

Osmoacondicionamiento de semilla de maíz pigmentado (*Zea mays* L.) Bofo y Celaya*

Osmoconditioning of pigmented maize seeds (*Zea mays* L.) Bofo and Celaya

Rosalía Valle-Moysén, Jorge Covarrubias-Prieto, J. Gabriel Ramírez-Pimentel, César L. Aguirre-Mancilla, Gabriel Iturriaga de la Fuente y Juan Carlos Raya-Pérez[§]

Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico de Roque. Carretera Celaya-Juventino Rosas km 8. Roque, Celaya, Guanajuato, México. CP. 38110. (rosalia.moysen@gmail.com; jor_covarru_jrg@gmail.com; garamirez@itroque.edu.mx; gaiturriaga@itroque.edu.mx; ceaguirre@itroque.edu.mx). [§]Autor para correspondencia: juraya@itroque.edu.mx.

Resumen

En la presente investigación se osmoacondicionaron semillas de dos razas de maíz, con PEG o con nitrato de potasio más ácido giberélico, para estimar su efecto en las variables: germinación, peso y longitud de radícula y plántula, acidez titulable y patrón electroforético de proteínas; se les sometió a remojo (hipoxia, “soak test”) y se cuantificó la respuesta. El objetivo fue contribuir a la caracterización de los maíces nativos de México que se siembran bajo condiciones de temporal. Los maíces Bofo y Elotes Occidentales mostraron la mayor imbibición con KNO_3 + ácido giberélico durante 12 h. El porcentaje de germinación después del remojo, fue mayor con KNO_3 + ácido giberélico durante 6 h y fue superior al testigo. En cuanto a la longitud de radícula y plúmula, los tratamientos superaron al testigo, en ambos conteos. Con Elotes Occidentales, luego de la prueba de remojo, los tratamientos resultaron superiores al testigo en longitud de plúmula. La semilla osmoacondicionada tuvo una tendencia a presentar mayor longitud de plúmula y radícula y mayor porcentaje de germinación cuando la semilla se sometió posteriormente a remojo. Los patrones electroforéticos son muy semejantes, lo que indica gran parecido a nivel bioquímico entre las

Abstract

In this research, seeds of two maize races, with PEG or potassium nitrate plus gibberellic acid, were osmo-conditioned to estimate its effect on the variables: germination, weight and length of radicle and seedling, titratable acidity and electrophoretic pattern of proteins; they were soaked (hypoxia, “soak test”) and the response was quantified. The objective was to contribute to the characterization of the native maize of México that are sown under rainfed conditions. The Bofo and Elotes Occidentales maize showed the highest imbibition with KNO_3 + gibberellic acid for 12 h. The germination percentage after soaking was higher with KNO_3 + gibberellic acid for 6 h and was superior to the control. As for the length of radicle and plumule, the treatments exceeded the control in both counts. With Elotes Occidentales, after the soaking test, the treatments were superior to the control in plumule length. The osmoconditioned seed showed a tendency to have a longer plumule and radicle length and a higher percentage of germination when the seed was subsequently subjected to soaking. The electrophoretic patterns are very similar, indicating a great similarity at the biochemical level

* Recibido: marzo de 2017
Aceptado: junio de 2017

razas estudiadas; es deseable un fraccionamiento más fino al extraer las proteínas y técnicas más sensibles para la detección de diferencias.

Palabras clave: *Zea mays* L., estrés abiótico, germinación, vigor.

Introducción

El osmocondicionamiento consiste en la imbibición controlada de la semilla en soluciones osmóticas o agua, interrumpiéndose dicho proceso antes de la protrusión de la radícula. Las semillas tratadas incrementan su porcentaje de germinación, así como el crecimiento de las plántulas, mejorando la calidad nutricional de los cultivos como el maíz. Con la imbibición de la semilla y la activación de enzimas debida al efecto de las giberelinas, se activan glucanasas que degradan el endospermo almidonoso, cuyos productos son absorbidos por el escutelo (Preston *et al.*, 2009). Durante la germinación hay una absorción pasiva de agua que se divide en tres fases, la tercera fase no ocurre en semillas latentes (Méndez-Natera *et al.*, 2008). Poco después de la imbibición hay una disminución en el contenido de ácido abscísico (ABA).

Un incremento en giberelinas parece correlacionarse temporalmente con el inicio de la absorción de agua. Después de tres horas de imbibición, más de 2 000 genes en *Arabidopsis* muestran cambios en su actividad, algunos positiva, otros negativamente. Entre los primeros hay genes del metabolismo de los carbohidratos y de proteínas del ribosoma. En *Brassica napus*, el osmocondicionamiento afectó 952 genes y 75 proteínas; además, la inmersión, el secado y la germinación encienden vías específicas, con un número limitado de genes y proteínas involucrados en todas las fases, la gran mayoría tiene participación en una sola de las vías (Kubala *et al.*, 2015). Parte importante en el proceso de la germinación lo tiene la H⁺ATPasa, que provee la fuerza de empuje para la entrada y salida de iones y metabolitos a través de la membrana plasmática y está activa a las dos horas después de la imbibición (Mei y Song, 2008; Sveinsdottir *et al.*, 2009).

La inmersión previa de la semilla en soluciones osmóticas, incluso en agua, puede mejorar el comportamiento de la semilla durante la germinación. Diversos resultados muestran que las semillas osmocondicionadas mejoran su tasa de germinación, así como el comportamiento de la plántula,

among the studied races; a finer fractionation is desirable in extracting proteins and more sensitive techniques for the detection of differences.

Keywords: *Zea mays* L., abiotic stress, germination, vigor.

Introduction

The osmo-conditioning consists of the controlled imbibition of the seed in osmotic solutions or water, interrupting this process before the protrusion of the radicle. The treated seeds increase their germination percentage, as well as the seedlings growth, improving the nutritional quality of the crops like maize. With seed imbibition and enzymes activation due to the effect of gibberellins, glucanases are activated which degrade starchy endosperm, whose products are absorbed by the scutellum (Preston *et al.*, 2009). During germination there is a passive absorption of water that is divided into three phases, the third phase does not occur in dormant seeds (Méndez-Natera *et al.*, 2008). Shortly after imbibition there is a decrease in abscisic acid content (ABA).

An increase in gibberellins seems to correlate temporally with the onset of water absorption. After three hours of imbibition, more than 2 000 genes in *Arabidopsis* show changes in their activity, some positive, some negatively. Among the first there are genes for the metabolism of carbohydrates and ribosome proteins. In *Brassica napus*, the osmoconditioning affected 952 genes and 75 proteins; further more, dipping, drying and germination turn on specific paths, with a limited number of genes and proteins involved in all phases, the vast majority has a participation in only one of the pathways (Kubala *et al.*, 2015). An important part in the germination process is played by the H⁺ATPase that provides the biasing force for entrance and exit of ions and metabolites across the plasma membrane and is activated at two hours after imbibition (Mei and Song, 2008; Sveinsdottir *et al.*, 2009).

The previous immersion of the seed in osmotic solutions, even in water, can improve seed behavior during germination. Several results show that osmo-conditioned seeds improve its germination rate, as well as the behavior of the seedling, even under stress conditions, it is recommended for water

incluso bajo condiciones de estrés, se recomienda para situaciones de escasez de agua, para acelerar el crecimiento en plántulas de transplante e incluso para mejorar la calidad nutrimental de los cultivos como el maíz (Finch-Savage *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2015).

Para el osmocondicionamiento se han usado sustancias como ácido giberélico, nitrato de potasio o calcio, poli etilenglicol (PEG) y poliaminas, sulfato de zinc, peróxido de hidrógeno (Ahmmad, 2014). El osmocondicionamiento se ha asociado con la estimulación de las enzimas antioxidantes; se propone que favorece la imbibición y aumenta la extensibilidad de las paredes celulares de la radícula y debilita el endospermo, facilitando su movilización, que inicia a las seis horas de la imbibición (Mei y Song *et al.*, 2008), aunque los beneficios del osmocondicionamiento no están claramente relacionados con la eficiencia en la movilización de reservas (Zhang *et al.*, 2015), acorta el tiempo de protrusión de la radícula (Moosavi *et al.*, 2009). Dada la gran diversidad de maíces en México y las condiciones bajo las cuales se le cultiva (temporal), el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto del acondicionamiento osmótico sobre la calidad germinativa y fisiológica de dos poblaciones de maíz pigmentado. La hipótesis fue que hay diferencias entre las razas de maíz en la respuesta al osmocondicionamiento.

Materiales y métodos

Se evaluaron dos razas de maíz: Elotes Occidentales de color rojo y Bofo de color morado, las semillas se obtuvieron del programa de mejoramiento de maíces del Instituto Tecnológico de Roque, almacenadas bajo las condiciones normales de temperatura y humedad, clima semiseco, semicálido, temperatura media de 18 °C. La semilla procedía del ciclo anterior, se tomó una muestra homogénea para los experimentos. Las dos soluciones osmóticas utilizadas se prepararon con 30% (p/v) de polietilenglicol 6000 (SIGMA®) y 3% de nitrato de potasio (Golden Bell®) más 0.01% ácido giberélico (Rali Agropecuaria®) (Tiryaki y Buyukcingil, 2009). Se registró el peso inicial de cada muestra. Se usó un diseño completamente al azar con 4 repeticiones de 25 semillas cada una. Como testigo se usaron semillas sin osmocondicionamiento. La inmersión fue de 6 y 12 h en un recipiente abierto; al término del tiempo de imbibición, las semillas se colocaron en toallas de papel para eliminar el exceso de agua y se pesaron.

scarcity, to accelerate growth in transplanting seedlings and even to improve nutrimental quality of crops such as maize (Finch-Savage *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2015).

Substances such as gibberellic acid, potassium nitrate or calcium, polyethylene glycol (PEG) and polyamines, zinc sulfate, hydrogen peroxide (Ahmmad, 2014) have been used for osmo-conditioning. Osmo-conditioning has been associated with the stimulation of antioxidant enzymes; it is proposed that it favors imbibing and increases the extensibility of the cell walls of the radicle and weakens the endosperm, facilitating mobilization, which starts at six hours of imbibition (Mei and Song *et al.*, 2008), although the benefits of osmoconditioning are not clearly related to efficiency in reserves mobilization (Zhang *et al.*, 2015), it shortens the protrusion of the radicle (Moosavi *et al.*, 2009). The objective of this research was to evaluate the effect of osmotic conditioning on the germination and physiological quality of two pigmented maize populations, given the great diversity of maize in México and the conditions under which it is grown. The hypothesis was that there are differences between maize races in the response to osmoconditioning.

Materials and methods

Two races of maize were evaluated: Elotes Occidentales of red color and Bofo of purple color, the seeds were obtained from the maize breeding program of the Technological Institute of Roque, stored under normal conditions of temperature and humidity, semi-dry, semi-cold, average temperature of 18 °C. The seed came from the previous cycle, a homogeneous sample was taken and from this, samples were taken for the experiments. Both osmotic solutions used were prepared with 30% (p/v) polyethylene glycol 6000 (SIGMA®) and 3% of potassium nitrate (Golden Bell®) plus 0.01% gibberellic acid (Rali Agropecuaria®) (Tiryaki and Buyukcingil, 2009). The initial weight of each sample was recorded. A completely randomized design was used with 4 replicates of 25 seeds each. As a control, seeds without osmo-conditioning. The immersion was of 6 and 12 h in an open vessel; at the end of the imbibition time, the seeds were placed in paper towels to remove water excess and then weighed.

They were dried in Petri dishes for 7 days in the environment. Weighed at the end of the drying period. The germination test was carried out according to the method

Se secaron en cajas Petri durante 7 días al medio ambiente. Se pesaron al final del periodo de secado. La prueba de germinación se llevó a cabo según el método de la ISTA (2005) en cámara de germinación Control System Labs® a 25 °C con 80% de humedad relativa. Se preparó una solución de Captán al 1% y se sumergieron las semillas en ella durante 5 min. Remojo (soak test): se colocaron 25 semillas en un recipiente de plástico de 250 mL, se agregó agua purificada a temperatura de 25 °C durante 24 h a temperatura controlada; la semilla quedó cubierta con una capa de 2 cm de agua. Posteriormente, se sumergieron en Captán al 1% durante 5 min. Se sembraron 4 repeticiones de 25 semillas para la prueba de germinación. Se tomaron 4 plántulas por repetición, ya que se consideró adecuada para representar las poblaciones, esto se corroboró en los análisis de varianza ya que tuvieron coeficientes de variación buenos; se midió la longitud de plúmula y radícula así como el peso total al cuarto y séptimo día para determinar el crecimiento.

Prueba de vigor (longitud media de plúmula y radícula): se llevó a cabo conforme al método descrito por Moreno (1984), las semillas se introdujeron en bolsas de polietileno colocándose dentro de la cámara de germinación a 25 °C. Se tomaron 10 plántulas por repetición y se separaron las radículas y se pesaron por separado para obtener su peso fresco, se colocaron cada una en sobres de papel y luego se sometieron a secado en la estufa (aparatos de laboratorio modelo H 62) a 80 °C durante 48 h para determinar el peso seco. 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®). La acidez en la muestra, expresada como ácido málico, se calculó con la siguiente fórmula: $\text{acidez g L}^{-1} (\text{ácido málico}) = (V * N * 67) / m$, 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 químico del ácido málico.

Para la extracción de proteína se molieron 10 semillas con un molino modelo KRUPS GX4100; se pesaron 0.25 g de harina de cada muestra y se les agregó a cada tubo 1.5 ml de buffer de extracción (pH 7.5 con fosfato de sodio 50 mM, cloruro de sodio 250 mM 2% de DTT (ditiotreitól)). Se mezclaron las muestras con agitación en el Vortex® durante 5 min. Se incubaron las muestras a baño María a 80 °C durante un minuto; se dejaron enfriar y se refrigeraron a 5 °C durante 24 h. Se decantó el sobrenadante y se centrifugó a 13 000xg en la microfuga durante 15 min; se

of ISTA (2005) in a Control System Labs® germination chamber at 25 °C with 80% of relative humidity. A 1% Captan solution was prepared and the seeds were immersed in it for 5 min. Soak test: 25 seeds were placed in a 250 mL plastic vessel, purified water was added at 25 °C for 24 h at controlled temperature; the seeds were covered with a water layer of 2 cm. Subsequently, they were immersed in 1% Captan for 5 min. Four replicates of 25 seeds were seeded for the germination test. Four seedlings per replicate were taken, as it was considered adequate to represent the populations, this was corroborated in the analyzes of variance since they had good variation coefficients; the plumule and radicle length as well as the total weight at the fourth and seventh days were measured to determine growth.

Strength test (average length of plumule and radicle): it was carried out according to the method described by Moreno (1984), seeds were placed in polyethylene bags and then placed inside the germination chamber at 25 °C. Ten seedlings were taken per replicate and the radicles were separated and weighed separately to obtain its fresh weight, each was then placed in paper sachets and then dried in the oven (laboratory apparatus model H 62) at 80 °C for 48 h to determine the dry weight. Titratable acidity. 2 g of flour sample was taken and a 1:4 flour/distilled water ratio was added; it was titrated with a solution of sodium hydroxide at 0.1 N (Karal®). The acidity in the sample, expressed as malic acid, was calculated with the following formula: $\text{acidity g/L (malic acid)} = (V * N * 67) / m$, where: V = volume of sodium hydroxide solution 0.1 N spent on the titration of the sample, in mL, N= normality of the sodium hydroxide solution; m= volume of the sample, in mL; 67= chemical equivalent of malic acid.

For protein extraction, 10 seeds were milled with a KRUPS GX4100 mill; 0.25 g of flour from each sample was weighed and 1.5 ml of extraction buffer (pH 7.5 with 50 mM sodium phosphate, 250 mM sodium chloride 2% DTT (dithiothreitol) were added to each tube. The samples were mixed by agitation in the Vortex® for 5 min. Samples were incubated in a water bath at 80 °C for one minute; then cooled and refrigerated at 5 °C for 24 h the supernatant was decanted and centrifuged at 13 000xg in the microfuge for 15 min, the supernatant was removed again and glycerol was added to each sample for a concentration of 10% and finally frozen at -20 °C. Protein quantification was carried out by the method of Bradford (1976). The electrophoretic patterns were obtained in

separó nuevamente el sobrenadante y se agregó glicerol a cada muestra para una concentración de 10% y finalmente se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. La cuantificación de proteína se llevó a cabo mediante el método de Bradford (1976). 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 bajo un diseño completamente al azar, el análisis estadístico fue con Andevas utilizando el programa SAS 9.0.

Resultados y discusión

En la raza Bofó (Cuadro 1), la tasa de imbibición de todos los tratamientos fue superior al testigo. Al respecto, Méndez-Natera *et al.* (2008) no encontraron relación entre la tasa de imbibición y los porcentajes de germinación en semilla de frijol común (*Phaseolus vulgaris*), frijol de palo (*Cajanus cajan*) y maíz (*Zea mays*). Se ha tratado de controlar la cantidad de agua embebida por la semilla, pero es difícil de lograr además de que el comportamiento de la misma dependerá de la especie, el lote y las condiciones bajo las cuales se lleve a cabo el tratamiento (Sánchez *et al.*, 2001). El embrión del maíz se hidrata a las 15 h, el endospermo a 48 h, la mayor imbibición podría mejorar el establecimiento en campo de acuerdo con Finch-Savage *et al.* (2004).

En el Cuadro 2 se observa que todos los tratamientos fueron superiores al testigo en las variables longitud de plúmula y radícula, no hubo diferencias entre los tratamientos de osmocondicionamiento. Los tratamientos no tuvieron efectos negativos sobre las variables evaluadas; algunos investigadores (Campos-Álvarez *et al.*, 2002; Moosavi *et al.*, 2007) señalan que el porcentaje y la velocidad de germinación disminuyen cuando se incrementa el potencial osmótico de la solución, lo que indica que en este caso la cantidad de sales utilizada no tuvo efectos estresantes sobre la semilla. En el segundo conteo se observó un comportamiento semejante, el efecto positivo del osmocondicionamiento volvió a mostrarse en estas variables; en la longitud de raíz secundaria sólo algunos tratamientos resultaron superiores al testigo (PEG 12 h y KNO_3+AG_3 6 h).

Estos resultados podrían estar relacionados con la activación de genes que modifican y hacen más laxa la pared celular y la organización del citoesqueleto, lo que facilita o ayuda al alargamiento de las estructuras de la plántula. Al aumentar

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 under a completely random design, and the statistical analysis was performed with Andevas using the SAS 9.0 program.

Results and discussion

In the Bofó breed (Table 1), the imbibition rate of all treatments was higher than the control. In this regard, Méndez-Natera *et al.* (2008) found no relationship between the imbibition rate and seed germination rates of common bean seeds (*Phaseolus vulgaris*), pigeon pea (*Cajanus cajan*) and maize (*Zea mays*). It has been attempted to control the amount of water imbibed by the seed, but is difficult to achieve in addition, the behavior would depend on the species, the lot and the conditions under which the treatment is carried out (Sánchez *et al.*, 2001). The maize embryo is hydrated at 15 h, the endosperm at 48 h, most imbibition may improve field establishment according to Finch-Savage *et al.* (2004).

Cuadro 1. Comparación de medias mediante la prueba DMS para los tratamientos de remojo de maíz Bofó. Roque, Guanajuato, 2015.

Table 1. Comparison of means by the DMS test for soaking treatments of Bofó maize. Roque, Guanajuato, 2015.

Tratamiento	NOR(%)	NOR(%)	MUER(%)	TII(g)
Testigo	74 b	8 ab	4 b	0 d
PEG 6 h	84 ab	10 a	1 bc	1.75 c
PEG 12 h	91 a	6 ab	0 c	1.94 b
KNO_3+AG_3 6 h	90 a	2 ab	1 bc	1.96 b
KNO_3+AG_3 12 h	82 ab	0 b	8 a	2.36 a
DMS	14.24	9.96	3.65	0.13

Medias de tratamiento con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales con DMS ($p < 0.05$). TRAT= tratamientos; NOR= semillas normales; MUER= semillas muertas y TI= tasa de imbibición.

Table 2 shows that all the treatments were superior to the control in the variables length of plumule and radicle, there were no differences between treatments of osmoconditioning. The treatments had no negative effects on the evaluated variables; some researchers (Campos-Álvarez *et al.*, 2002; Moosavi *et al.*, 2007) indicate that the percentage

la extensibilidad de las paredes celulares de la radícula y debilitar el endospermo, facilitan su movilización, como lo señalan Mei y Song *et al.* (2008). Genes implicados en la división celular son regulados positivamente durante el osmocondicionamiento, aunque se ha reportado que la síntesis de DNA que ocurre en esta etapa es para reparación del mismo (Zhang *et al.*, 2015). Los efectos positivos observados sugieren que estos pre-tratamientos se propongan para mejorar la germinación e incrementar la tolerancia al estrés (Moosavi *et al.*, 2009), como condiciones de escasez de agua o para acelerar el trasplante de plántulas (Finch-Savage *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2015).

Cuadro 2. Comparación de medias mediante la prueba DMS para las variables longitud de radícula y plúmula del primer y segundo conteos en la prueba de remojo de maíz Bofo. Roque, Guanajuato, 2015.

Table 2. Comparison of means by the DMS test for the variables length of radicle and plumule of the first and second counts in the soaking test of Bofo maize. Roque, Guanajuato, 2015.

Tratamiento	Primer conteo		Segundo conteo		LRS1 (cm)	LRS2 (cm)
	LP (cm)	LR (cm)	LP (cm)	LR (cm)		
Testigo	9.3b	9.3b	21.3c	10.9c	9.8b	9.4b
PEG 6 h	14.5a	13.5a	26.5ab	19.9a	12.2b	14a
PEG 12 h	14.8a	13.2a	29.1a	18.7ab	16.6a	14.3a
KNO ₃ +AG ₃ 6 h	14.5a	14.3a	27.8ab	16.1b	13.5ab	11.8b
KNO ₃ +AG ₃ 12 h	13a	12.5a	25.3b	18ab	11.5b	9.7b
DMS	1.97	2.76	3.25	3.73	3.86	5.24

Medias de tratamiento con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales con DMS ($p < 0.05$). TRAT=tratamientos, LP= longitud de plúmula, LR=longitud de radícula, LRS1 y 2= longitud de radículas secundarias 1 y 2.

Se ha observado que el rápido crecimiento luego del osmocondicionamiento coincide con un incremento en la poza de UDP-glucosa, precursor de la síntesis de celulosa de pared celular (Bray *et al.*, 1989). Las variables evaluadas en la prueba de remojo de maíz Elotes Occidentales se muestran en el Cuadro 3. El porcentaje de germinación de semillas normales del primer conteo fue estadísticamente superior al testigo en semillas tratadas con PEG a 6 y 12 h. Las soluciones osmóticas de PEG han sido utilizadas para imponer estrés hídrico en plantas debido a que previene

and germination rate decrease when the osmotic potential of the solution is increased, indicating that in this case the amount of salts used did not have stress effects on the seed. In the second count a similar behavior was observed, the positive effect of the osmo-conditioning was shown again in these variables; in the length of secondary root only some treatments were superior to the control (PEG 12 h y KNO₃+AG₃ 6 h).

These results could be related to the activation of genes that modify and make the cell wall more lax and the organization of the cytoskeleton, which facilitates or helps the elongation of the seedling structures. By increasing the extensibility of the cell walls of the radicle and weaken the endosperm they facilitate mobilization, as indicated by Mei and Song *et al.* (2008). Genes involved in cell division are regulated positively during osmoconditioning, although it has been reported that DNA synthesis occurs at this stage to repair itself (Zhang *et al.*, 2015). The observed positive effects suggest that these pre-treatments are proposed to improve germination and increase stress tolerance (Moosavi *et al.*, 2009), as conditions of water scarcity or to accelerate seedlings transplanting (Finch-Savage *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2015).

It has been observed that rapid growth after osmoconditioning coincides with an increase in the pool of UDP-glucose synthesis precursor of cell wall cellulose (Bray *et al.*, 1989). The variables evaluated in the soaking test for Elotes Occidentales are shown in Table 3. The percentage of germination of normal seeds at the first count was statistically higher than the control in seeds treated with PEG at 6 and 12 h. PEG osmotic solutions have been used to impose water stress on plants because it prevents excessive absorption of water by the seed. Abnormal seedlings showed differences in the control sample and in the treatment with PEG at 12 h. In dead seeds the treatment with KNO₃+AG₃ at 12 h showed the highest value; KNO₃+AG₃ at 6 h and the control did not show differences. For TI2 the highest treatment was PEG at 12 h and the lowest was KNO₃+AG₃ at 6 h. Slowing imbibition using PEG prevented the occurrence of dead areas in cotyledons of peas (Méndez-Nátera *et al.*, 2008). In this case the treatments with PEG showed greater germination.

Table 4 shows the measurements on the fourth and seventh days in Elotes Occidentales. Plumule length of treatments was superior to the control, Mora-Ojendiz *et al.* (2012) reported a range of 9.24 to 12.54 cm. In taproot length of

la absorción excesiva de agua por la semilla. En plátulas anormales se observaron diferencias en la muestra testigo y en el tratamiento con PEG a 12 h. En semillas muertas el tratamiento con KNO_3+AG_3 a 12 h presentó el valor mayor; KNO_3+AG_3 a 6 h y el testigo no presentaron diferencias. Para TI2 el tratamiento más alto fue PEG a 12 h y el menor fue KNO_3+AG_3 a 6 h. Retardar la imbibición con el uso de PEG se previene la aparición de áreas muertas en cotiledones de arvejas (Méndez-Nátera *et al.*, 2008). En este caso los tratamientos con PEG mostraron mayor germinación.

the PEG treatments at 12 h and KNO_3+AG_3 to 6 and 12 h were statistically equal. All treatments were lower than the control seed. There were no differences for total seedling weight. In the second count there were no differences between treatments and all were above the value of the control sample in plumule length. The total weight of the seedling in the treatments was lower than the control treatment. In maize seed the treatment with hydrogen peroxide increases the length and seedling dry weight (Whaid *et al.*, 2008).

Cuadro 3. Comparación de medias de la prueba de remojo en maíz Elotes Occidentales.

Table 3. Comparison of means of soaking test in Elotes Occidentales maize.

Tratamiento	NOR (%)	MUER (%)	ANOR (%)	MUER (%)	DRS (%)	TI1 (g)	TI2 (g)
Testigo	77 ab	4 a	1 b	6 ab	5 bc	0 d	4.138 ab
PEG 6 h	84 a	0 b	4 ab	5 b	1 c	1.9 c	4.044 ab
PEG 12 h	79 a	2 ab	7 a	4 b	7 abc	2.12 b	4.238 a
KNO_3+AG_3 6 h	68 ab	1 ab	4 ab	6 ab	11 ab	2.128 b	3.961 b
KNO_3+AG_3 12 h	62 b	1 ab	5 ab	13 a	15 a	2.675 a	4.073 ab
DMS	16.94	3.96	5.87	7.54	8.49	0.15	0.21

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, NOR= semillas normales; MUER= semillas muertas; ANOR= semillas anormales; DRS= semillas duras y TI= tasa de imbibición.

En el Cuadro 4 se observan las mediciones al cuarto y séptimo día en Elotes Occidentales. La longitud de plúmula de los tratamientos fue superior al testigo, Mora-Ojendiz *et al.* (2012) reportaron un rango de 9.24 a 12.54 cm. En longitud de raíz primaria los tratamientos PEG a 12 h y KNO_3+AG_3 a 6 y 12 h estadísticamente todas fueron iguales. Todos los tratamientos fueron inferiores al de la semilla testigo. Para el peso total de plántula no hubo diferencias. En el segundo conteo no hubo diferencias entre tratamientos y todos se encuentran por encima del valor de la muestra testigo en longitud de plúmula. El peso total de la plántula en los tratamientos fue inferior respecto al tratamiento testigo. En semilla de maíz el tratamiento con peróxido de hidrogeno incrementa la longitud y peso seco de plántula (Whaid *et al.*, 2008).

El Cuadro 5 muestra las variables fisiológicas evaluadas en maíz Bofo. El KNO_3+AG_3 a 12 h fue estadísticamente igual al de PEG a 12 h y presentaron los valores más altos respecto a los demás tratamientos y el testigo. La longitud

Cuadro 4. Comparación de medias de longitud de radículas y plúmula del primer al segundo conteo de plántulas de maíz Elotes Occidentales en prueba de remojo.

Table 4. Comparison of means of root and plumule lengths from the first to the second count of Elotes Occidentales maize seedlings in soak test.

TRAT	LP (cm)	LR (cm)	LRS2 (cm)	LP (cm)	LR (cm)	LRS2 (cm)	PT (g)
TEST	10.2c	14.3a	8ab	21b	16.2ab	9.4c	1.91a
PEG 6 h	16.8a	10.9b	8.7ab	27.8a	13.3c	11.1b	1.79ab
PEG 12 h	13b	12ab	10.3a	26.3a	16.1abc	12.1b	1.84ab
KNO_3+AG_3 6 h	15.3a	13.3ab	9.8ab	27.9a	18.7a	14.5a	1.88a
KNO_3+AG_3 12 h	16.8a	12ab	5.9b	27a	14.7bc	8.8c	1.65b
DMS	1.85	2.88	4.03	2.91	2.88	5.77	.22

*Medias de tratamiento con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales con DMS ($p < 0.05$). TRAT= tratamientos; LP= longitud de plúmula; LR= longitud de radícula; LRS2= longitud de radícula secundaria y PT= peso total de la plántula.

de la plúmula con el tratamiento PEG a 6 h fue de 11.7 cm, valor que es inferior con respecto a la semilla testigo pero que se encuentra entre los valores de 11.05 a 11.86 cm reportado por Ruíz-Torres *et al.* (2012). En la longitud de radícula el valor PEG a 12 h resultó en esta investigación ser el más elevado con 18.5 cm y es muy parecido al de 21.2 cm reportado por Martínez *et al.* (2010). El valor de PEG a 6 h para peso fresco de la plúmula se encuentra con un valor por debajo de la muestra testigo. El valor más alto fue 0.884 g que correspondió a la semilla tratada con KNO_3+AG_3 a 12 h. El testigo presentó la mayor cantidad de peso fresco de radícula y fue diferente al más bajo, KNO_3+AG_3 a 6 h; los otros tratamientos estudiados fueron estadísticamente iguales.

Table 5 shows the variables evaluated in Bofa maize. KNO_3+AG_3 at 12 h was statistically equal to PEG at 12 h and showed the values with respect to the other treatments and the control. The plumule length with PEG treatment at 6 h was 11.7 cm, which is below the value of the control seeds but which lies between the values 11.05 to 11.86 cm reported by Ruíz-Torres *et al.* (2012). In the radicle length, PEG value at 12 h proved to be the highest with 18.05 cm and similar to the 21.2 cm reported by Martínez *et al.* (2010). The PEG value at 6 h for fresh weight of the plumule is below the control sample. The highest value was 0.884 g which corresponded to the seed treated with KNO_3+AG_3 at 12 h. The control showed the highest radicle fresh weight and was different to the lowest, KNO_3+AG_3 at 6 hours; the other treatments were statistically the same.

Cuadro 5. Comparación de medias de longitud de plúmula y radícula de maíz Bofa.
Table 5. Comparison of means of plumule and radicle lengths of Bofa maize.

Tratamiento	LMP (cm)	LMR (cm)	PFP (g)	PSP (g)	PFR (g)	PSR (g)	TI (g)
Testigo	17.3 ab	15 ab	0.859 ab	0.065 ab	0.129 a	0.016 a	0 e
PEG 6 h	11.7 b	8.7 c	0.778 b	0.056 c	0.108 ab	0.012 bc	1.321 d
PEG 12 h	23.6 a	18.5 a	0.798 ab	0.059 abc	0.108 ab	0.014 ab	1.592 c
KNO_3+AG_3 6 h	18.8 ab	10.4 b	0.801 ab	0.056 bc	0.092 b	0.01 c	1.819 b
KNO_3+AG_3 12 h	25.4 a	16.1 ab	0.884 a	0.66 a	0.102 ab	0.012 bc	2.261 a
DMS	8.72	4.979	0.087	0.009	0.036	0.003	0.073

Medias de tratamiento con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales con DMS ($p < 0.05$). TRAT= tratamientos; LMP= longitud media de plúmula; LMR= longitud media de radícula y PFP= peso fresco de la plúmula; PSP= peso seco de la plúmula; PFR= peso fresco de la radícula; PSR= peso seco de la radícula y TI= tasa de imbibición.

La mayor longitud de plúmula y radícula en Elotes Occidentales se observó en el tratamiento con PEG a 12 h (Cuadro 6); las medidas se encuentran por debajo de 25.6 cm reportado por Espinosa-Calderón *et al.* (2009). El valor más bajo correspondió al tratamiento PEG a 6 h. En la tasa de imbibición (TI), el KNO_3+AG_3 a 12 horas con 2.62 g fue superior a los demás tratamientos. Para el segundo conteo de semillas normales se observó que 11% de germinación del testigo fue superior a los tratamientos, presentando diferencia estadística significativa, el valor más bajo se observó en el tratamiento con KNO_3+AG_3 a 12 h de imbibición, estos valores bajos en el segundo conteo indican que el mayor porcentaje de semillas normales se presentó en el primer conteo; por lo tanto, para el segundo conteo el porcentaje de germinación fue muy bajo.

The greatest length of plumule and radicle in Elotes Occidentales was observed in the treatment with PEG at 12 h (Table 6); measures are below the 25.6 cm reported by Espinosa-Calderón *et al.* (2009). The lowest value corresponded to PEG treatment at 6 h. In the imbibition rate (TI), KNO_3+AG_3 at 12 hours with 2.62 g was superior to the other treatments. For the second count of normal seeds, it was found that 11% germination of the control was superior to treatment, showing statistically significant difference, the lowest value was observed in the treatment with KNO_3+AG_3 at 12 h imbibition, these low values in the second count indicate that the highest percentage of normal seeds was shown at the first count; therefore, for the second count the germination percentage was very low.

La tasa de imbibición fue similar en los tratamientos PEG a 12 h y KNO_3+AG_3 a 6 h; el KNO_3+AG_3 a 12 h fue superior a todos los tratamientos, incluyendo al testigo (Cuadro 6). Genes como los factores de transcripción MYB, ERF/AP2, que codifican para proteínas involucradas en modificar la pared celular, organización del citoesqueleto y la división celular fueron reguladas positivamente en el osmocondicionamiento y la germinación (Zhang *et al.*, 2015) y la H^+ ATPasa de membrana es activa en semilla de maíz embebidas 2 h (Yu-Qin y Song-Quan, 2008). Que explica mayor germinación a los cuatro días. La raza Elotes Occidentales presentó 98% de germinación con el tratamiento de nitrato a 12 h y fue estadísticamente diferente al testigo, que presentó 84%. La mayor absorción de agua por las semillas fue en el tratamiento con nitrato a 12 h y la menor con el tratamiento de PEG 6 h (Cuadro 6). La mayor germinación de las semillas osmocondicionadas está acorde con lo reportado por Sánchez *et al.* (2001).

Cuadro 6. Comparación de medias de longitud de plúmula y radícula de maíz Elotes Occidentales. Roque, Guanajuato, 2015.

Table 6. Comparison of means of plumule and radicle lengths of Elotes Occidentales maize. Roque, Guanajuato, 2015.

TRAT	LMP (cm)	LMR (cm)	TI (g)	NORM (%)	TI (g)
Testigo	19.5 ab	13.6 b	0 d	11 a	0 d
PEG 6 h	15.6 c	11.9 b	1.46 c	4 bc	1.59 c
PEG 12 h	22.4 a	18.5 a	1.894 b	8 ab	2.13 b
KNO_3+AG_3 6 h	17.7 bc	12.3 b	2.165 b	2 bc	1.93 b
KNO_3+AG_3 12 h	19.9 ab	17.5 a	2.621 a	0 c	2.59 a
DMS	3.384	3.32	0.297	6.55	0.27

Medias de tratamiento con la misma letra dentro de cada variable son estadísticamente iguales con DMS ($p < 0.05$). TRAT= tratamientos; LMP= longitud media de plúmula; LMR= longitud media de radícula TI= tasa de imbibición; NORM= plántulas normales.

En el Cuadro 7 se observa que la proteína extraíble de semilla completa es mayor en el tratamiento con KNO_3+AG_3 12 h y menor en PEG 6 h; algo similar ocurrió con la proteína que se extrajo del embrión y del endospermo en la raza Elotes Occidentales. El proceso de germinación tiene amplios efectos sobre la semilla y se sabe que el incremento de la proteína es uno de ellos (Afify *et al.*, 2012). Aunque el tiempo de exposición al líquido fue de 12 h tanto en PEG como con nitrato, se observó un mayor efecto con este último, debido a la naturaleza química, ya que PEG disminuye el agua disponible para la semilla por su efecto osmótico.

The imbibition rate was similar in the PEG treatments at 12 h and KNO_3+AG_3 at 6 hours; KNO_3+AG_3 at 12 h was higher than all treatments, including the control (Table 6). Genes, such as transcription factors MYB, ERF/AP2, encoding proteins involved in modifying the cell wall, cytoskeleton organization and cell division were regulated positively during the osmoconditioning and germination (Zhang *et al.*, 2015) and the membrane H^+ ATPase is active in maize seeds imbibed for two hours (Yu-Qin and Song-Quan, 2008). This would explain the greater germination at four days. The Elotes Occidentales breed showed 98% germination with nitrate treatment at 12 h and was statistically different from the control, which showed 84%. The highest water uptake by seeds was in the treatment with nitrate at 12 h and the lowest with the treatment of PEG at 6 h, being the difference statistically significant (Table 6). Most germinating osmoconditioned seeds is consistent with that reported by Sánchez *et al.* (2001).

Table 7 shows that the extractable protein of the whole seed is greater in the treatment with KNO_3+AG_3 at 12 h and lower in PEG at 6 h; something similar happened with the protein that was extracted from the embryo and the endosperm in the Elotes Occidentales breed. The germination process has broad effects on the seed and to increase protein is one of them (Afify *et al.*, 2012). Although the time of exposure to the liquid was 12 hours in both PEG and nitrate, a greater effect was observed with the latter, possibly due to its chemical nature, since the PEG decreases the available water for the seed due to its osmotic effect.

Cuadro 7. Comparación de medias de contenido de proteína en maíz Elotes occidentales, Roque, Guanajuato, 2015.

Table 7. Comparison of means of protein content in Elotes Occidentales maize, Roque, Guanajuato, 2015.

Tratamiento	Semilla completa ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$)	Embrión ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$)	Endospermo ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$)
Testigo	9.54 bc	12.87 b	2.33 c
PEG 6 h	8.11 c	11.8 c	1.73 c
PEG 12 h	10.41 ab	11.97 c	2.69 c
KNO_3+AG_3 6 h	10.35 ab	12.61 b	3.61 ab
KNO_3+AG_3 12 h	11.67 a	13.48 a	4.32 a
DMS	2.12	0.52	1.11

Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con DMS= 0.05.

En el Cuadro 8 se observa que de los tratamientos, semilla completa, se extrajo casi el doble de proteína que del testigo. Esto podría explicarse por la solubilización parcial de la proteína debido al osmocondicionamiento. Como se señaló antes, la germinación incrementa el contenido de proteína soluble en sorgo (Afify *et al.*, 2012).

Cuadro 8. Comparación de medias del contenido de proteína en maíz Bofó, Roque, Guanajuato, 2015.

Table 8. Comparison of means of protein content in Bofó maize, Roque, Guanajuato, 2015.

Tratamiento	Semilla completa ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$)	Embrión ($\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$)
Testigo	5.023 b	12.674 a
PEG 6 h	10.925 a	12.331 ab
PEG 12 h	9.022 a	11.42 b
KNO ₃ +AG ₃ 6 h	8.94 a	11.952 ab
KNO ₃ +AG ₃ 12 h	10.991 a	12.694 a
DMS	2.453	0.938

Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con (DMS=0.05).

En el Cuadro 9 se analizó una disminución en la acidez titulable en los tratamientos en Elotes Occidentales, lo que podría indicar la remoción de compuestos hacia vías metabólicas o una compartimentalización de tal manera que permanecieran menos accesibles. En el embrión, en cambio, se incrementó la acidez titulable. Dado que el embrión se hidrata antes que el endospermo, esto podría ser indicativo del reinicio de la actividad metabólica en el embrión. De acuerdo con Afify *et al.* (2016) en la semilla del cultivo de sorgo, luego de la germinación, hubo un incremento en aminoácidos libres, que participan en la regulación del pH.

En el Cuadro 10 se comprobó que la semilla completa mostró una tendencia a contener mayor acidez que los tratamientos. Esto posiblemente sea el reflejo de la movilización de algunos componentes seminales; el incremento en la movilización molecular del citosol de las semillas se ha correlacionado con una baja en la viabilidad durante el envejecimiento acelerado (Gurusinghe *et al.*, 2001), pero también podría estar relacionado con los procesos germinativos. En el embrión es donde se observaron los cambios mayores, quizá por ser esta la parte más activa de la semilla al rehidratarse.

Table 8 shows that from the treatments, whole seeds, almost twice the protein was extracted than the control. This could be explained by the partial solubilization of the protein due to the osmo-conditioning. As noted earlier germination increases the content of soluble protein in sorghum (Afify *et al.*, 2012).

Table 9 analyzed a decrease in titratable acidity in treatments in Elotes Occidentales, which could indicate the removal of compounds towards metabolic pathways or a compartimentalization in such a way that they remained less accessible. In the embryo, however, titratable acidity increased. Since the embryo is hydrated before the endosperm, this could be indicative of the resumption of metabolic activity in the embryo. According to Afify *et al.* (2016) in sorghum seed, after germination, there was an increase in free amino acids, which participate in pH regulation.

Cuadro 9. Comparación de medias de acidez titulable en maíz Elotes Occidentales, Roque, Guanajuato, 2015.

Table 9. Comparison of means of titratable acidity in Elotes Occidentales maize, Roque, Guanajuato, 2015.

Material	Semilla completa (g kg^{-1})	Embrión (g kg^{-1})
Testigo	0.502 a	0.858 b
PEG 6 h	0.376 b	1.423 a
PEG 12 h	0.439 ab	1.214 ab
KNO ₃ +AG ₃ 6 h	0.387 b	1.381 a
KNO ₃ +AG ₃ 12 h	0.397 b	1.486 a
DMS	0.092	0.411

Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con (DMS=0.05).

In Table 10 it was verified that the complete seeds showed a tendency to contain greater acidity than the treatments. This is likely to reflect the mobilization of some seminal components; the increase in molecular mobilization in the cytosol of seeds has been correlated with a decrease in viability during accelerated aging (Gurusinghe *et al.*, 2001), but could also be related to germinal processes. In the embryo is where the major changes were observed, perhaps because this is the most active part of the seed when rehydrated.

The treatments did not cause noticeable alterations in the electrophoretic patterns of the seed (Figure 1 and 2). According to Bray *et al.* (1989), during the osmoconditioning occurs protein synthesis in *Allium porrum* and the identity of

Cuadro 10. Comparación de medias del contenido de acidez titulable en maíz Bofo, Roque, Guanajuato, 2015.

Table 10. Comparison of means of titratable acidity content in Bofo maize, Roque, Guanajuato, 2015.

Material	Semilla completa (g kg ⁻¹)	Embrión (g kg ⁻¹)	Endospermo (g kg ⁻¹)
Testigo	0.648 a	1.496 a	0.261 a
PEG 6 h	0.397 b	1.444 a	0.214 b
PEG 12 h	0.355 b	0.879 b	0.235 ab
KNO ₃ +AG ₃ 6 h	0.397 b	1.454 a	0.235 ab
KNO ₃ +AG ₃ 12 h	0.502 ab	1.318 a	0.256 a
DMS	0.204	0.424	0.03

Valores con la misma letra dentro de columnas, son estadísticamente iguales con (DMS= 0.05).

Los tratamientos no provocaron alteraciones notorias en los patrones electroforéticos de la semilla (Figura 1 y 2). De acuerdo con Bray *et al.* (1989), durante el osmocondicionamiento ocurre síntesis de proteína en *Allium porrum* y la identidad de estas proteínas puede ser importante para la germinación, pero en semillas de *Brassica napus* osmocondicionadas sólo se observó una disminución en la abundancia de la cruciferina (Kubala *et al.*, 2015). En un trabajo previo (Valle Moysén *et al.*, 2017) se obtuvieron los patrones electroforéticos de maíz palomero, lo que permite comparar y señalar que son muy semejantes, mostrando parecido a nivel bioquímico entre las razas estudiadas.

Liu *et al.*, (2011) publicaron que los RNAs y las proteínas requeridas para la germinación ya se encuentran en el endospermo y el embrión. Es de esperarse que no sucedan cambios conspicuos en los patrones de proteínas, cuantitativa o cualitativamente, aunque se ha descrito la degradación gradual de oleosinas de maíz durante la imbibición Tnani *et al.* (2012). Es necesario un fraccionamiento más fino de las proteínas al extraerlas e implementar técnicas más sensibles para su detección (Wang *et al.*, 2016). Wu *et al.* (2012) extrajeron las prolaminas y no prolaminas de grano de maíz; estas últimas dan un gran número de bandas de entre 100 y 10 kDa, aproximadamente, destacando la abundancia relativa de algunas bandas en determinadas líneas de maíz.

these proteins may be important for the germination but in osmoconditioned *Brassica napus* seeds only a decrease in the abundance of cruciferin was observed (Kubala *et al.*, 2015). In a previous work (Valle Moysén *et al.*, 2017) electrophoretic patterns were obtained in popcorn maize, allowing to compare and note that they are very similar, showing similarities at biochemical level among the studied breeds.

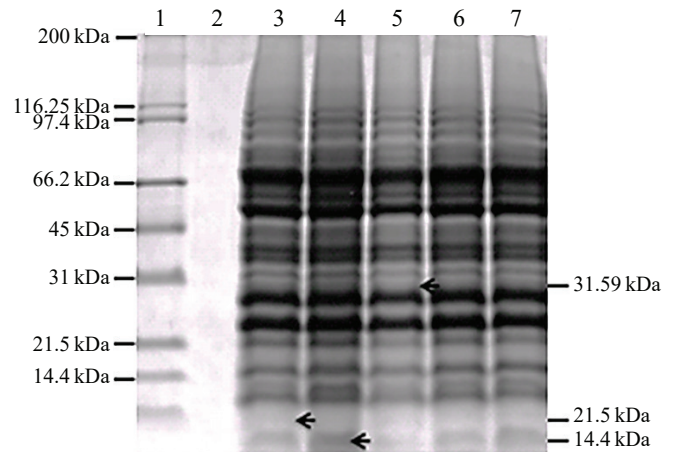


Figura 1. Patrones electroforéticos de maíz Bofo con acondicionamiento osmótico (embrión), a la izquierda se señalan los marcadores de peso molecular. Carril 1, MPM; carril 2, vacío; carril 3, testigo; carril 4, PEG 6 h; carril 5, PEG 12 h; carril 6, KNO₃+AG₃, 6 h; carril 7, KNO₃+AG₃, 12 h. Con flechas se señalan bandas diferenciales e indicando los pesos calculados.

Figure 1. Electrophoretic patterns of Bofo maize with osmoconditioning (embryo), on the left are markers of molecular weight. Lane 1, MPM; lane 2, empty; lane 3, control; Lane 4, PEG 6 h; lane 5, PEG 12 h; lane 6, KNO₃+AG₃ 6 h; lane 7, KNO₃+AG₃ 12h. Arrows indicate differential bands and indicating the calculated weights.

Liu *et al.* (2011) reported that the RNAs and proteins required for germination are already found in the endosperm and embryo. It is expected that there will be no conspicuous changes in protein patterns, quantitatively or qualitatively, although maize oleosins gradual degradation during imbibition has been described Tnani *et al.* (2012). Finer fractionation of proteins is required when extracting them and implementing more sensitive techniques for its detection (Wang *et al.*, 2016). Wu *et al.* (2012) extracted prolaminas

Conclusiones

La semilla de la raza Bofó sometida a hipoxia por exceso de agua (soak test) mostró un efecto positivo en la germinación en los tratamientos de PEG 12 h y KNO_3+AG_3 6 h. Los tratamientos tuvieron un efecto positivo sobre la longitud de plúmula y radícula al cuarto día y se mantuvo en esta última al séptimo día.

En la raza Elotes Occidentales, el tratamiento con PEG a 6 y 12 h tuvo un efecto positivo sobre la germinación cuando las semillas se sometieron a hipoxia. El PEG a 6 h y el KNO_3+AG_3 a los dos tiempos de incubación tuvieron un efecto positivo sobre la longitud de plántula al cuarto día.

Todos los tratamientos mostraron efecto positivo sobre la longitud de plántula al séptimo día. En la prueba de vigor, el KNO_3+AG_3 a 12 h y el PEG 12 h tuvieron un efecto positivo sobre la longitud de plúmula y radícula, en ambas razas. La proteína extraída de semilla completa de la raza Bofó fue mayor al testigo en los tratamientos de PEG 6 y 12 h y KNO_3+AG_3 6 y 12 h. En la raza Elotes Occidentales se extrajo más proteína de embrión, endospermo y semilla completa en el tratamiento con KNO_3+AG_3 12 h. La titulación de acidez en la raza Bofó, en semilla completa, se hallaron más especies ácidas en el testigo, que se trasladó con KNO_3+AG_3 12 h, en el embrión, el tratamiento con PEG 12 h disminuyó la cantidad de acidez titulable. En el endospermo disminuyó la cantidad de acidez titulable con PEG 6 h. Para la raza Elotes Occidentales se registró una disminución en semilla completa con PEG 6 h y los dos tratamientos con KNO_3+AG_3 . En embrión se incrementó la acidez titulable en todos los tratamientos.

Literatura citada

- Afify, A. E. M. M. R.; El-Beltagi, H. S.; Abd El-Salam, S. M. and Omran, A. A. 2012. Protein solubility, digestibility and fractionation after germination of sorghum varieties. *PLoS ONE* 7(2): e31154. doi:10.1371/journal.pone.0031154.
- Ahmmad, K. U.; Rahman, M. M. and Ahmed, M. 2014. Effect of osmopriming on the emergence of maize (*Zea mays* L.) seedling. *J. Agric. Res.* 39: 427-435.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analy. Biochem.* (72):248-252.
- Bray, C. M.; Davison, P. A.; Ashraf, M. and Taylor, R. M. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seeds. *Annals Bot.* 185-193.

and non-prolamins from maize grains; the latter give a large number of bands of about 100 to 10 kDa, emphasizing the relative abundance of some bands in certain maize lines.

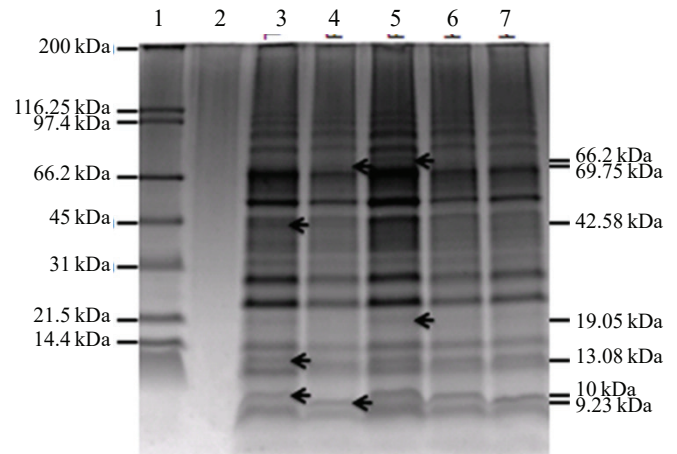


Figura 2. Patrones electroforéticos de maíz Elotes Occidentales con acondicionamiento osmótico (semilla completa) a la izquierda se señalan los marcadores de peso molecular. Carril 1, MPM; 2 vacío; 3 testigo; 4 PEG 6 h; 5 PEG 12 h; 6 KNO_3+AG_3 6 h; 7 KNO_3+AG_3 12 h.

Figure 2. Electrophoretic patterns of Elotes Occidentales maize with osmotic conditioning (full seed) on the left the molecular weight markers are shown. Lane 1, MPM; 2 empty; 3 control; 4 PEG 6 hr; 5 PEG 12 hr; 6 KNO_3+AG_3 6 h; 7 KNO_3+AG_3 12 h.

Conclusions

Seeds of Bofó breed subjected to hypoxia by water excess (soak test) showed a positive effect on the germination in PEG 12 h and KNO_3+AG_3 6 h treatments. The treatments had a positive effect on the plumule and radicle length on the fourth day and remained in the latter up to the seventh day.

In the Elotes Occidentales breed, treatment with PEG at 6 and 12 h had a positive effect on germination when the seeds were subjected to hypoxia. PEG at 6 h and KNO_3+AG_3 in both incubation times had a positive effect on seedling length at the fourth day.

All treatments showed a positive effect on seedling length at the seventh day. In the vigor test, KNO_3+AG_3 at 12 h and PEG 12 h had a positive effect on plumule and radicle length, in both breeds. Protein extracted from whole seed

- Campos, Á. F.; Cruz, G. F.; Torres, E. A., Sánchez, J. M.; Colmenero, F. J. M., Smith, E. C.; Covarrubias, R. A. y Vázquez, R. J. M. 2002. Expresión de genes codificantes para proteína, abundantes en embriogénesis tardía (Lea), durante el osmocondicionamiento de semillas de maíz y frijol. *Agrociencia*. 36(4):461-470.
- Espinosa, C. A.; Tadeo, R. M.; Tinoco, G. L. E.; Martínez, M. R.; Téllez, C.; González, R. I.; Valdivia, B. R.; Caballero, H. F.; Sierra, M. M.; Gómez, M. N.; Palafox, C. A. y Zamudio, G. B. 2009. Épocas de cosecha, productividad y tamaño de semilla con relación al vigor de dos híbridos de maíz. *Agríc. Téc. Méx.* 35 (2):169-177.
- Finch, S. W. E.; Dent, K. C. and 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.
- Gurusinghe, S. and Bradford, K. J. 2001. Galactosyl-sucrose oligosaccharides and potential longevity of primed seed. *Seed Sci. Res.* 11:121-133.
- Harris, D.; Rashid, A.; Miraj, G.; Arif, M. and Shah, H. 2007. On-farm seed priming with zinc-sulphate solution-A cost effective way to increase the maize yields of resource-poor farmers. *Fields Crops Res.* 102:119-127.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2005. International rules for seed testing. Zurich, Switzerland.
- Kubala, S.; Garnczarska, M.; 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.
- Liu, H.; Yang, Z.; Yang, M. and Shen, S. 2011. The differential proteome of endosperm and embryo from mature seed of *Jatropha curcas*. *Plant Sci.* 181:660-666.
- Martínez, S. J. M.; Virgen, V. J.; Peña, O. M. G. y Santiago, R. A. 2010. Índice de velocidad de emergencia en líneas de maíz. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 1(3):289-304.
- Mei, Y. Q. and Song, S. Q. 2008. Early morphological and physiological events occurring during germination of maize seeds. *Agríc. Sci. China.* 7(8):950-957.
- Méndez, N. J. R.; Merazo P. J. F. y Montaña M. N. J. 2008. Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de germinación en semillas de maíz (*Zea mays* L.), caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y quinchoncho (*Cajanus cajan* (L.) Mill.). *Revista UDO.* 8(1):61.
- Moosavi, A.; Afshari, R. T.; Zharif, Z. F. and Ayneband, A. 2009. Seed priming to increase salt and drought stress tolerance during germination in cultivated species of amaranth. *Seed Sci. Technol.* 37:781-785.
- Mora, O. L.; Facio, P. F.; Valdés, O. A.; Torres, T. A. y Gonzales, V. R. 2012. Aceite de orégano (*Lippia berlandieri*) de diferentes orígenes para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky y su efecto en la calidad de semilla de maíz almacenada. *Rev. Agr.* 9(12):49-54.
- Moreno, M. E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología, UNAM. D. F. México, 383 p.
- 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.
- of Bofó breed was higher than the control in PEG 6 and 12 h and KNO₃+AG₃ 6 and 12 h treatments. In Elotes Occidentales breed more protein was extracted from the embryo, endosperm and complete seed in the treatment with KNO₃+AG₃ 12 h. Titration of acidity in Bofó breed, in whole seed, more acidic species in the control were found, which overlapped with KNO₃+AG₃ 12 h, in the embryo, treatment with PEG 12 h decreased the amount of titratable acidity. In the endosperm the amount of titratable acidity decreased with PEG 6 h. Elotes Occidentales breed showed a decrease in full seed with PEG 6 h and both treatments with KNO₃+AG₃. In the embryo the titratable acidity was increased in all treatments.

End of the English version



- Ruiz, T. N. A.; Rincón, S. F.; Bautista, M. V. M.; Martínez, R. J. M.; Burciaga, D. H.C. y Olvera, E. M. 2012. Calidad fisiológica de semilla de dos poblaciones de maíz criollo mejorado. *Rev. Agr.* 9(2):43-48.
- Sánchez, J. A.; Orta, R. y Muñoz, B. C. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agron. Costarric.* 25(1):67-91.
- Schagger, H. and Von, J. G. 1987. Tricine-sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of protein in the range from 1-100 kDa. *Anal. Biochem.* 166:368-379.
- Song, J.; Guo, B.; Song, F.; Peng, H.; Yao, Y.; Zhang, Y. and Sun, Z. N. 2011. Genome-wide identification of gibberellins metabolic enzyme genes expression profiling analysis during seed germination in maize. *Gene.* 482:34-42.
- Sveinsdottir, H.; Yan, F.; Zhu, Y.; Peiter, V. T. and Schubert, S. 2009. Seed ageing-induced imbibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H⁺-ATPase in maize roots. *J. Plant Physiol.* 166:128-135.
- Tiryaki, I. and Buyukcingil, 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 Vicient, C. M. 2012. Quantitative subproteomic analysis of germinating related changes in the scutellum oil bodies of *Zea mays*. *Plant Sci.* 191-192:1-7.
- Valle, M. R.; Covarrubias, P. J.; Ramírez, P. J. G.; Aguirre, M. C. L.; Iturriaga, F. G.; Raya, P. J. C. 2017. Efecto del osmocondicionamiento sobre la germinación del maíz tipo palomero. *Rev. Mex. Cien. Agríc.* 8(2):307-319.
- Wang, X.; Hwang, S. Y.; Cong, W. T.; Li, T. J. and Choi, J. K. 2016. Advanced negative detection method comparable to silver stain for SDS-PAGE separated proteins detection. *Analytical Biochemistry.* 510:21-25.

- Whaid, A.; Sehar, S.; Perveen, M.; Gelani, S.; Basra, S. M. A. and Farooq, M. 2008. Seed pretreatment with hydrogen peroxide improves heat tolerance in maize at germination and seedling growth stages. *Seed Sci. Technol.* 36:633-645.
- Wu, Y.; Wang, W.; Messing, J. 2012. Balancing of sulfur storage in maize seed. *BMC Plant Biol.* 12:77. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-77>.
- Yu, Q. M. and Song, Q. S. 2008. Early morphological and physiological events occurring during germination of maize seeds. *Agric. Sci. China.* 7(8):950-957.
- 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 seedlings under suboptimal soil moisture environments. *PLoS ONE* 10(10):371.