

Efecto del osmoacondicionamiento sobre la germinación del maíz tipo palomero*

Effect of osmoconditioning on the germination of the maize type popcorn

Rosalía Valle Moysén¹, Jorge Covarrubias Prieto¹, J. Gabriel Ramírez Pimentel¹, César L. Aguirre Mancilla¹, Gabriel Iturriaga de la Fuente¹ y Juan Carlos Raya Pérez^{1§}

¹Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Roque. Carretera Celaya-Juventino Rosas, km 8. CP. 38110. Roque, Celaya, Guanajuato, México. §Autor para correspondencia: juraya@itroque.edu.mx.

Resumen

El osmoacondicionamiento es usado para mejorar la germinación y el comportamiento de plántula en campo. Se usan diferentes sustancias, como ácido giberélico, nitrato de potasio y polietilenglicol (PEG). Los cambios que ocurren en la semilla osmoacondicionada, que le permiten responder mejor durante el proceso de la germinación y el establecimiento de plántula, no se conocen bien. En México contamos con gran diversidad de variedades de maíces que se siembran bajo condiciones de temporal. Los antecedentes muestran que las razas nativas presentan diferencias en las fases de la germinación. En este trabajo se investigó (año 2015) el efecto del osmoacondicionamiento sobre el maíz tipo palomero para dilucidar si tiene un efecto positivo. En la prueba de remojo previo de la semilla (soak test) no se observaron diferencias entre el testigo y los tratamientos de osmoacondicionamiento. El palomero resultó resistente a la inmersión en agua. No hubo efecto de los tratamientos sobre el peso total de plántula, comparados con el testigo; en la variable longitud de plúmula, todos los tratamientos fueron superiores al testigo; para longitud de radícula destacan los tratamientos con PEG a 6 y 12 h en ambos conteos y fueron superiores al testigo. Los tratamientos con KNO₃

Abstract

The osmoconditioning is used to improve germination and seedling behavior in the field. Different substances are used, such as gibberellic acid, potassium nitrate and polyethylene glycol (PEG). The changes that occur in the osmoconditioned seed, which allow it to respond better during the process of germination and seedling establishment, are not well known. In Mexico we have a great diversity of maize varieties that are sown under temporary conditions. The antecedents show that the native races show differences in the germination phases. In this work the effect of osmoconditioning on popcorn maize was investigated (year 2015) to determine if it has a positive effect. In the soak test, no differences were observed between the control and the osmoconditioning treatments. The popcorn was resistant to immersion in water. There was no effect of the treatments on the total weight of the seedling, compared to the control; in the variable length of plumule, all treatments were superior to the control; for radicular length, treatments with PEG at 6 and 12 h in both counts and were superior to the control. The KNO₃ treatments increased the amount of soluble protein whole seed. In the endosperm an increase in the extracted protein was observed. In titratable acidity there were differences between treatments. Some

* Recibido: diciembre de 2016
Aceptado: febrero de 2017

incrementaron la cantidad de proteína soluble de semilla completa. En el endospermo se observó un incremento en la proteína extraída. En acidez titulable hubo diferencias entre tratamientos. Se observaron algunas diferencias en los patrones electroforéticos de las proteínas de la semilla. El osmoacondicionamiento es aconsejable para esta raza por su efecto sobre longitud de plúmula y radícula.

Palabras clave: *Zea mays*, proteína soluble, remojo, vigor.

Introducción

Durante la germinación se activan vías metabólicas y de transducción de señales que conducen a la expansión, división y diferenciación celular (Tnani *et al.*, 2012). Los niveles de azúcares y almidón en la semilla deben estar regulados para asegurar un buen aporte de biomoléculas y energía al embrión y controlar la distribución de agua en los tejidos en expansión. Los micronutrientes que escapan de la semilla durante la imbibición son reabsorbidos y su movilización depende de la tasa de crecimiento de la plántula, solubilidad de los mismos y concentración de estos en la solución que rodea a la semilla (Melo *et al.*, 2009). La presencia de compuestos en la cubierta de la semilla, como los flavonoides, disminuyen la pérdida de solutos, son una barrera contra hongos y tienen efecto antimicrobiano (Angelovici *et al.*, 2010).

El tamaño de semilla puede ser uno de los factores que controla la eficiencia de la germinación. De acuerdo con Limami *et al.* (2002), las líneas de maíz con menor tamaño de semilla tienen mayor eficiencia de germinación; las semillas de mayor tamaño producen plántulas más grandes, capaces de emerger a mayor profundidad de siembra y tienen una tasa mayor de crecimiento de la radícula. La síntesis *de novo* de proteasas e hidrolasas de pared celular es requerida para la protrusión de la radícula (Dogra *et al.*, 2013); otros eventos, como la oxidación de puentes disulfuro de enzimas, ya presentes en la semilla, pueden ser importantes para la regulación metabólica durante la germinación.

Se han detectado modificaciones postraduccionales en las proteínas durante la germinación, como oxidación, desaminación, acetilación e isoformas truncas (Angelovici *et al.*, 2010; Tnani *et al.*, 2012). Un incremento en giberelinas e isopentenil adenina se ha correlacionado con el inicio de la absorción de agua. Después de la imbibición

differences were observed in the electrophoretic patterns of seed proteins. The osmoconditioning is advisable for this breed because of its effect on length of plumule and radicle.

Keywords: *Zea mays*, soak, soluble protein, vigor.

Introduction

During germination and metabolic signal transduction leading to the expansion, cell division and differentiation pathways are activated (Tnani *et al.*, 2012). The levels of sugars and starch in the seed should be regulated to ensure a good contribution of biomolecules and energy to the embryo and control the distribution of water in the expanding tissues. The micronutrients escaping from the seed during the imbibition are reabsorbed and mobilization depends on the growth rate of the seedling, solubility thereof and concentration of these in the solution surrounding the seed (Melo *et al.*, 2009). The presence of compounds in the seed coat, such as flavonoids, decrease the loss of solutes, are a barrier against fungi and have antimicrobial effect (Angelovici *et al.*, 2010).

The seed size may be one of the factors controlling the efficiency of germination. According to Limami *et al.* (2002), maize lines with smaller seed size have higher germination efficiency; larger seeds produce larger seedlings capable of emerging at greater planting depth and have a higher rate of root growth. The *de novo* synthesis of proteases and cell wall hydrolases is required for the radicle protrusion (Dogra *et al.*, 2013); other events, such as oxidation of disulfide bridges of enzymes, already present in the seed, may be important for metabolic regulation during germination.

They were detected post-translational modifications in proteins during germination, such as oxidation, deamination, acetylation and truncated isoforms (Angelovici *et al.*, 2010; Tnani *et al.*, 2012). An increase in gibberellins and isopentenyl adenine has been correlated with the onset of water absorption. After imbibition and perception of gibberellins, many enzymes are activated and degrade starchy endosperm, whose products are absorbed by the scutellum (Preston *et al.*, 2009).

The maize seeds that take longer to germinate tend to produce a greater number of abnormal seedlings. The deterioration causes a delay in seed germination in different processes,

y la percepción de giberelinas, muchas enzimas se activan y degradan el endospermo almidonoso, cuyos productos son absorbidos por el escutelo (Preston *et al.*, 2009).

Las semillas de maíz que tardan más en germinar tienden a producir un mayor número de plántulas anormales. El deterioro de la semilla provoca un retraso en la germinación en diferentes procesos, desde la imbibición y primeros signos de germinación, hasta el estadio de la cuarta hoja (Khajeh-Hosseini *et al.*, 2009). En la fase de desecación de la semilla se acumulan azúcares como sacarosa, rafinosa, galactinol, trehalosa, intermediarios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, algunos aminoácidos y ácidos grasos libres (Angelovici *et al.*, 2010). En las células existen moléculas como azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, que incluyen al ácido málico, cítrico y succínico.

Las concentraciones en que se les encuentra no permiten considerarlos sólo como intermediarios de las vías metabólicas. La propuesta es que forman un medio distinto al acuoso y al lipídico, que son los dos medios considerados en la célula (Choi *et al.*, 2011). Los ácidos orgánicos son metabolizados mediante el ciclo de Krebs (respiración), gluconeogénesis, fermentación a etanol, síntesis/interconversión de aminoácidos y como sustrato para la producción de metabolitos secundarios, tales como pigmentos (Famiani *et al.*, 2015). Se ha reportado que el tratamiento con microondas mejora la germinación, aumenta la tasa de imbibición y se promueve la redistribución del agua de las células de las semillas (Anand *et al.*, 2008).

En esta investigación se evaluó el efecto del osmoacondicionamiento sobre la germinación, vigor, proteínas de reserva, patrones electroforéticos y acidez titulable de la semilla de un maíz tipo palomero, dado que se ha recomendado este tratamiento para semillas que se sembrarán bajo condiciones de estrés como bajas temperaturas, escasez o exceso de agua (Finch-Savage *et al.*, 2004).

Materiales y métodos

El material genético que se utilizó en esta investigación fue un maíz tipo Palomero, que se adquirió en el mercado local. Se ensayaron cuatro tratamientos, polietilenglicol 8 000 al 30% (P/V) (Tiryaki y Buyukcingil, 2009) y de nitrato de potasio al 3% (P/V) más de ácido giberélico

from the first signs of imbibition and germination until the fourth leaf stage (Khajeh-Hosseini *et al.*, 2009). In the phase of seed desiccation sugars they accumulate such as sucrose, raffinose, galactinol, trehalose, cycle intermediates tricarboxylic acids, some amino acids and free fatty acids (Angelovici *et al.*, 2010). In cells there are molecules such as sugars, amino acids, organic acids, which include malic, citric and succinic acid.

The concentrations in which they are found do not allow them to be considered only as intermediates of the metabolic pathways. The proposal is to form a medium other than aqueous and lipid, which are considered the two media in the cell (Choi *et al.*, 2011). The organic acids are metabolized by the Krebs cycle (breathing), gluconeogenesis, ethanol fermentation, synthesis/interconversion of aminoacids and as a substrate for the production of secondary metabolites, such as pigments (Famiani *et al.*, 2015). It has been reported that the microwave treatment enhances germination imbibition rate increases and water redistribution of seed cells is promoted (Anand *et al.*, 2008).

In this research was evaluated the effect of osmoconditioning on germination, vigor, reserve proteins, electrophoretic patterns and titratable acidity of the seed of a popcorn maize, since this treatment has been recommended for seeds that will be planted under stress conditions low temperatures, shortage or excess water (Finch-Savage *et al.*, 2004).

Materials and methods

The genetic material that was used in this research was a popcorn type maize, which was acquired in the local market. The four treatments were tested, polyethylene glycol 8 000 at 30% (P/V) (Tiryaki and Buyukcingil, 2009) and potassium nitrate at 3% (P/V) over gibberellic acid (RaliGeb^{MR}) at 0.01% (P/V); both solutions were used during imbibition of the seed at 6 and 12 hours. The initial weight of each sample was recorded and 25 ml of the corresponding solution was added. Four replicates of 25 seeds each were made. After the treatment, the seeds were placed in paper towels to drain them and the final weight was recorded, this to calculate imbibition rate. The seeds were placed in Petri dishes and dried for seven days at room temperature.

(RaliGeb^{MR}) al 0.01% (P/V); ambas soluciones se usaron durante la imbibición de la semilla a 6 y 12 horas. Se registró el peso inicial de cada muestra y se agregaron 25 ml de la solución correspondiente. Se realizaron 4 repeticiones de 25 semillas cada una. Después del tratamiento, las semillas se colocaron en toallas de papel para escurrirlas y se registró el peso final, esto para calcular tasa de imbibición. Se colocaron las semillas en cajas Petri y se sometieron a secado durante siete días a temperatura ambiente.

Se registró el peso al final del periodo de secado. Para la prueba de germinación se usó Captán al 1% y se sumergieron las semillas durante 5 min (ISTA, 2005). Como testigo se usó semilla no osmoacondicionada. Prueba de remojo (Soak test): se colocaron 25 semillas en un recipiente de plástico de 250 mL con agua a temperatura de 25 °C durante 24 h. Estas ya habían sido sometidas al osmoacondicionamiento, excepto en el caso de las semillas testigo. Se sumergieron en Captán al 1% durante 5 min y se hicieron cuatro repeticiones de 25 semillas para la prueba de germinación. Se tomaron cuatro plántulas por repetición y tratamiento y se midió la longitud de plúmula y radícula, así como el peso de cada una al cuarto y séptimo día. La prueba de vigor (longitud media de plúmula y radícula), se llevó a cabo conforme al método descrito por Moreno (1984).

Se realizó en la cámara de germinación a 25 °C con 4 repeticiones con 25 semillas por tratamiento. Se tomaron 10 plántulas por repetición para peso fresco; se secaron en estufa a 80 °C durante 48 h para determinar peso seco. Extracción de proteína. Se molieron finamente 10 semillas por tratamiento y se tomaron 0.25 g de harina a la que se le agregó 1.5 ml de amortiguador de extracción pH 7.5 que contenía 250 mM de cloruro de sodio, fosfato de potasio 50 mM y 0.03% de ditiotreitol. Se mezclaron e incubaron en baño María a 80 °C durante un min, se enfriaron y refrigeraron a 5 °C durante 24 h. Se centrifugó a 13 000 x g en la microfuga (Eppendorf^{MR}) durante 15 min, se tomó el sobrenadante y se agregó glicerol para obtener una concentración de 10% y se congelaron a -20 °C hasta su uso. La cuantificación de proteína se llevó a cabo con un equipo Nanodrop Modelo 2000 C mediante el método de Bradford (1976). Para acidez titulable se tomaron 2 g de muestra de harina y se añadió una relación 1:4 harina/agua destilada; se tituló con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N (Karal®).

The weight was recorded at the end of the drying period. For the germination test, Captan at 1% was used and the seeds were immersed for 5 min (ISTA, 2005). As a control, non-osmoconditioned seed was used. Soak test: 25 seeds were placed in a 250 mL plastic vessel with water at 25 °C for 24 h. These had already been subjected to osmoconditioning, except in the case of control seeds. They were immersed in Captan at 1% for 5 min and four replicates of 25 seeds were made for the germination test. Four seedlings were taken per repetition and treatment and the length of plumule and radicle was measured, as well as the weight of each one to the fourth and seventh day. The vigor test (average length of plumule and radicle) was carried out according to the method described by Moreno (1984).

It was carried out in the germination chamber at 25 °C with 4 replicates with 25 seeds per treatment. Ten seedlings were taken per repetition for fresh weight; were oven dried at 80 °C for 48 h to determine dry weight. Extraction of protein. Ten seeds were finely milled per treatment and 0.25 g flour was taken to which 1.5 ml of extraction buffer pH 7.5 containing 250 mM sodium chloride, 50 mM potassium phosphate and 0.03% dithiothreitol were added. They were mixed and incubated in a water bath at 80 °C for one min, cooled and refrigerated at 5 °C for 24 h. It was centrifuged at 13 000 x g at microfuge (Eppendorf^{MR}) for 15 min, the supernatant was taken and glycerol was added to obtain a concentration of 10% and frozen at -20 °C until use. The protein quantification was carried out with a Nanodrop Model 2000 C equipment by the method of Bradford (1976). For titratable acidity, 2 g of flour sample was taken and a ratio of 1:4 flour/distilled water was added; was titrated with sodium hydroxide solution 0.1 N (Karal®).

The acidity in the sample, expressed as malic acid, is calculated with the following formula: acidity g/L (malic acid) = (V*N*67)/M, where: V= volume of sodium hydroxide solution 0.1 N spent on titration of the sample, in mL. N= normality of the sodium hydroxide solution. M= volume of the sample, in mL. 67= malic acid equivalent. The electrophoretic patterns were obtained in triplicate using the method of Schagger and von Jagow (1987). The evaluation of the standard germination, vigor (plumule length), soak test and titratable acidity tests were done by a completely randomized design with four replicates; the Anovas and the comparison of means were performed using the SAS 9.0 program.

La acidez en la muestra, expresada como ácido málico, se calcula con la siguiente fórmula: acidez g L⁻¹ (ácido málico) = (V*N*67)/M, en donde: V= volumen de solución de hidróxido de sodio 0.1 N gastado en la titulación de la muestra, en mL. N= normalidad de la solución de hidróxido de sodio. M= volumen de la muestra, en mL. 67= equivalente del ácido málico. Los patrones electroforéticos se obtuvieron por triplicado usando el método de Schagger y von Jagow (1987). La evaluación de las pruebas de germinación estándar, vigor (longitud de plúmula), remojo (soak test) y acidez titulable se hicieron mediante un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones; los Anovas y la comparación de medias se realizaron mediante el programa SAS 9.0.

Resultados y discusión

Prueba de germinación. En el Cuadro 1 se muestra el análisis de varianza para la variable germinación, donde se observó que hubo diferencias altamente significativas entre tratamientos para plántulas normales del primer conteo, la cual define la velocidad de emergencia. En el segundo conteo, el porcentaje de plántulas anormales, semillas duras y tasa de imbibición también mostraron diferencias altamente significativas entre tratamientos; al menos un tratamiento produce efectos diferentes. Los coeficientes de variación son aceptables debido a la variación que expresan estos caracteres entre el primero y segundo conteos.

Cuadro 1. Cuadrados medios, grados de libertad y coeficiente de variación del ANOVA para la prueba de germinación en maíz tipo palomero. Roque, Guanajuato.

Table 1. Mean squares, degrees of freedom and coefficient of variation of ANOVA for the germination test in popcorn maize. Roque, Guanajuato.

FV	GL	Primer conteo		Segundo conteo				
		NOR	MUER	NOR	ANOR	MUER	DRS	TI
Trat	4	1658**	13.2 ns	17.2 ns	137.2**	78.8 ns	608.8**	0.414**
Error	15	76	10.13	15.46	6.66	28.26	42.66	0.0027
CV		13.4	14.6	13.3	5.97	10.61	6.66	9.78

* ** = indica significancia estadística al nivel 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= indica no significativo; Trat= tratamiento; NOR= semillas normales; MUER=semillas muertas; ANOR= semillas anormales; DRS= semillas duras y TI= tasa de imbibición.

En la comparación de medias (Cuadro 2), el testigo y el tratamiento con nitrato 12 h fueron estadísticamente iguales en el porcentaje de germinación, pero en los otros tratamientos el porcentaje de germinación bajó y la diferencia resultó estadísticamente significativa. La absorción de agua fue mayor en el tratamiento con nitrato a

Results and discussion

Germination test. In the Table 1 shows the analysis of variance for the variable germination, where it was observed that there were highly significant differences between treatments for normal seedlings of the first count, which defines the emergency rate. In the second count, the percentage of abnormal seedlings, hard seeds and imbibition rate also showed highly significant differences between treatments; at least one treatment produces different effects. The coefficients of variation are acceptable because of the variation expressed by these characters between the first and second counts.

In the comparison of means (Table 2), the control and treatment with nitrate 12 h were statistically the same in the percentage of germination, but in the other treatments the percentage of germination fell and the difference was statistically significant. The water uptake was higher in nitrate treatment at 6 h and was statistically different from the other treatments. The PEG treatments 6 and 12 h treatment with KNO₃ + AG₃₋₆ h of imbibition were statistically equal and are below 84% germination of the control sample. The value of KNO₃+AG₃ at 12 h of imbibition was statistically equal to the control; among pretreatments, irradiation with microwaves with a low energy dose improves germination; high doses damage the seed (Anand *et al.*, 2008).

Most results show a positive effect of osmoconditioning, promoting faster and synchronized germination (Moosavi *et al.*, 2009), which is also observed in other results with other genetic material of native maize (results not shown). Méndez *et al.* (2008) also obtained very low percentages of germination in maize seed pretreated with PEG 4000.

6 h y fue estadísticamente diferente a los otros tratamientos. Los tratamientos PEG a 6 y 12 h y el tratamiento con KNO_3+AG_3 a 6 h de imbibición fueron estadísticamente iguales y se encuentran por debajo de 84% de germinación de la muestra testigo. El valor de KNO_3+AG a 12 h de imbibición fue estadísticamente igual al testigo; entre los pretratamientos, la irradiación con microondas con una dosis de energía baja mejora la germinación; dosis altas dañan la semilla (Anand *et al.*, 2008).

La mayoría de los resultados señalan un efecto positivo del osmoacondicionamiento, promoviendo una germinación más rápida y sincronizada (Moosavi *et al.*, 2009), algo también observado en otros resultados con otros materiales genéticos de maíces nativos. Méndez *et al.* (2008) también obtuvieron porcentajes muy bajos de germinación en semilla de maíz pretratada con PEG 4000.

El tratamiento con PEG a 6 h de imbibición, en el primer conteo, generó mayor porcentaje de plántulas anormales (15%) que es muy similar al PEG a 12 h (12%); estos tratamientos son los que dieron el mayor porcentaje de plántulas anormales. El tratamiento con KNO_3+AG_3 a 12 h (1%) fue similar al testigo (4%). Ningún tratamiento fue superior al testigo para las variables semillas muertas y semillas duras. Los tratamientos de osmoacondicionamiento tuvieron una mayor tasa de imbibición respecto al testigo, lo cual no se vio reflejado en el porcentaje de germinación estos resultados concuerdan con Méndez *et al.* (2008) quienes no encontraron relación entre la tasa de imbibición y los porcentajes de germinación. El Palomero es considerado una raza antigua, por lo que podría necesitar un tratamiento más profundo o prolongado para germinar, como las semillas en la naturaleza (Preston *et al.*, 2009); no obstante, se puede recomendar el tratamiento con KNO_3+AG_3 12 h antes de la siembra, para mejorar su comportamiento.

Prueba de remojo

El análisis de varianza para esta variable se muestra en el Cuadro 3, hubo diferencias significativas en el porcentaje de semillas muertas. Se observó diferencias altamente significativas en la tasa de imbibición (TI1) en el segundo conteo; al menos un tratamiento fue diferente. Los coeficientes de variación fueron buenos, lo cual nos indica que el experimento fue bien conducido.

The treatment with PEG at 6 h of imbibition, at the first count, generated a higher percentage of abnormal seedlings (15%), which is very similar to PEG at 12 h (12%); these treatments are the ones that gave the highest percentage of abnormal seedlings. Treatment with KNO_3+AG_3 to 12 h (1%) was similar to the control (4%). No treatment was superior to the control for the variables dead seeds and hard seeds. The osmoconditioning treatments had a higher rate of imbibition relative to the control, which was not reflected in the percentage of germination these results are consistent with Méndez *et al.* (2008) who did not find a relation between the rate of imbibition and the percentages of germination. The popcorn is considered an ancient race, so you may need a deeper or prolonged treatment to germinate, like seeds in nature (Preston *et al.*, 2009); however, it can recommend treatment with KNO_3+AG_3 12 h before planting, to improve their behavior.

Cuadro 2. Comparación de medias mediante la prueba DMS ($p<0.05$) para la variable germinación en maíz tipo palomero. Roque, Guanajuato.

Table 2. Comparison of means by DMS test ($p<0.05$) for germination variable in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

Tratamiento	NOR	ANOR	DRS	TI
Testigo	84 a	4 c	3 b	0 d
PEG 6	47 b	15 a	30 a	0.57 c
PEG 12	46 b	12 ab	23 a	0.69 b
KNO_3+AG_3 6 h	59 b	11 b	25 a	0.85 a
KNO_3+AG_3 12 h	89 a	1 c	5 b	0.57 c
DMS	13.13	3.89	9.84	0.07

Medias con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales, con base en la comparación de medias con DMS ($p<0.05$). NOR= semillas normales; MUER= semillas muertas; ANOR= semillas anormales; DRS= semillas duras y TI= tasa de imbibición.

Soak test

The analysis of variance for this variable is shown in Table 3, there were significant differences in the percentage of dead seeds. Highly significant differences were observed in the imbibition rate (TI1) in the second count; at least one treatment was different. The coefficients of variation were good, which indicates that the experiment was well conducted.

Cuadro 3. Cuadrados medios, grados de libertad y coeficiente de variación del Anava para prueba de remojo en maíz tipo palomero. Roque, Guanajuato.

Table 3. Average squares, degrees of freedom and coefficient of variation of Anava for soak test in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

FV	GL	Primer conteo		Segundo conteo					
		NOR	MUER	NOR	ANOR	MUER	DRS	TI1	TI2
Trat	4	190.8 ns	6.80*	80.8 ns	38.8 ns	13.2 ns	189.2 ns	0.555**	0.005 ns
Error	15	97.6	1.6	71.2	45.33	24.8	101.6	0.003	0.002
CV		4.99	13.07	8.2	9.05	8.7	7.7	9.76	3.79

*, **= indica significancia estadística al nivel 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente; ns= indica no significativo; Trat= tratamiento; NOR= semillas normales; MUER=semillas muertas; ANOR= semillas anormales; DRS= semillas duras y TI= tasa de imbibición.

En la comparación de medias (Cuadro 4), todos los tratamientos excepto PEG 6 h, dieron menor porcentaje de semillas muertas, respecto al testigo, lo cual es positivo. En la tasa de imbibición, todos los tratamientos de osmoacondicionamiento tuvieron mayor tasa de imbibición respecto al testigo, sin que se viera reflejado en el porcentaje de germinación, resultado que concuerda con Méndez *et al.* (2008). Es posible que en condiciones de campo la mayor tasa de imbibición pudiera significar una ventaja para las semillas pues el endospermo toma más tiempo para hidratarse que el embrión (Finch-Savage *et al.*, 2004).

El análisis de varianza para las variables longitud de radícula y plúmula (Cuadro 5) mostró diferencias significativas en todos sus componentes; hubo diferencias altamente significativas para longitud de plúmula en primer y segundo conteo y longitud de raíz en el segundo conteo; fue significativa para longitud de raíz en el primer conteo y para peso total de plántula en el primer y segundo conteo. El efecto del osmoacondicionamiento para estas variables se manifestó desde el primer conteo. Esto concuerda con lo encontrado por Zhang *et al.*, (2015) respecto a que el osmoacondicionamiento incrementa el índice de germinación y el de vigor.

En general no hubo efecto de los tratamientos sobre el peso total de plántula, comparados con el testigo (Cuadro 6), en cuanto a la variable longitud de plúmula, todos los tratamientos fueron superiores al testigo; para longitud de radícula destacan los tratamientos con PEG a 6 y 12 h en ambos conteos y fueron superiores al testigo. Los tratamientos con PEG son los que dieron mejor resultado para longitud de plúmula y de radícula (Cuadro 6). En México se tiene la costumbre de sembrar maíz a gran profundidad, para asegurar la emergencia en suelo bien húmedo, esta práctica podría verse favorecida por el osmoacondicionamiento.

In the comparison of means (Table 4), all treatments except PEG 6 h, gave a lower percentage of dead seeds, compared to the control, which is positive. Imbibition rate, all treatments had higher osmoconditioning imbibition rate compared to the control without it would be reflected in the percentage of germination, a result consistent with Méndez *et al.* (2008). It is possible that under field conditions the highest rate of imbibition could mean an advantage for seeds as the endosperm takes longer to rehydrate the embryo (Finch-Savage *et al.*, 2004).

Cuadro 4. Comparación de medias de la prueba de remojo en maíz tipo palomero. Roque, Guanajuato.

Table 4. Comparison of means of the soak test in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

Ttratamiento	MUER (%)	TI (g)
Testigo	3 a	0 d
PEG 6	1 a	0.625 c
PEG 12	0 b	0.706 c
KNO ₃ +AG ₃ 6 h	0 b	0.846 b
KNO ₃ +AG ₃ 12 h	0 b	0.955 a
DMS	0	0.92

Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con base en la comparación de medias con DMS= 0.05; MUER= semillas muertas (primer conteo); TI= tasa de imbibición (segundo conteo).

The analysis of variance for the variables length of radicle and plumule (Table 5) showed significant differences in all its components; there were highly significant differences for length of plumule in first and second counting and root length in the second count; was significant for root length at the first count and for total seedling weight at the first and second counts. The effect of osmoconditioning for these variables was manifested from the first count.

En el Cuadro 7 se muestra el ANOVA para contenido de proteína en la semilla y sus componentes. Hubo significancia estadística entre tratamientos para las tres características.

This is consistent with the findings of Zhang *et al.* (2015) regarding the osmoconditioning increases the rate of germination and vigor.

Cuadro 5. Cuadrados medios, grados de libertad y coeficiente de variación del ANOVA para longitud de radícula y plúmula del primer y segundo conteo de la prueba de remojo en maíz tipo palomero. Roque, Guanajuato.

Table 5. Average squares, degrees of freedom and coefficient of variation of ANOVA for radicle length and plumule of the first and second soak test counts in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

FV	GL	Primer conteo			Segundo conteo		
		LP	LR	PT	LP	LR	PT
Tratamiento	4	29.75**	12.58*	0.003*	43.78**	38.008**	0.01*
Error	15	1.44	3.6	0.001	4.94	5.16	0.003
CV		10.87	15.48	6.67	11.27	14.26	8.37

*; **= indica significancia estadística al nivel 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente; LP= longitud de plúmula; LR= longitud de radícula y PT= peso total de la plántula.

Cuadro 6. Comparación de medias mediante la prueba DMS ($p<0.05$) para la variable longitud de plúmula en tratamiento de remojo primer y segundo conteo en maíz palomero. Roque, Guanajuato.

Table 6. Comparison of means by DMS test ($p<0.05$) for variable length plumule soaking treatment first and second count in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

Tratamiento	Primer conteo (4 ^{to} día)			Segundo conteo (7 ^{mo} día)		
	LP (cm)	LR (cm)	PT (g)	LP (cm)	LR (cm)	PT (g)
Testigo	6.7 c	10.8 bc	0.505 ab	14.5 c	13.4 b	0.74 a
PEG 6	10.8 b	13.4 ab	0.547 a	20.8 ab	18.8 a	0.76 a
PEG 12	11.8 b	14.5 a	0.543 a	20.9 ab	19.5 a	0.74 a
KNO ₃ +AG ₃ 6 h	12 b	10.4 c	0.478 b	18.8 b	12.9 b	0.63 b
KNO ₃ +AG ₃ 12 h	14.2 a	12 abc	0.545 a	23.4 a	14.7 b	0.74 a
DMS	1.81	2.86	0.052	3.35	3.42	0.09

Medias de tratamiento con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales, con base en la comparación de medias con DMS ($p<0.05$); TRAT= tratamientos; LP= longitud de plúmula; LR= longitud de radícula y PT= peso total de la plántula.

Los coeficientes de variación fueron buenos. Los tratamientos con KNO₃ fueron superiores al testigo y a los otros tratamientos esto podría deberse a la mayor disponibilidad de proteína soluble para el embrión cuando se inicia el proceso de germinación; dado que el PEG tiene un efecto sobre la disponibilidad de agua, hay menor cantidad disponible para la semilla por el efecto osmótico (Moosavi *et al.*, 2009), lo que explicaría que en estos tratamientos no se incremente la proteína extraída (Cuadro 8), en endospermo los tratamientos en general fueron superiores al testigo, dado que la proteína de esta estructura es la primera en ser movilizada, explicaría en parte, el efecto positivo del osmoacondicionamiento. En embrión se observa una disminución en el contenido de proteína en los tratamientos a 12 h, lo cual se podría deber

In general, there was no effect of the treatments on the total weight of the seedling, compared to the control (Table 6), in relation to the seedling length variable, all treatments were superior to the control; for radicular length, treatments with PEG at 6 and 12 h in both counts and were superior to the control. The treatments with PEG are those that gave the best result for length of plumule and radicle (Table 6). In Mexico it is customary to sow maize at great depth, to ensure the emergence in well-moist soil, this practice could be favored by the osmoconditioning.

In the Table 7 shows the anava for protein content in the seed and its components. There was statistical significance between treatments for the three characteristics. The

a la utilización de estas para la generación de aminoácidos y síntesis de nuevas proteínas. Zhang *et al.* (2015) hallaron un incremento en proteínas solubles y aminoácidos libres en semillas osmoacondicionadas; también hallaron que se activan genes relacionados con la degradación de péptidos y proteínas. Determinaciones llevadas a cabo por Narváez-González *et al.* (2006) muestran que el contenido de proteína total entre variedades nativas es muy semejante (8.8-9.5% en el caso del palomero).

Cuadro 7. Cuadrados medios, grados de libertad y coeficiente de variación del ANOVA para contenido proteico por el método de Bradford en maíz tipo palomero. Roque, Guanajuato.

Table 7. Average squares, degrees of freedom and coefficient of variation of ANOVA for protein content by the Bradford method in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

	FV	GL	Semilla completa	Embrión	Endospermo
Tratamiento	4	1.85*	3.31**	2.14**	
Error	15	0.621	0.31	0.22	
CV		9.81	4.89	7.83	

*; **= significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; ns= no significativo.

Hubo diferencias entre tratamientos para acidez titulable en el embrión y el endospermo solamente (Cuadro 9), los tratamientos de osmoacondicionamiento redujeron la acidez titulable en el embrión, respecto al testigo, lo cual indica un cambio en el conjunto de moléculas de bajo peso molecular. Ya que es el embrión la parte viva de la semilla y el que dirige los cambios que se dan en toda ella al momento del inicio de la germinación, estos cambios se operarían primero en el propio embrión (Cuadro 10). Se han documentado diferencias en la distribución del agua dentro de la semilla, lo cual tendría efecto sobre las actividades metabólicas (Anand *et al.*, 2008).

Por encima del marcador de masa molecular de 66.2 kDa se señala una banda (flecha carril 4 Figura 1) que aparece en los tratamientos pero no en el testigo. Por debajo de este marcador (66.2) se señala una banda (flecha carril 4) y otra en el carril 5 que no se aprecian en el testigo. En el carril 3 por encima del marcador de 31 kDa una banda, señalada con flecha en el carril 5 no se aprecia. En el carril 4 se nota una banda en el fondo del gel, que no aparece en

coefficients of variation were good. The treatments with KNO_3 were higher than the control and other treatments this could be due to the increased availability of soluble protein to the embryo when the germination process starts; since the PEG has an effect on the availability of water, there are fewer available to the seed by the osmotic effect (Moosavi *et al.*, 2009), explaining that these treatments the extracted protein does not increase (Table 8), in the endosperm the treatments in general were superior to the control, since the protein of this structure is the first to be mobilized, it would explain in part, the positive effect of the osmoconditioning. In embryo, a decrease in the protein content is observed in the treatments at 12 h, which could be due to the use of these for the generation of amino acids and synthesis of new proteins. Zhang *et al.* (2015) found an increase in soluble proteins and free amino acids in osmoconditioned seeds; also found that genes related to the degradation of peptides and proteins are activated. Determinations performed by Narváez-González *et al.* (2006) show that the total protein content among native varieties is very similar (8.8-9.5% in the case of the popcorn).

Cuadro 8. Comparación de medias mediante la prueba DMS ($p < 0.05$) para contenido de proteína mediante el método de Bradford en maíz tipo Palomero. Roque, Guanajuato.

Table 8. Comparison of means by DMS test ($p < 0.05$) for protein content by the method of Bradford in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

Tratamiento	Semilla completa (%)	Embrión (%)	Endospermo (%)
Testigo	4.44 b	7.16 a	3.17 b
PEG 6 h	4.65 b	7.41 a	3.84 a
PEG 12 h	4.51 b	6.12 b	4.13 a
$\text{KNO}_3 + \text{AG}_3$ 6 h	5.08 ab	7.29 a	3.15 b
$\text{KNO}_3 + \text{AG}_3$ 12 h	5.4 a	6.59 b	3.82 a
DMS	1.188	0.851	0.713

Medias de tratamiento con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales con base en la comparación de medias con DMS ($p < 0.05$).

There were differences between treatments for titratable acidity in the embryo and the endosperm only (Table 9), the osmoconditioning treatments reduced the titratable acidity in the embryo, compared to the control, indicating a change in the set of low molecular weight molecules. Since the embryo is the living part of the seed and the one that directs the changes that occur throughout it at the beginning of germination, these changes would first be performed in

los demás carriles (Figura 1). Los tratamientos provocaron alteraciones no muy notorias en los patrones electroforéticos de la semilla.

Cuadro 9. Cuadrados medios, grados de libertad y coeficiente de variación del ANOVA para acidez titulable en maíz tipo palomero. Roque, Guanajuato.

Table 9. Average squares, degrees of freedom and coefficient of variation of ANOVA for titratable acidity in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

	FV	GL	Semilla completa	Embrión	Endospermo
Tratamiento	4	0.115 ns	0.248**	0.0016**	
Error	15	0.067	0.037	0.0022	
CV		8.7	5.24	10.12	

* , **= significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad; ns = no significativo.

Cuadro 10. Comparación de medias mediante la prueba DMS ($p < 0.05$) para acidez titulable en maíz tipo palomero. Roque, Guanajuato.

Table 10 . Comparison of means by DMS test ($p < 0.05$) for titratable acidity in maize type popcorn. Roque, Guanajuato.

Material	Embrión (g kg^{-1})	Endospermo (g kg^{-1})
Testigo	1.214 a	0.151 a
PEG 6 h	0.69 bc	0.114 b
PEG 12 h	0.565 c	0.156 a
$\text{KNO}_3 + \text{AG}_3$ 6 h	0.92 b	0.167 a
$\text{KNO}_3 + \text{AG}_3$ 12 h	0.921 b	0.156 a
DMS	0.292	0.022

Medias de tratamiento con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales, con base en la comparación de medias con DMS ($p < 0.05$)

En la Figura 2 entre el marcador de 97.4 y 66.2 kDa carril 4 se señala con flecha una banda presente en los tratamientos pero no en el testigo. Por debajo de este marcador, 66.2 kDa, se señala una banda que no está en el testigo pero si en los tratamientos de osmoacondicionamiento. En semillas de *Brassica napus* en la fase de secado, luego del tratamiento de osmoacondicionamiento, solo se observó una disminución en la abundancia de la cruciferina (Kubala et al., 2015).

the embryo itself (Table 10). They have been documented differences in the distribution of water within the seed, which would affect the metabolic activities (Anand et al., 2008).

Above the molecular mass marker of 66.2 kDa, a band (arrow rail 4 Figure 1) appears in the treatments but not in the control. Below this marker (66.2) is a band (arrow rail 4) and another in lane 5 that are not seen in the control. In lane 3 above the 31 kDa marker a band, indicated with arrow in the lane 5 is not visible. In lane 4 a band is noted at the bottom of the gel, which does not appear on the other lanes (Figure 1). The treatments caused not very noticeable alterations in the electrophoretic patterns of the seed.

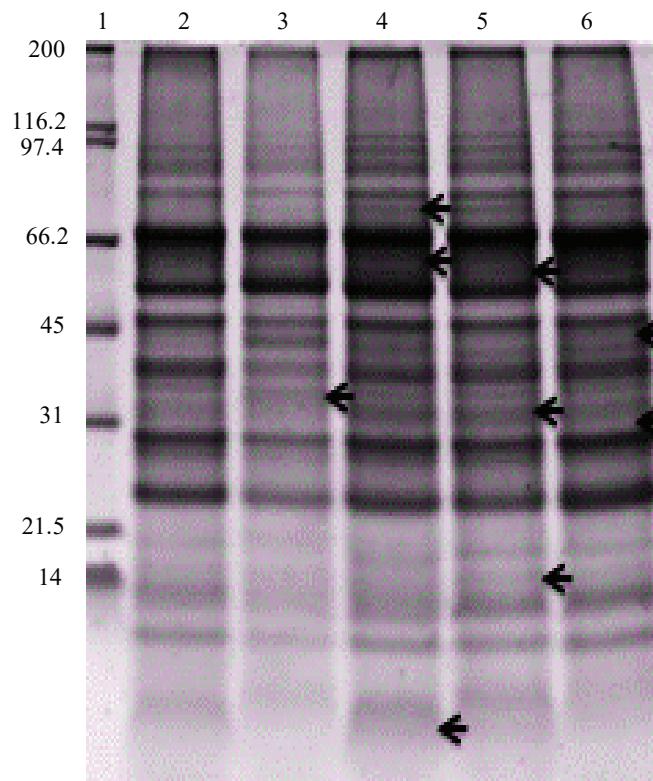


Figura 1. Patrón electroforético de proteínas de maíz tipo palomero en semilla completa. Carril 1, marcadores de peso molecular (MPM); carril 2 testigo; carril 3 PEG 6 h; carril 4 PEG 12 h; carril 5 KNO_3 6 h; carril 6 KNO_3 12 h.

Figure 1. Electrophoretic pattern of protein of maize type popcorn in whole-seeded. Lane 1, molecular weight markers (MPM); lane 2 indicator; lane 3 PEG 6 h; lane 4 PEG 12 h; lane 5 KNO_3 6 h; lane 6 KNO_3 12 h.

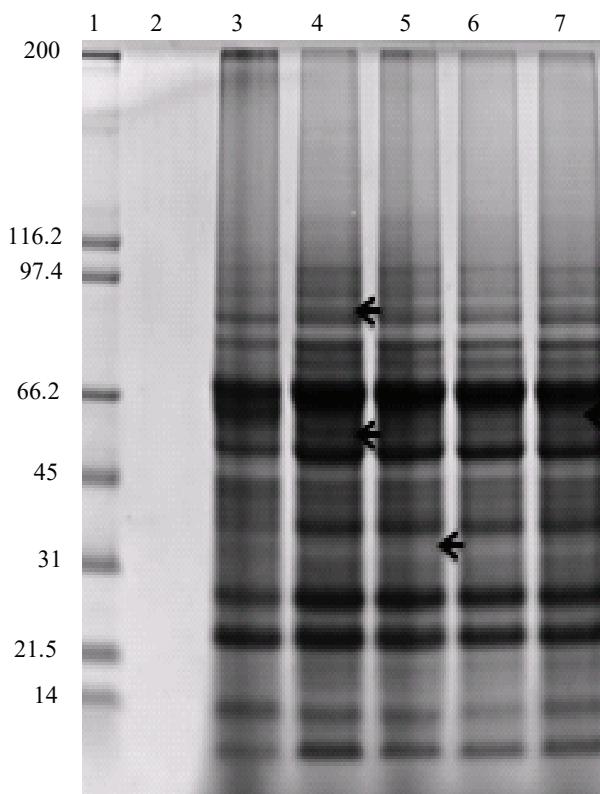


Figura 2. Patrón electroforético de maíz tipo palomero en proteína del embrión. Carril 1, marcadores de peso molecular (MPM); carril 2 vacío; carril 3 testigo; carril 4 PEG 6 h; carril 5 PEG 12 h; carril 6 KNO_3 6 h; carril 7 KNO_3 12 h.

Figure 2. Electrophoretic pattern of maize type popcorn in embryo protein. Lane 1, molecular weight markers (MPM); lane 2 empty; lane 3 control; lane 4 PEG 6 h; lane 5 PEG 12 h; lane 6 KNO_3 6 h; lane 7 KNO_3 12 h.

En la Figura 3 carril 6 se señala una banda casi a la altura del marcador de 66.2 kDa, que se observa en este tratamiento, pero no en los demás, incluido el testigo. En esta misma figura se observa que el frente del carril del testigo se va más abajo con respecto a los tratamientos, esto podría deberse a que las proteínas sufrieron modificaciones o incluso cortes que dan por resultado péptidos o proteínas de menor masa molecular.

Las proteasas halladas en trigo se propone que estarían involucradas en el crecimiento de la radícula y la plántula durante la germinación y proteasas e hidrolasas de pared celular son requeridas para la protrusión de la radícula (Tamura *et al.*, 2007; Dogra *et al.*, 2013).

In Figure 2 between the marker of 97.4 and 66.2 kDa lane 4 an arrow is indicated with a band present in the treatments but not in the control. Below this marker, 66.2 kDa, a band is indicated that is not in the control but in the osmoconditioning treatments. In *Brassica napus* seeds in the drying stage, after treatment of osmoconditioning, only a decrease was observed in abundance cruciferin (Kubala *et al.*, 2015).

In Figure 3, lane 6 indicates a band almost at the height of the marker of 66.2 kDa, which is observed in this treatment, but not in the others, including the control. In this same figure it is observed that the front of the lane of the control goes lower with respect to the treatments, this could be due to that the proteins underwent modifications or even cuts that result in peptides or proteins of smaller molecular mass.

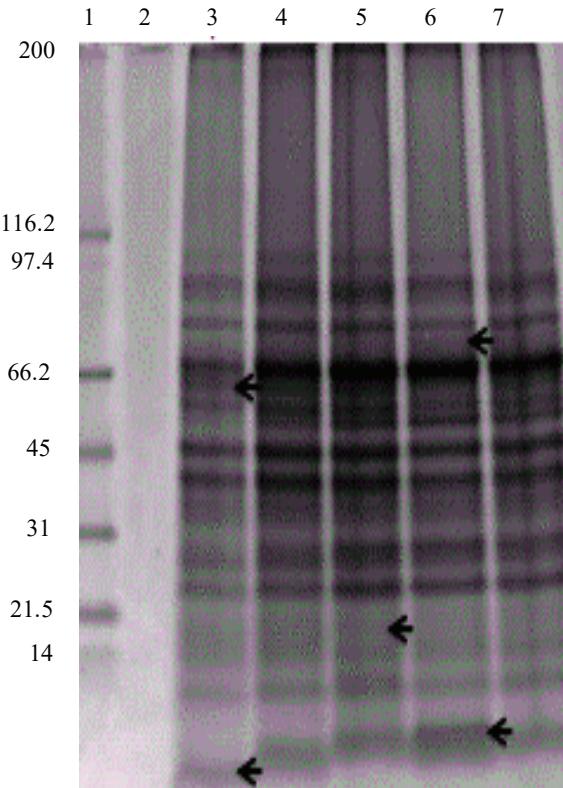


Figura 3. Patrón electroforético de maíz tipo palomero en proteína de endospermo. Carril 1, marcadores de peso molecular (MPM); carril 2 vacío; carril 3 testigo; carril 4 PEG 6 h; carril 5 PEG 12 h; carril 6 KNO_3 6 h; carril 7 KNO_3 12 h.

Figure 3. Electrophoretic pattern of maize type popcorn in endosperm protein. Lane 1, molecular weight markers (MPM); lane 2 empty; lane 3 control; lane 4 PEG 6 h; lane 5 PEG 12 h; lane 6 KNO_3 6 h; lane 7 KNO_3 12 h.

Conclusiones

Sólo el tratamiento KNO_3 12 h no tuvo un efecto negativo sobre la germinación con respecto al testigo en plántulas normales y anormales en el primer conteo. Para el segundo conteo ya no se observaron estas diferencias. Como se mencionó antes, es probable que en campo se puedan apreciar mejor los efectos del osmoacondicionamiento, pues aunque es de valor, la prueba de germinación en laboratorio es limitada.

En la prueba de remojo (soak test) no se observaron diferencias entre el testigo y los tratamientos de osmoacondicionamiento; esto indica que el maíz tipo palomero es resistente a la inmersión en agua (soak test), bajo las condiciones probadas. Cuando se usa el riego rodado para la siembra es común que se inunde el campo y la semilla se someta a hipoxia, esto nos permite señalar que aún bajo esas condiciones el Palomero tendría una buena emergencia.

No hubo efecto de tratamientos de osmoacondicionamiento sobre el peso total de plántula, comparados con el testigo; en la variable longitud de plántula, todos los tratamientos fueron superiores al testigo; para longitud de radícula destacan los tratamientos con PEG a 6 y 12 h en ambos conteos y fueron superiores al testigo. Un mayor alargamiento de la plántula puede permitirle alcanzar la luz y, por lo tanto, la autotrofia; la mayor longitud de raíz le permitiría llegar a la zona húmeda del suelo.

Los tratamientos con KNO_3 incrementaron la cantidad de proteína que se extrae de semilla completa. En el endospermo en general, se observó un incremento en la proteína extraída respecto al testigo.

Hubo diferencias entre tratamientos para acidez titulable en el embrión y el endospermo solamente. Los cambios en el estado de la semilla han sido estudiados; la redistribución del agua y el cambio de fases en la membrana permiten a la semilla germinar y establecerse; el osmoacondicionamiento parece darle ventajas en este sentido.

Se lograron obtener los patrones electroforéticos y se observaron cambios en las semillas osmoacondicionadas respecto al testigo. Otros autores han reportado cambios en las proteínas; es deseable profundizar en esto para tratar de identificarlas y conocer su función, así como si hay una correspondencia entre la cantidad de proteína, su actividad y la cantidad de transcripto.

The proteases found in wheat is proposed that would be involved in the growth of the radicle and the seedling during germination and proteases and hydrolases cell wall are required for the protrusion of the radicle (Tamura *et al.*, 2007; Dogra *et al.*, 2013).

Conclusions

In the KNO_3 12 h treatment only had no negative effect on germination compared to the control in normal and abnormal seedlings in the first count. For the second count, these differences were no longer observed. As mentioned above, it is probable that in the field the effects of osmoconditioning may be better appreciated, because although it is of value, the laboratory germination test is limited.

In the soak test, no differences were observed between the control and the osmoconditioning treatments; this indicates that the popcorn maize is resistant to water immersion (soak test), under the tested conditions. When irrigation is used for sowing it is common to flood the field and the seed is subjected to hypoxia, this allows us to indicate that even under these conditions the popcorn would have a good emergency.

There was no effect of the osmoconditioning treatments on the total weight of the seedling, compared to the control; in the variable length of seedling, all treatments were superior to the control; for radicular length, treatments with PEG at 6 and 12 h in both counts and were superior to the control. The greater elongation of the seedling can enable it to reach light and, therefore, self-infliction; the longer root length would allow it to reach the moist soil.

The KNO_3 treatments increased the amount of protein extracted from whole seed. In the endosperm in general, an increase in the extracted protein was observed with respect to the control.

There were differences between treatments for titratable acidity in the embryo and the endosperm alone. Changes in seed status have been studied; the redistribution of water and the phase change in the membrane allow the seed to germinate and establish itself; the osmoconditioning seems to give advantages in this sense.

The electrophoretic patterns were obtained and changes were observed in the osmoconditioned seeds with respect to the control. Other authors have reported changes in proteins; it

Literatura citada

- Anand, A.; Nagarajan S.; Joshi D. K.; Verma A. P. S. and Kar A. 2008. Microwave seed treatment reduce hardseedness in *Stylosanthes seabraana* and promotes redistribution of cellular waters as studied by NMR relaxation measurements. *Seed Sci. Technol.* 37:88-97.
- Angelovici, R.; Galili, G.; Fernie, A. R. and Fait, A. 2010. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. *Trends Plant Sci.* 15:211-218.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Bio.* 72: 248-252.
- Choi, Y. H.; van Spronsen, J.; Dai, Y.; Verberne, M.; Hollmann, F.; Arends, I. W. C. E.; Witkamp, G. J. and Verpoorte, R. 2011. Are Natural Deep Eutectic Solvents the Missing Link in Understanding Cellular Metabolism and Physiology? *Plant Physiol.* 156:1701-1705.
- Dogra, V.; Singh Ahuja, P. and Sreenivasulu, Y. 2013. Change in protein content during seed germination of a high altitude plant *Podophyllum hexandrum* Royle. *J. Proteomics.* 78:28-38.
- Famiani, F.; Battistelli, A.; Moscatello, S.; Cruz, C. J. G. and Walker, R. P. 2015. The organic acids that are accumulated in the flesh of fruits: occurrence, metabolism and factors affecting their contents - a review. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 21(2):97-128.
- Finch, S. W. E.; Dent, K. C.; Clark, L. J. 2004. Soak conditions and temperature following sowing influence the response of maize (*Zea mays* L.) seeds to on-farm priming (pre-sowing seed soak). *Fields Crops Res.* 90:361-374.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2005. International rules for seed testing. Zurich, Switzerland. 243 p.
- Khajeh, H. M.; Lomholt, A. and Matthews, S. 2009. Mean germination time in the laboratory estimates the relative vigour and field performance of commercial seed lots the maize (*Zea mays* L.). *Seed Sci. Technol.* 37:446-456.
- Kubala, S.; Garnczarska, L.; Wostyla, L.; Clippe A.; Kosmala, A.; Zmienko A.; Lutts, S. and Quinet, M. 2015. Deciphering priming induced improvement of rapeseed (*B. napus* L.) germination through an integrated transcriptomic and proteomic approach. *Plant Sci.* 231:94-113.
- Limami, A. M.; Rouillon, C.; Glevarec, G.; Gallais, A. and Hirel, B. 2002. Genetic and physiological analysis of germination efficiency in maize in relation to nitrogen metabolism reveals the importance of cytosolic glutamine synthetase. *Plant Physiol.* 130:1860-1870.
- Melo, Z. L.; de O., J.F.; de C. Goncalves; Mazzafra, D. and Dossantos, A. C. 2009. Mobilization of seed reserves during germination of four tropical species of the amazon rain forest. *Seed Sci. Technol.* 37: 597-607.
- Méndez, N. J. R.; Merazo, P. J. F. y Montaño, M. N. J. 2008. Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de germinación en semillas de maíz (*Zea mays* L.), caraota (*Phaseoulus vulgaris* L.) y quinchoncho (*Cajanum cajan* (L) Mill.). *Revista UDO.* 8(1):61.

is desirable to delve into this to try to identify them and know their function, as well as whether there is a correspondence between the amount of protein, its activity and the amount of transcript.

End of the English version



- Moosavi, A.; Afshari R. T.; Zharif, Z. F. and Aynehband, A. 2009. Seed priming to increase salt and drought stress tolerance during germination in cultivated species of amaranth. *Seed Sci. Technol.* 37:781-785.
- Moreno, E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). México D. F. 113 p.
- Narváez, G. E. D.; Figueroa, C. J. D.; Taba, S.; Castaño, T. E.; Martínez, P. R. A. and Roincón, S. F. 2006. Relationships between the microstructure, physical features, and chemical composition of different maize accessions from Latin America. *Cereal Chem.* 83:595-604.
- Preston, J.; Tatematsu, K.; Kanno, Y.; Hobo, T.; Kimura, M. and Jikumaru, Y. 2009. Temporal expression patterns of hormone metabolism genes during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds: a comparative study on dormant and non-dormant accessions. *Plant Cell Physiol.* 50:1786-1800.
- Schagger, H. and von Jagow, G. 1987. Tricine-sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of protein in the range from 1-100 kDa. *Analytical Biochem.* 166:368-379.
- Tamura, T.; Terauchi, K.; Kiyosaki, T.; Asakura, T.; Funaki, J.; Matsumoto, I.; Misaka, T. and Abe, K. 2007. Differential expression of wheat aspartic proteinases, WPA1 and WAP2, in germinating and maturing seeds. *J. Plant Physiol.* 164:470-477.
- Tiryaki I. and Buyukcegil, Y. 2009. Seed priming combined with plant hormones: influence on germination and seedling emergence of sorghum at low temperature. *Seed Sci. Technol.* 37:303-315.
- Tnani, H.; López, I.; Jouenne, T. and Vicent, C. M. 2012. Quantitative subproteomic analysis of germinating related changes in the scutellum oil bodies of *Zea mays*. *Plant Sci.* 191-192:1-7.
- Vázquez, C. M.; Santiago, R. G. D.; Salinas, M. Y.; Rosas, M. I.; Arellano, V. J. L.; Velázquez, C. G. A. y Espinoza, C. A. 2012. Interacción genotipo-ambiente del rendimiento y calidad de grano y tortilla de híbridos de maíz en Valles Altos de Tlaxcala, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 35: 229-37.
- Zhang, F.; Yu, J.; Johnston, C. R.; Wang, Y.; Zhu, K.; Lu, F.; Zhang, Z. and Zhou, J. 2015. Seed priming with polyethylene glycol induces physiological changes in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) seedlings under suboptimal soil moisture environments. *PLoS One* 10(10):371.