyst. (AOSA). 1983. Seed Vigor Testing. Handbook. Contribution No. 32. 82 pp
- Anderson, J. and J.E. Baker. 1982. Deterioration of Seed During Aging. Plant Physiol. 73: 321-325.
- Boswell, 1961. Seeds. The Yearbook of Agriculture. Edition. Centro Regional de Ayuda Técnica: Agencia para el Desarrollo Internacional (AID).
- Bustamante,G.L.A.1982.Semillas:control y evaluación de su calidad. Memorias del curso de actualización de Tecnología de Semillas. UAAAN-AMSAC. Saltillo, Coahuila, México. pp 23-25
- Bustamante,G.L.A.,O,Pérez.J.yGarcía,S.L. 1993. VII Curso de Actualización en Tecnología de Semillas. Taller Demostrativo de Pruebas de Viabilidad y Vigor en Semillas. UAAAN-CCDTS. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.pp 57,59
- Caldwell, W.P. 1962. Relationship of preharvest environmental factors to seed deterioration in cotton. Ph.D.Disertation. Mississippi State University.pp32-36
- Camacho, M., F. 1994. Dormición de Semillas. Editorial Trillas. México.pp. 9, 13.

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) 1991. Control de calidad en el campo, beneficios y almacenamiento de semillas. Programa continuo de capacitación en semillas. Colombia. 272 p.

Copeland, L. O., and M. B. McDonald. 1985. Principles of Seed Science and Technology. Bed Burgues Publishing Company. Minneapolis, Minnesota, U.S.A. p. 122,126.

Dávila, S. 1990. Aseguramiento de la calidad durante la posrecolección de las semillas. En: Memorias del VI Curso de Actualización en Tecnología de Semillas. UAAAN. pp. 71.

Delouche, J. C. 1982. Physiological Seed Quality. Proceeding Short Course for Seedmen. Seed Technology Laboratory. Mississippi State University. USA. 27: 51-59.

Delouche, J. C., and C. C. Baskin. 1973. Accelerated Aging Techniques for Predicting the Relative Storability. of Seed Lots. Seed Science and Technology. I, 472-452.

Esparza, M. J. H. 1992. Producción de semillas básicas. En: Mendoza O., L. E., Favela CH. E., Cano R. P. (eds). Situación actual de la producción, investigación y comercio de semillas en México. pp. 123- 131. Memorias, SOMEFI. Chapingo México.

FAO, 1985. Procesamiento de semillas de cereales y leguminosas de grano. Directrices técnicas. Italia, Roma. P. 5,7.

Ferguson, J. E. 1990. Desarrollo del suministro de semillas de especies forrajeras tropicales. México. Pp 76

Feistritzer, W.P. 1975. Cereal Seed Technology. A manual of cereal seed production, quality, control and distribution. FAO-United Nations. 87-93

Flores, H. A. 2004. Introducción a la tecnología de semillas. 1era. Edición. Departamento de Dirección General de Difusión Cultural y Servicio de la UACH. UACH, México. P. 61-78.

García, H. A. H. 1980. Efecto del nitrógeno sobre la tecnología y rendimiento del algodón sembrado en tres sistemas de producción. Informe de Investigación Agrícola. Resúmenes del CAELALA-CIAN-INIA-SARH. Región Lagunera. Pp 21

Heydecker, W. 1969. The vigour of seeds- a review. Proc. Int. Seed Test Assoc. 34: 201-219.

International Seed Testing Association (ISTA). 1985. International Rules for Seed Testing. Seed Science. and Technology. 13(2): 299-520. The Netherlands.

International Seed Testing Association (ISTA). 1987. Handbook of Vigour Test Methods. Second edition. Switzerland. 72 p.

International Seed Testing Association (ISTA). 1996. International Rule for Seed Testing. Rules 1996. Seed Science and Technology. Zurich, Switzerland. 274: 1-333.

International Seed Testing Association (ISTA). 1985. International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology, 13(2): 336-520. Zurich Switzerland.

The Netherlands International Seed Testing Association (ISTA). 1993. International Rules for Seed Testing. Rules, Seed Science and Technology. 9:697- 683.

McDonald, M. B. Jr. 1975 A review and evaluation of seed vigor test. Proc. Of Office Seed Analyst. 65:117-122.

McDonald, M.B., Wilson, D. O. 1980.ASA-610 ability to detect changes in soybean seed quality. Journal of Seed Technology, Lincoln, v. 5, n. 1, p. 56-66

Miranda, F. 1984. Vigor y pruebas de vigor de semillas. Conferencias VII. Curso de Posgrado en Tecnología de Semillas. CIAT, Cali, Colombia. 18 p.

Moreno, M. E. 1996. Análisis físicos y biológicos de semillas agrícolas. UNAM. México. 392 p.

Moreno, M. E. 1996. Análisis físicos y biológicos de semillas agrícolas. 3ra. Edición. Instituto de Biología. UNAM. México. P 63,65.

Monsanto Agricultura España. 2002. Seguridad del algodón Bollgard® evento 531, genéticamente protegido contra las orugas de las cápsulas. Cuaderno Técnico N° 4. Madrid. 44 p.

Palomo, G. A., y Godoy A. S. 1992. Producción de semillas de algodón. En : Mendoza O., L. E., Favela, Chávez. E., Cano, R. P. y Esparza, M., J. H. (eds.). Situación Actual de la Producción, Investigación y Comercio de Semillas en México. Memorias SOMEFI. Chapingo, México. Pp. 143-154.

Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Editorial Hemisferio Sur. Uruguay. 279 p.

Perry, D. A. 1980. The concept of seed vigor and its relevance to seed production techniques. In Hebblethwaite (ed). Seed production. Butterworths Publishers. Tomo II. Edit. Agropecuaria Hemisferio sur. Uruguay. Pp. 585-591.

Perry 1987. Introduction, methodology and application of vigor tests. Growth and Evolution Tests. Topographical Tetrazolium Test. P. 72 ISTA. Handbook of Vigor Test Methods. 2nd ed. Zurich, Switzerland.

Sayers, R., L. H. 1983. Pruebas de germinación y vigor. Memorias del Curso de Actualización sobre Tecnología de Semillas. 1982. UAAAN-AMSAC. Pp.129-136. México.

Thomson, J. R. 1979. An introduction to seed technology. Thompson Litho Lts. East Kilbride, Scotland, Great Britain. Pp. 1-15.

Tekrony, D. M. 1995. Accelerated ageing. In: Congress of the International Seed Testing Association, 24., Copenhagen. Seed vigor testing: contributions to a seminar. Zurich: International Seed Testing Association. P. 816-822.

Tomer, R.P.S. and J.D. Maguire. 1990. Seed vigor studies in wheat. Seed Science and Technology. 18:383-399. The Netherlands. Vera I. Colby, Thomas F. Swofford y Robert P. Moore. Pruebas de germinación en el laboratorio.