

# TAMAÑO DE SEMILLA, GRANULOMETRÍA DEL SUSTRATO Y PROFUNDIDAD DE SIEMBRA EN EL VIGOR DE SEMILLA Y PLÁNTULA DE DOS MALEZAS

## SEED SIZE, SUBSTRATE GRANULOMETRY AND SOWING DEPTH IN SEED AND SEEDLING VIGOR OF TWO WEEDS

Gerardo Valdez-Eleuterio<sup>1</sup>, Ebandro Uscanga-Mortera<sup>1\*</sup>, Josué Kohashi-Shibata<sup>1</sup>, Rodolfo García-Nava<sup>1</sup>, David Martínez-Moreno<sup>2</sup>, Jesús Torres-García<sup>3</sup>, Antonio García-Esteva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados, 56230. Km. 36.5 Carretera Federal México- Texcoco. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. (euscanga@colpos.mx). <sup>2</sup>Escuela de Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 72592. Colonia Ciudad Universitaria, Puebla, Puebla. <sup>3</sup>Laboratorio de Genética Ecológica y Evolución, Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510. México, D. F.

### RESUMEN

Las malezas producen gran cantidad de semilla que originan nuevas generaciones durante el ciclo del cultivo. Las características biológicas, como el vigor de semilla y plántula, les permiten a las malezas persistir en ambientes desfavorables. El objetivo de esta investigación fue obtener información del vigor de semilla, mediante pruebas fisiológicas de frío, envejecimiento acelerado y germinación estándar en luz y oscuridad; y de plántula con pruebas físicas de emergencia y elongación de la raíz en sustrato con granulometría diferente y dos profundidades de siembra de *Amaranthus hybridus* L. (quintonil) y *Malva parviflora* L. (quesitos), en función del tamaño de semilla. La combinación de las especies, el tamaño de semilla y las pruebas fisiológicas se consideraron un tratamiento y se evaluaron cuatro repeticiones con 25 semillas. En las pruebas físicas, la combinación de especie, tamaño de semilla, granulometría del sustrato y profundidad de siembra constituyó un tratamiento con cuatro repeticiones de cinco semillas. Con datos de todas las pruebas se realizaron ANDEVA múltiples y comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.01$ ). Ambos tamaños de semilla de quintonil presentaron 100 % de viabilidad y las de quesitos 80 %. Después de las pruebas de frío y envejecimiento acelerado, el porcentaje de germinación fue menor con respecto al de la germinación estándar y fue mayor en las semillas de quintonil respecto a las de quesitos ( $p \leq 0.01$ ). No hubo diferencias entre tamaños de semilla dentro de las especies. El porcentaje de emergencia de vástagos provenientes de semillas grandes en las granulometrías media y gruesa sembradas a 1 cm de profundidad fue mayor

### ABSTRACT

Weeds produce a large quantity of seed, which generate several generations during the crop cycle. Their biological characteristics, such as seed and seedling vigor, allow weeds to persist in unfavorable environments. The objective of this study was to obtain information on *Amaranthus hybridus* L. (pigweed) and *Malva parviflora* L. (cheeseweed) seed vigor using physiological cold test, accelerated aging and standard germination in light and darkness and on seedling vigor using a physical test, emergence and root growth in substrates with different granulometries and two seeding depths in function of seed size. The combination of species, seed size, and physiological test constituted one treatment with four replications with 25 seeds. In physical tests, the combination species, seed size, substrate granulometry and sowing depth constituted one treatment with four replications of five seeds. Multiple ANOVAs and the Tukey test of comparison of means ( $p \leq 0.01$ ) were performed with data of all trials. Both sizes of amaranth seed were 100 % viable and cheeseweed seed was 80 % viable. After the cold and accelerated aging tests, germination percentages were lower than those of standard germination and higher in amaranth than in cheeseweed ( $p \leq 0.01$ ). There were no differences between seed sizes within species. Emergence percentage of shoots from large seeds sown 1 cm deep in the medium and coarse granulometries was higher than that from seeds sown in fine substrate 2 cm deep ( $p \leq 0.01$ ). Considering all the factors, final root lengths were similar. Cheeseweed seedlings from large seeds took longer to deplete their reserves than small seeds and amaranth seeds of both sizes. Amaranth was more vigorous than cheeseweed.

\*Autor responsable ❖ Author for correspondence.

Recibido: Enero, 2015. Aprobado: Julio, 2015.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 49: 899-915. 2015.

**Key words:** *Amaranthus hybridus* L., *Malva parviflora* L., stress, temperature, inert substrate, nutrient reserves.

respecto a la fina a 2 cm ( $p \leq 0.01$ ). Al considerar todos los factores, la longitud final de las raíces fue similar. Plántulas de quesitos provenientes de semillas grandes agotaron sus reservas en más tiempo que las pequeñas y las de ambos tamaños de quintonil. Quítonil fue más vigoroso respecto a quesitos.

**Palabras clave:** *Amaranthus hybridus* L., *Malva parviflora* L., estrés, temperatura, sustrato inerte, contenido de reservas.

## INTRODUCCIÓN

Las especies espontáneas que coexisten con las cultivadas son consideradas maleza porque restringen el uso de la tierra y otros recursos necesarios para el desarrollo de las especies cultivadas (Ross y Lembi, 2009). Las malezas pueden producir gran cantidad de semillas, que constituirán las nuevas generaciones antes, durante o después de la especie en cultivo (Jones y Medd, 2000; Molina-Freaner *et al.*, 2008). El conocimiento del vigor de las semillas de las malezas y el contenido de sus reservas, para el crecimiento de la plántula en las etapas postgerminativas, antes de que pueda fotosintetizar, es importante para determinar la respuesta de las semillas a las condiciones del medio (Bewley *et al.*, 2013).

El vigor como criterio para evaluar las semillas surgió para calificar la calidad de los lotes de semillas de especies cultivadas, porque la prueba de germinación por sí sola no ofrece la información adecuada y precisa acerca de la calidad de las semillas en condiciones de campo (AOSA, 2000). Por tal razón, además de la germinación estándar se deben realizar otras pruebas de vigor para establecer diferencias cualitativas entre los lotes de semillas (Alizaga, 1990). De acuerdo con Nogarajan y Pandita (2001), la prueba de vigor de envejecimiento acelerado se utiliza para evaluar la calidad fisiológica de las semillas, ya que se produce un deterioro artificial que puede ser similar al deterioro natural causado por el ambiente en el tiempo. Zaman *et al.* (2010) indicaron que el tamaño de la semilla de una especie influye tanto en la germinación como en la expresión del vigor de la plántula, por lo cual también se deben hacer evaluaciones en la plántula. Además, el empleo de semillas con tamaño diferente en la determinación del vigor puede compensar la variación de algunas condiciones ambientales y la variación en el índice de crecimiento de plántulas de semillas individuales (Bradbeer, 1988).

## INTRODUCTION

Spontaneous species that co-exist with crops are considered weeds because they restrict use of the land and other resources necessary for crop development (Ross and Lembi, 2009). Weeds can produce a large quantity of seeds that give rise to new generations before, during or after crop cultivation (Jones and Medd, 2000; Molina-Freaner *et al.*, 2008). Knowledge of weed seed vigor and their reserve contents for seedling growth in post-germination stages before they can photosynthesize is important in determining seed response to environmental conditions (Bewley *et al.*, 2013).

A test of seed vigor, as the criterion for evaluating seeds, was designed to grade the quality of seed lots of crop species because standard germination tests alone cannot give precise, suitable information on seed quality in field conditions (AOSA, 2000). Therefore, besides the standard germination, other types of vigor tests should also be carried out to establish qualitative differences among seed lots (Alizaga, 1990). According to Nogarajan and Pandita (2001), the accelerated aging test of vigor is used to evaluate physiological seed quality, by producing artificial deterioration similar to that caused naturally by the environment over time. Zaman *et al.* (2010) stated that seed size of a species affects both germination and expression of seedling vigor. For this reason, seedlings should also be evaluated. Moreover, the use of different seed sizes in determining vigor can compensate the variation caused by environmental conditions and variation in the growth index of seedlings from individual seeds (Bradbeer, 1988).

Root growth provides very valuable information for determining vigor since seedlings that develop a better root systems establish more successfully (Bradbeer, 1988). Furthermore, structural adaptations in the roots are related to their ability to penetrate soil pore spaces.

*Amaranthus hybridus* L. and *Malva parviflora* L. grow in the summer and are distributed throughout the Valley of Mexico, at altitudes between 2250 and 3000 m (Rzedowski and Rzedowski, 2005). They are frequently found as roadside, ruderal or agrestal vegetation. As an agrestal weed, *A. hybridus* can decrease bean yield by 43 to 67 % because they compete with the crop during its entire biological cycle (Amini and Ghanepour, 2013). *Malva parviflora*

El crecimiento de la raíz proporciona información muy valiosa para determinar el vigor, debido a que plántulas que desarrollan un sistema radical mejor tienen mayor éxito en el establecimiento (Bradbeer, 1988). Además, las adaptaciones estructurales de las raíces están relacionadas con la capacidad de penetración en los espacios porosos del suelo.

*Amaranthus hybridus* L. y *Malva parviflora* L. crecen en verano y se distribuyen en todo el Valle de México, entre 2250 y 3000 msnm (Rzedowski y Rzedowski, 2005), y con frecuencia se encuentran como viarias, ruderales o arvenses. Como arvense, *A. hybridus* disminuyó el rendimiento de frijol, de 43 a 67 %, en competencia durante todo el ciclo biológico (Amini y Ghanepour, 2013). *Malva parviflora* tiene efectos alelopáticos que reducen la germinación y establecimiento de las plántulas en diversos cultivos (Zahedi y Ansari, 2011). En la literatura revisada no se encontraron estudios acerca del vigor de semilla y plántula de malezas. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar esas características en *A. hybridus* y *M. parviflora*, considerando el tamaño de la semilla, la granulometría del sustrato y la profundidad de siembra.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sitio experimental y material biológico

Este estudio se realizó en el laboratorio de Fisiología Vegetal del Posgrado en Botánica, Campus Montecillo del Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México.

Poblaciones de *A. hybridus* L. y *M. parviflora* L. localizadas en Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 27' 55" N y 98° 54' 19" O), se identificaron con las claves de Rzedowski y Rzedowski (2005). Cuando los frutos llegaron a madurez se recolectaron (de octubre a diciembre de 2012). La semilla de *A. hybridus* se separó en forma manual y para *M. parviflora* se diseñó un cajón y un mango de madera forrados con plástico corrugado, donde por frotación se liberó la semilla del fruto.

### Caracterización de la semilla

Las semillas de ambas especies se cribaron para separarlas por tamaño, en una columna de cuatro tamices metálicos de 20 cm de diámetro y malla con abertura cuadrada, de 1.99, 0.36, 0.25 y 0.03 mm<sup>2</sup> (colocados en forma descendente de mayor a menor).

has allelopathic effects that reduce germination and establishment of seedlings of diverse crops (Zahedi and Ansari, 2011). In the reviewed literature, we found no studies on seed or seedling vigor of weeds. Therefore, the objective of this study was to determine these characteristics in *A. hybridus* and *M. parviflora*, considering seed size, substrate granulometry and sowing depth.

## MATERIALS AND METHODS

### Experimental site and biological material

This study was conducted in the Plant Physiology Laboratory of the Botany Graduate Program, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México.

Populations of *A. hybridus* L. and *M. parviflora* L. located in Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 27' 55" N and 98° 54' 19" W) were identified with the keys of Rzedowski and Rzedowski (2005). When fruits matured, they were collected (October to December 2012). *Amaranthus hybridus* seed was separated manually, whereas for *M. parviflora*, a wooden box with a handle was designed. The box was lined with corrugated plastic over which the fruits were rubbed to release the seeds.

### Seed characterization

To separate seeds by size, seeds of both species were sifted through a column of four metal sieves 20 cm in diameter and mesh with square openings 1.99, 0.36, 0.25 and 0.03 mm<sup>2</sup> (placed in order of descending size).

Four replications of 25 large seeds (*A. hybridus* > 0.36 but < 1.99 mm<sup>2</sup> and *M. parviflora* > 1.99 mm<sup>2</sup>) and four replication of small seeds (*A. hybridus* > 0.25 but < 0.36 mm<sup>2</sup>; *M. parviflora* > 0.36 but < 1.99 mm<sup>2</sup>) were weighed (g) and seed sizes and species were compared. Moreover, the testa (seed coat) was removed from a group of 10 seeds to determine which structure or tissue contained stored reserves. The rest of the seeds were kept in brown paper bags in the laboratory until assessments.

### Viability test

Groups of 30 seeds (each seed was considered an experimental unit) of each species and size were placed on filter paper moistened with distilled water in Petri dishes (plastic) and left to soak for 12 h. The seed coat was then removed with dissection needles under a stereoscopic microscope. A 1 % solution of 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (Sigma) was added and the solution was left to stand for 2 h under laboratory conditions.

Luego, cuatro repeticiones de 25 semillas grandes (*A. hybridus* > 0.36 pero < 1.99 mm<sup>2</sup> y *M. parviflora* > 1.99 mm<sup>2</sup>) y cuatro de pequeñas (*A. hybridus* > 0.25 pero < 0.36 mm<sup>2</sup>; *M. parviflora* > 0.36 pero < 1.99 mm<sup>2</sup>) se pesaron (g) y se compararon entre tamaños de semilla y entre especies. Además, a un grupo de 10 semillas se le quitó la testa para determinar la estructura o tejido donde estaban almacenadas las reservas. El resto de las semillas se conservó en bolsas de papel estraza en condiciones de laboratorio hasta las evaluaciones.

### Prueba de viabilidad

Grupos de 30 semillas (cada semilla fue una unidad experimental) de cada especie y tamaño se colocaron en cajas petri (de material plástico) con papel filtro humedecido con agua destilada y se embebieron por 12 h. Luego, la testa se retiró con agujas de disección en un microscopio estereoscópico; se les agregó una solución de 2, 3, 5-trifenil cloruro de tetrazolio (Sigma) al 1 % y reposaron 2 h, en condiciones de laboratorio. La viabilidad se determinó por la presencia o ausencia de coloración de los tejidos (ISTA, 2014).

### Pruebas de vigor

El vigor en semillas se evaluó con pruebas fisiológicas y en plántulas con pruebas físicas (Navarro *et al.*, 2012).

### Pruebas fisiológicas

#### Germinación estándar en luz y oscuridad

Cuatro grupos (dos de semilla pequeña y dos de grande) con cuatro repeticiones de 25 semillas cada una y de cada especie, se colocaron en cajas petri con papel filtro humedecido con agua destilada. Dos grupos se mantuvieron a 26±2 °C en luz y los otros dos en oscuridad. El número de semillas germinadas se registró diariamente por 10 d.

#### Prueba de frío

Cuatro repeticiones de 25 semillas chicas y grandes de cada especie se colocaron en cajas petri de vidrio, con papel filtro humedecido con agua destilada, y se mantuvieron a 6 °C por 4 d. Luego se colocaron en una cámara con ambiente controlado (Sherer Cel 37-14), a 25 °C, con fotoperiodo de 12 h (ISTA, 2014), y el porcentaje de germinación se evaluó cada día por 35 d.

Viability was determined by the presence or absence of coloring in the tissues (ISTA, 2014).

### Tests of vigor

Seed vigor was determined with physiological tests, and seedling vigor was determined with physical tests (Navarro *et al.*, 2012).

### Physiological tests

#### Standard germination in light and darkness

Four groups (two of small seeds and two of large seeds) with four replications of 25 seeds each and of each species were placed in Petri dishes with filter paper moistened with distilled water. Two groups were kept at 26±2 °C in light and the other two in darkness. The number of germinated seeds was recorded daily for 10 d.

#### Cold test

Four replications of 25 small seeds and 25 large seeds of each species were placed in glass Petri dishes with filter paper moistened with distilled water and maintained at 6 °C for 4 d. After this time, the Petri dishes were placed in a controlled environment chamber (Sherer Cel 37-14) at 25 °C with a photoperiod of 12 h (ISTA, 2014). Germination percentage was determined every day during 35 d.

#### Accelerated aging test

Plastic sandwich boxes with 50 mL of distilled water were used to create an environment of 100 % relative humidity. Groups of four replications of 25 seeds of each species and size were placed in the boxes on a metal screen so there was no direct contact between seeds and water. The boxes were sealed (McDonald and Phaneendranath, 1978) and placed in an oven (Thelco) at 45 °C for 3 d. After this time, the seeds were transferred to Petri dishes lined with moistened filter paper and placed in a controlled environment chamber (Sherer, Cel 37-14) at 25 °C with a photoperiod of 12 h (ISTA, 2014). Germination percentage was recorded every day during 10 d.

### Physical tests

#### Substrate granulometry and sowing depth

Red volcanic tezontle (inert volcanic cinder) substrate was sifted through meshes with 5 and 1 mm openings to obtain three

### Prueba de envejecimiento acelerado

En cajas sandwicheras de plástico se pusieron 50 mL de agua destilada para generar 100 % de humedad relativa. Grupos de cuatro repeticiones de 25 semillas de cada especie y tamaño se colocaron en las cajas sobre una malla metálica para evitar el contacto directo de las semillas y el agua; las cajas se sellaron (McDonald y Phaneendranath, 1978) y se colocaron en una estufa (Thelco) a 45 °C por 3 d. Después, las semillas se transfirieron a cajas petri con papel filtro humedecido y se colocaron en una cámara con ambiente controlado (Sherer, Cel 37-14), a 25 °C con fotoperiodo de 12 h (ISTA, 2014). El porcentaje de germinación se evaluó cada día por 10 d.

### Pruebas físicas

#### Granulometría del sustrato y profundidad de siembra

Tezontle rojo se tamizó a través de mallas con abertura de 5 y 1 mm para obtener tres granulometrías denominadas: fina (partículas < 1 mm), media (1 mm  $\geq$  partículas < 5 mm) y gruesa (partículas  $\geq$  5 mm). El tezontle con los tres tamaños de granulometría se caracterizó con pruebas físicas y químicas y antes de la siembra se esterilizó a 100 °C por 2 h, en una estufa (Thelco).

La porosidad total se obtuvo con la técnica de la densidad real y aparente. El pH se midió con un potenciómetro, el contenido de materia orgánica se obtuvo mediante una curva de titulación y la resistencia a la penetración ( $\text{kg cm}^{-2}$ ) de las diferentes granulometrías (humedecidas) mediante un penetrómetro de punta cónica. Estas pruebas se realizaron de acuerdo con lo establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, para la fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis (Cuadro 1).

Minirizotrones de cristal con marco de madera de 30×17×2.5 cm (longitud, anchura y grosor) se llenaron con

granulometries denominated fine (particles < 1 mm), medium (particles  $\geq$  1 mm < 5 mm) and coarse (particles  $\geq$  5 mm). The tezontle of three granulometric sizes was characterized with physical and chemical tests, and before sowing, it was sterilized in an oven (Thelco) at 100 °C for 2 h.

Total porosity was obtained with the technique of real and bulk density. pH was determined with a potentiometer, organic matter content was obtained with a titration curve, and resistance to penetration ( $\text{kg cm}^{-2}$ ) of the different granulometries (moistened) was determined with a cone probe penetrometer. These tests were performed following the Official Mexican Norm NOM-021-SEMARNAT-2000 for soil fertility, salinity and classification, study, sampling and analysis (Table 1).

Glass minirhizotrons with a wooden frame 30×17×2.5 cm (length, width and thickness) were filled with tezontle of each granulometry. The seeds were sown 1 and 2 cm deep. The minirhizotrons were placed at an angle of 50 to 60° to induce the developing root to adhere to the glass in a dark room. At the start of the test, the tezontle was hydrated to saturation and subsequently maintained by adding water every other day. To quantify the changes, a plastic plate with a 0.5×0.5 mm grid was placed on the minirhizotrons, and photographs of the roots were taken daily. For these tests, four replications and five seedlings per replication in each granulometry and sowing depth were used. The variables evaluated were emergence (%), root length (cm) and days to reserve depletion in darkness (d, the depletion criterion used was loss of shoot turgidity). Rate of emergence (emerged seedlings  $\text{d}^{-1}$ ) (Maguire, 1962) was also calculated.

### Experimental design

A completely randomized design was used with a factorial array of treatments. The factors were: 1) species with two levels (*A. hybridus* and *M. parviflora*); 2) seed size with two levels (large and small); and 3) physiological tests with four levels (standard germination in light and standard germination in darkness, cold

**Cuadro 1. pH, porosidad total, materia orgánica y resistencia a la penetración en las granulometrías fina, media y gruesa del tezontle rojo.**

**Table 1. pH, total porosity, organic matter and resistance to penetration of fine, medium, coarse granulometries of red tezontle.**

Granulometría	pH	Porosidad total (%)	Materia orgánica (%)	Resistencia a la penetración ( $\text{kg cm}^{-2}$ ) <sup>†</sup>
Fina	8.14	52.36	0.24	1.5
Media	8.25	57.25	0.24	2.7
Gruesa	8.25	67.08	0.12	2.1

<sup>†</sup>Tres repeticiones con 12 mediciones. Sin diferencias estadísticas ( $p > 0.01$ ) ❖ <sup>†</sup>Three replications with 12 measurements. Not statistically different ( $p > 0.05$ ).

el tezontle de cada granulometría. Las semillas se sembraron a 1 y 2 cm de profundidad. Los minirizotrones se colocaron inclinados, en ángulo de 50 a 60°, para favorecer que la raíz se desarrollara adherida al vidrio, en un cuarto oscuro. Al inicio de la prueba el tezontle se hidrató a punto de saturación y luego se aplicó agua cada 2 d para mantenerlo húmedo. Para cuantificar los cambios, cada día se tomaron fotografías de las raíces y previamente una placa de material plástico, con cuadrícula de 0.5×0.5 mm, se colocaba encima de los minirizotrones. Para estas pruebas se emplearon cuatro repeticiones y cinco plántulas por repetición en cada granulometría y profundidad de siembra. Las variables evaluadas fueron emergencia (%), longitud de la raíz (cm) y agotamiento de reservas en oscuridad (d, tomando como criterio de agotamiento la pérdida de turgencia del vástago); además, se calculó la velocidad de emergencia (plántulas emergidas d<sup>-1</sup>) (Maguire, 1962).

### Diseño experimental

Un diseño completamente al azar se empleó con un arreglo factorial de tratamientos. Las pruebas fisiológicas se consideraron un tratamiento y se evaluaron mediante el porcentaje de germinación. Los factores fueron: 1) especie con dos niveles (*A. hybridus* y *M. parviflora*); 2) tamaño de semilla con dos niveles (grande y pequeño); y 3) pruebas fisiológicas con cuatro niveles (germinación estándar en luz y germinación estándar en oscuridad, prueba de frío y envejecimiento acelerado). Así, hubo 16 tratamientos, con cuatro repeticiones de 25 semillas cada una. El tamaño de muestra recomendado por el ISTA (2014) es 100 semillas con cuatro repeticiones, pero en nuestro estudio el tamaño de muestra se modificó de acuerdo con lo propuesto para especies silvestres por Bradbeer (1988). Los datos fueron transformados al arco seno previo a los ANDEVA múltiples, y para diferencias significativas se usó la prueba de Tukey ( $p \leq 0.01$ ).

Para las pruebas físicas el diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial, con los factores: 1) especie con dos niveles (*A. hybridus* y *M. parviflora*); 2) tamaño de semilla con dos niveles (grande y pequeño); 3) granulometría del sustrato con tres niveles (fino, medio y grueso); y 4) profundidad de siembra con dos niveles (1 y 2 cm). Cada tratamiento tuvo cuatro repeticiones con cinco semillas. Los datos fueron transformados al arco seno cuando fue necesario y se realizaron ANDEVA múltiples entre los factores y niveles; para diferencias significativas se usó la prueba de Tukey ( $p \leq 0.01$ ).

Los datos fueron analizados y graficados con el programa estadístico PRISM versión 6.01 (GraphPad Software, Inc. 2012).

test and accelerated aging). Thus, the total number of treatments was 16 with four replications of 25 seeds each. The sample size recommended by ISTA (2014) is 100 seeds with four replications, but in this study the sample size was modified according to the proposal of Bradbeer (1988) for wild species. The data were transformed to arc sine prior to the multiple ANOVAs. When significant difference was found, the Tukey test was performed ( $p \leq 0.01$ ).

For the physical tests, a completely randomized design was used with a factorial array of treatments, in which the factors were: 1) species with two levels (*A. hybridus* and *M. parviflora*); 2) seed size with two levels (large and small); 3) substrate granulometry with three levels (fine, medium and coarse); and, 4) sowing depth with two levels (1 and 2 cm). Each treatment had four replications of five seeds. The data were transformed to arc sine when necessary, and multiple ANOVAs were performed between factors and levels. When significant differences were found, the means were compared with the Tukey test ( $p \leq 0.01$ ).

Data were analyzed and graphed with the statistical software PRISM, version 6.01 (GraphPad Software, Inc. 2012).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Seed characterization

*Amaranthus hybridus* seeds store their reserves in the endosperm (albuminous), while *M. parviflora* seeds have reserves in the cotyledons (exalbuminous). The small and large seeds of each species had differences in weight. *Malva parviflora* seeds were larger than those of *A. hybridus* (Table 2). This may be associated with a larger quantity of reserves.

Seeds of the genus *Amaranthus* contain a large amount of starch, between 50 and 60 % of the seed's dry weight (Parra and Délano, 2012), and is thus of the albuminous type. Espitia *et al.* (2012) pointed out that *Amaranthus* spp. seeds at physiological maturity found in the last dichasia are generally smaller than those in the first. Moreover, Gepts (2004) stated that, for the two species, heritability of seed size is generally high. For this reason, we assumed that the seed weights and sizes obtained in our study would be different from those of other populations.

### Viability test

Seeds of both sizes of *A. hybridus* were 100 % viable, whereas *M. parviflora* seeds of both sizes were 80 % viable.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de la semilla

Las semillas de *A. hybridus* almacenaron sus reservas en el endospermo (albuminosas) y las de *M. parviflora* en los cotiledones (exalbuminosas). Las semillas pequeñas y grandes dentro de cada especie presentaron diferencias en el peso. Las semillas de *M. parviflora* fueron más grandes que las de *A. hybridus* (Cuadro 2), lo cual puede estar asociado con una mayor cantidad de reservas.

Las semillas del género *Amaranthus* contienen una cantidad alta de almidón, entre 50 y 60 % del peso seco de las semillas (Parra y Délano, 2012), por lo cual es del tipo albuminosa. Espitia *et al.* (2012) señalaron que las semillas de *Amaranthus* spp. en madurez fisiológica y en los últimos días, generalmente son de menor tamaño con respecto a las de los primeros. Además, Gepts (2004) indicó, para ambas especies, que la heredabilidad del tamaño de la semilla es alta, por lo cual se infiere que los pesos y tamaños de semilla obtenidos en nuestro estudio serán diferentes a los de otras poblaciones.

### Prueba de viabilidad

Las semillas de ambos tamaños de *A. hybridus* tuvieron 100 % de viabilidad y 80 % las de ambos tamaños de *M. parviflora*.

## Physiological tests

### Standard germination in light and darkness

#### *Amaranthus hybridus* L.

Large and small seeds that germinated under light had similar percentages of germination at 10 d. When they were germinated in darkness, on the first day the germination percentage of small seeds was higher than that of large seeds. However, on day 10, there were no longer any differences ( $p > 0.01$ ) between seed sizes (Figure 1). Germination percentage under light was lower than in darkness ( $p \leq 0.01$ ). This result does not agree with those obtained by Gallagher and Cardina (1998) with *A. hybridus*, since light affected germination only of latent seeds and the higher percentage of germination was obtained in the condition with light, compared with that of darkness at 20 °C. Inhibition of germination by light ( $p \leq 0.01$ ), regardless of seed size, was confirmed. Moreover, the remainder of the seeds (non-germinated) were viable when the viability test was conducted after standard germination.

#### *Malva parviflora* L.

Under light and in darkness, germination of both sizes of *M. parviflora* seed was slow, probably due to seed coat impermeability, which restricted entry of water. Baskin and Baskin (2004) pointed out that seeds of the Malvaceae family imbibe

**Cuadro 2. Tipo, tamaño (mm) y peso (mg) de 25 semillas de *Amaranthus hybridus* L. y *Malva parviflora* L.**

**Table 2. Type, size (mm) and weight (mg) of 25 *Amaranthus hybridus* L. and *Malva parviflora* L. seeds.**

Especie	Tipo de semilla	Tamaño de semilla (mm)	Peso de 25 semillas (mg) <sup>‡</sup>
<i>A. hybridus</i> L.	Albuminosa	Grande >1.0	19.2 a <sup>†</sup>
		Pequeño <1.0	11.5 b
<i>M. parviflora</i> L.	Exalbuminosa	Grande >1.4	39.5 c
		Pequeño <1.4	24.0 d

<sup>†</sup>Medias en una columna con letra diferente son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.01$ ). <sup>‡</sup>Cuatro repeticiones de 25 semillas ❖ <sup>†</sup>Means in a column with different letters are statistically different ( $p \leq 0.05$ ). Four replications of 25 seeds.

## Pruebas fisiológicas

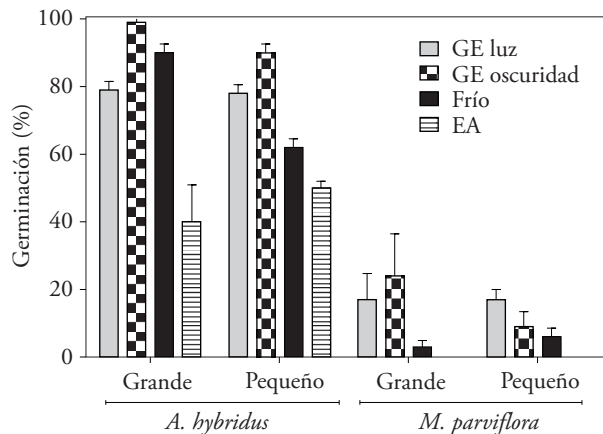
### Germinación estándar en luz y oscuridad

#### *Amaranthus hybridus* L.

Las semillas grandes y pequeñas, embebidas en presencia de luz, alcanzaron porcentajes de germinación similares a los 10 d. Cuando se embebieron en oscuridad, en el primer día el porcentaje de germinación de las semillas pequeñas fue mayor que el de las grandes; pero el día 10 ya no hubo diferencias ( $p > 0.01$ ) entre los tamaños de semilla (Figura 1). El porcentaje de germinación en luz fue menor que en oscuridad ( $p \leq 0.01$ ). Estos resultados no concuerdan con los obtenidos por Gallagher y Cardina (1998) con *A. hybridus*, ya que la luz influyó sólo en la germinación de las semillas latentes y el porcentaje mayor de germinación fue con luz, comparado con oscuridad a 20 °C. La inhibición de la germinación por la luz ( $p \leq 0.01$ ) independiente del tamaño de semilla se confirmó; además, el remanente de semillas fue viable al realizar la prueba de viabilidad posterior a la germinación estándar.

#### *Malva parviflora* L.

En luz y oscuridad la germinación ocurrió pausada en ambos tamaños de semilla de *M. parviflora*, probablemente debido a la restricción para el ingreso de agua por impermeabilidad de la testa. Baskin y Baskin (2004) señalaron la imbibición menor por impermeabilidad de la testa en las semillas de la familia Malvaceae. Además, el porcentaje de germinación fue menor con respecto al de viabilidad (80 %). La dinámica y el porcentaje de germinación en oscuridad, fue similar que con luz ( $p > 0.01$ ), e independiente del tamaño de semilla (Figura 1). Michael *et al.* (2006) señalaron que las semillas de esta especie presentan latencia física, ya que una vez escarificadas germinan en un intervalo de temperaturas de 5 a 37 °C, lo cual concuerda con el porcentaje bajo de germinación en nuestro estudio. Sumner y Cobb (1967) indicaron que aunada a este tipo de latencia están presentes sustancias inhibitorias de la germinación en los embriones de semillas de *M. parviflora*. Cauhan *et al.* (2006) obtuvieron 5 % de germinación en semillas sin tratamiento pregerminativo y fue independiente de la condición con luz



**Figura 1.** Porcentaje de germinación estándar (GE) en luz y oscuridad, después de la prueba de frío y del envejecimiento acelerado (EA) en semillas de *Amaranthus hybridus* L. y *Malva parviflora* L. Los datos son las medias  $\pm$  E.E. de cuatro repeticiones con 25 semillas cada una.

**Figure 1.** Percentage of standard germination (GE) in light, darkness, after the cold test and accelerated aging (EA) of *Amaranthus hybridus* L. and *Malva parviflora* L. seeds. The data are means  $\pm$  S.E. of four replications with 25 seeds each.

less because of their impermeable seed coat. Moreover, the percentage of germination was lower than that of viability (80 %). The dynamics and percentage of germination in darkness were similar to those in light ( $p > 0.01$ ), regardless of seed size (Figure 1). Michael *et al.* (2006) stated that seeds of this species undergo physical dormancy since, once they are scarified, they germinate in an interval of temperatures from 5 to 37 °C. This is in agreement with the low percentage of germination in our study. Sumner and Cobb (1967) indicated that in addition to this type of dormancy, substances inhibiting germination are present in *M. parviflora* seed embryos. Cauhan *et al.* (2006) obtained 5 % germination of seeds with no pre-germination treatment regardless of light or dark conditions, results that partially agree with those of our study.

The above explains the success of the species of our study to germinate in a diversity of environmental conditions, with no specific identifiable factor. In this respect, Ziller (2001) indicated that exotic plants successfully colonize many ecosystems, especially when they have all the characteristics of the native species, which are displaced.



u oscuridad, lo cual concuerda parcialmente con lo de nuestro estudio.

Lo anterior explica el éxito de las especies de nuestro estudio en diversas condiciones ambientales, sin especificidad identificable por un factor determinado, para germinar. Al respecto, Ziller (2001) indicó que las plantas exóticas colonizan exitosamente varios ecosistemas, sobre todo si cuentan con características propias de especies colonizadoras pioneras y al colonizar desplazan a las especies nativas.

Harlan (2010) concluyó que las especies que se adaptan mejor a los hábitats artificiales nuevos son las cultivadas y la maleza, como consecuencia del “síndrome de domesticación” y el “síndrome de adaptación” respectivamente, provocados por las presiones de selección. Por lo cual, considerando las diferencias entre el porcentaje de viabilidad y de germinación, ambas especies de maleza estudiadas mostraron cierto grado de latencia como resultado de la coevolución cultivo-maleza.

### Prueba de frío

#### *Amaranthus hybridus* L.

Ambos tamaños de semilla comenzaron a germinar un día después del periodo frío y las semillas pequeñas tuvieron un porcentaje ligeramente mayor que las grandes; pero, en el segundo día, la relación se invirtió y las diferencias se mantuvieron por 32 d después del enfriamiento ( $p \leq 0.01$ ). El porcentaje de germinación disminuyó con respecto a la germinación estándar en oscuridad, con excepción de la semilla grande (Figura 1).

#### *Malva parviflora* L.

La germinación comenzó 4 d después del periodo de frío en ambos tamaños de semilla. La tendencia y el porcentaje de germinación fueron similares ( $p > 0.01$ ). Además, igual que *A. hybridus*, en *M. parviflora* se redujo el porcentaje de germinación con respecto al de la germinación estándar (Figura 1). Los resultados de nuestra investigación son opuestos a los obtenidos por Cauhan *et al.* (2006) con semillas de *M. parviflora* enfriadas (5 °C) durante 10, 20, 30 y 40 d y sin enfriar; ellos no obtuvieron diferencias en el porcentaje de germinación ya que fue similar a la prueba de germinación estándar. Lo anterior

Harlan (2010) concluded that the species that adapt better to new artificial habitats are cultivated species and weeds, a consequence of the “domestication syndrome” and the “adaptation syndrome”, respectively, which are driven by selection pressure. Considering the differences between percentage of viability and percentage of germination, both weed species studied exhibited a certain degree of dormancy, the result of crop-weed co-evolution.

### Cold test

#### *Amaranthus hybridus* L.

Both sizes of seed began germinating one day after the cold period, and small seeds had a slightly higher percentage than large seeds. However, on the second day, the relationship inverted and the differences remained for 32 d after cooling ( $p \leq 0.01$ ). The percentage of germination decreased relative to standard germination in darkness, with the exception of large seed (Figure 1).

#### *Malva parviflora* L.

Germination of seed of both sizes began 4 d after the cold period. The tendency and percentage of germination were similar ( $p > 0.01$ ). Moreover, like *A. hybridus*, *M. parviflora* had a reduction in germination percentage compared to standard germination (Figure 1). The results of our study are opposed to those obtained by Cauhan *et al.* (2006) with *M. parviflora* seeds cooled (5 °C) for 10, 20, 30 and 40 d and seeds that were not cooled. They found no differences between germination after a cold period and the standard germination test. This suggests that stratification did not decrease dormancy of these seeds. The differences between the results of Cauhan *et al.* 2006 and ours are due to the periods of stratification. In addition, in our study, stratification may have induced secondary dormancy, which decreased germination percentage relative to standard germination. At low temperatures, metabolic activity in the seeds decreases, leading to a reduction in germination. However, seed longevity in these conditions can increase (Doria, 2010).

It should be pointed out that the percentages of germination were different ( $p \leq 0.01$ ) between the

permite concluir que la estratificación no disminuyó la latencia de esas semillas. Las diferencias entre los resultados de Cauhan *et al.* (2006) y los de nuestro estudio se deben a los periodos de estratificación. Aunado a esto, en nuestra investigación la estratificación pudo haber inducido latencia secundaria la cual disminuyó el porcentaje de germinación respecto a la germinación estándar. Las semillas a temperaturas bajas reducen su actividad metabólica y se traduce en la reducción en el porcentaje de germinación. Pero, las semillas almacenadas en estas condiciones pueden aumentar su longevidad (Doria, 2010).

Debe señalarse que los porcentajes de germinación entre las especies fueron diferentes ( $p \leq 0.01$ ), y en *A. hybridus* fue mayor que en *M. parviflora*, en ambos tamaños de semilla.

### Envejecimiento acelerado

Sólo las semillas de *A. hybridus* presentaron germinación, iniciando el primer día después del envejecimiento acelerado y los porcentajes de germinación finales fueron similares (Figura 1). En contraste con la germinación estándar y la prueba de frío, las semillas pequeñas alcanzaron porcentajes de germinación mayores que las grandes. Además hubo disminución drástica en el porcentaje de germinación respecto a la germinación estándar en luz y oscuridad ( $p \leq 0.01$ ) en ambos tamaños de semilla (Figura 1). Omami *et al.* (1999) observaron que la germinación mínima de las semillas de *A. retroflexus* ocurrió entre 21 y 22 °C, mientras que el máximo fue entre 8 y 10 °C. En nuestra investigación, la ocurrencia de la germinación pudo deberse a algunas propiedades relacionadas con la testa o con el tipo de reservas almacenadas, las cuales pudieron ayudar a mantener la integridad de las semillas, ya que en semillas de amaranto existen por lo menos 13 inhibidores de tripsina (proteasas) con una elevada termoestabilidad, por lo que pueden conservar el 20 % de su funcionalidad inicial aún después de estar sometidas a 100 °C por 7 h (Koeppel *et al.*, 1985).

Salinas *et al.* (2001) indicaron que la prueba de germinación estándar después de envejecimiento acelerado puede ayudar a clasificar el vigor de lotes de semillas. Los lotes envejecidos artificialmente y con germinación mayor a 80 % se consideran con vigor alto, entre 60 a 80 % con vigor medio, y con vigor bajo es menos de 60 %.

two species. *A. hybridus* had higher percentages than *M. parviflora* with both seed sizes.

### Accelerated aging

Only *A. hybridus* seeds showed germination starting on the day following accelerated aging, and final germination percentages of both seed sizes were similar (Figure 1). Unlike standard germination and the cold test, small seeds had a higher germination percentage than large seeds. Moreover, there was a drastic decrease in germination percentage relative to standard germination in light and darkness ( $p < 0.01$ ) with both sizes of seed (Figure 1). Omami *et al.* (1999) observed that the lowest percentage of germination of *A. retroflexus* occurred between 21 and 22 °C, whereas the highest percentage was found between 8 and 10 °C. In our study, germination might be due to seed coat-related properties or to the type of stored reserves, which may have aided in maintaining seed integrity. In amaranth seeds, there are at least 13 highly thermostable trypsin inhibitors (proteases). For this reason, they are capable of conserving 20 % of their initial functioning even after subjection to a temperature of 100 °C for 7 h (Koeppel *et al.*, 1985).

Salinas *et al.* (2001) stated that the standard germination test after accelerated aging can help to classify the vigor of seed lots. Artificially aged lots that have germination above 80 % are considered highly vigorous, while germination between 60 and 80 % is considered medium vigor, and low vigor is below 60 %.

The results of standard germination, cold test and accelerated aging showed that *A. hybridus* had higher percentages of germination. These highly vigorous seeds can germinate in natural conditions with greater resistance to adverse environments, predominating over *M. parviflora*.

### Physical tests

#### Emergence in different granulometries and sowing depths

*Amaranthus hybridus* L.

Emergence of seedlings from small seed started on the 4th day after sowing (das), except in medium and fine granulometry at a depth of 2 cm where

Los resultados de germinación estándar, prueba de frío y envejecimiento acelerado mostraron que *A. hybridus* tuvo los porcentajes de germinación mayores. Así el vigor mayor de estas semillas les permite germinar en condiciones naturales favorables y adversas, y predominan sobre *M. parviflora*.

### Pruebas físicas

#### Emergencia en granulometría y profundidad de siembra diferentes

##### *Amaranthus hybridus* L.

En semillas pequeñas, la emergencia de vástagos comenzó 4 d después de la siembra (dds), excepto en la granulometría media y fina a profundidad de 2 cm, donde la emergencia ocurrió 7 dds; esas diferencias fueron significativas ( $p \leq 0.01$ ). En la dinámica de emergencia hasta la pérdida de turgencia de las plántulas (10 dds) se presentaron semejanzas en las tres granulometrías y las dos profundidades de siembra, excepto en la granulometría media a 2 cm de profundidad, donde el porcentaje de emergencia fue menor (Figura 2).

El inicio de la emergencia de las plántulas provenientes de las semillas grandes comenzó aproximadamente entre 4 y 5 dds en todas las granulometrías y profundidades de siembra, y fue ligeramente mayor en la granulometría gruesa a 1 y 2 cm de profundidad. Después, la dinámica de emergencia se homogenizó hasta el momento de la pérdida de turgencia (12 dds) sin diferencias significativas (Figura 2) ni aún en el porcentaje de emergencia final. La emergencia escasa de plántulas de las semillas pequeñas en la granulometría media a 2 cm de profundidad parece deberse al tamaño menor de los poros en el tezontle, que podrían haber obstaculizado la emergencia del vástago, ya que también la granulometría fina a 2 cm (granulometría con la porosidad total menor) presentó disminución en la dinámica de emergencia con respecto a las tres granulometrías a 1 cm de profundidad. Pero, no se obtuvieron diferencias en los porcentajes finales de emergencia. Al respecto, Harrison *et al.* (2007) mencionaron que la distribución vertical del banco de semillas en el suelo tiene una función importante en la probabilidad de emergencia de las plántulas. En nuestro estudio la profundidad de siembra pudo ser determinante en la emergencia de las plántulas.

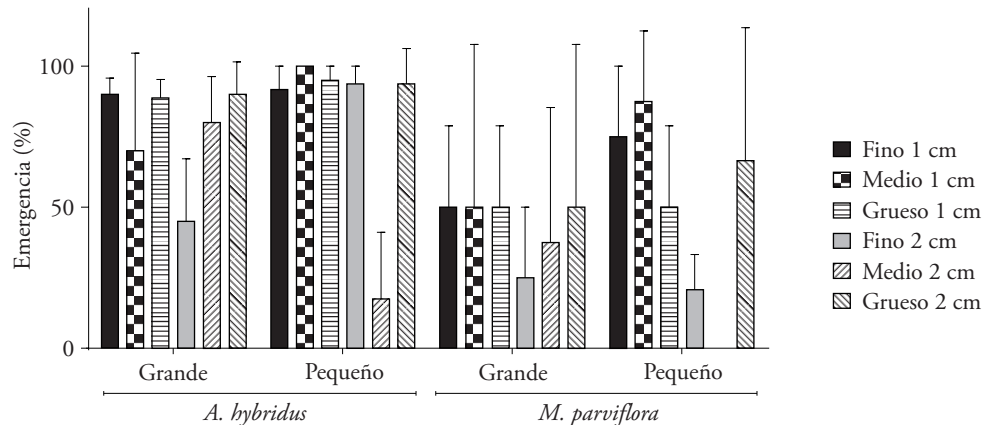
emergence did not begin until the 7th das. These differences in emergence dynamics were significant ( $p \leq 0.01$ ). In the emergence dynamics, up to loss of seedling turgidity (10 das), similarities occurred in the three granulometries and the two sowing depths, except in medium granulometry at 2 cm depth where emergence percentage was lower (Figure 2).

Seedlings from large seeds began to emerge on the 4th and 5th das in all of the granulometries and sowing depths but emergence was slightly higher in coarse granulometry at 1 and 2 cm deep. Afterward, emergence dynamics became uniform until loss of turgidity (12 das), with no significant differences (Figure 2) even in final emergence percentage. The low emergence of seedlings from small seeds in medium granulometry at 2 cm sowing depth seems to be due to the smaller pores in the tezontle, which may have obstructed shoot elongation. In fine granulometry (the lowest total porosity) at 2 cm, emergence dynamics decreased, relative to the three granulometries at 1 cm deep. However, there were no differences in final emergence percentages. In this respect, Harrison *et al.* (2007) mentioned that the vertical distribution of the seed bank in the soil plays an important role in the probability of seedling emergence. In our study, sowing depth may have been determinant for seedling emergence.

The absence of differences in final shoot emergence percentages, considering all the factors, may indicate that, regardless of the reserve content (larger seeds), the small seeds are equally vigorous and their seedlings make their way through the tezontle. This may be related to the type of stored nutrients.

##### *Malva parviflora* L.

Emergence from small seeds began between the 4th and 5th das. It was higher in coarse granulometry at 1 and 2 cm deep, although later it became more uniform, and at the end there were no differences in emergence dynamics among granulometries and sowing depths until loss of turgidity (14 das). An exception occurred with medium granulometry at 2 cm deep in which there was no emergence (Figure 2). Emergence dynamics varied more with large seeds, beginning 3 das in medium and coarse granulometries at 1 cm deep. In the rest of the granulometries at 1 cm sowing depth and all granulometries at 2 cm sowing depth, emergence occurred on the 4th and 5th das.



**Figura 2.** Porcentajes de emergencia de *Amaranthus hybridus* L. y *Malva parviflora* L. con tamaños de semilla, granulometría del sustrato y profundidad de siembra diferentes. Los datos son las medias  $\pm$  E.E. de cuatro repeticiones de cinco plántulas cada una.

**Figure 2.** Emergence percentages of *Amaranthus hybridus* L. and *Malva parviflora* L. with different seed sizes, substrate granulometries and sowing depths. The data are means  $\pm$  S.E. of four replications of five seedlings each.

La ausencia de diferencias en el porcentaje final de emergencia de vástagos, considerando todos los factores, puede indicar que independientemente del contenido de reservas (semillas más grandes) las pequeñas tienen el mismo vigor y sus plántulas se abren paso a través del tezontle. Esto puede estar relacionado con el tipo de nutrientes almacenados.

#### *Malva parviflora* L.

El inicio de la emergencia de plántulas provenientes de semillas pequeñas se observó entre el cuarto y quinto dds, y fue mayor en la granulometría gruesa a 1 y 2 cm de profundidad, aunque después la emergencia se homogenizó y al final no hubo diferencias en la dinámica de emergencia hasta el momento de la pérdida de turgencia (14 dds) entre las granulometrías y las profundidades de siembra, con excepción de la media a profundidad de 2 cm, en la que no hubo emergencia (Figura 2). Con plántulas de la semilla grande hubo variación mayor en la dinámica de emergencia, que comenzó al tercer dds en las granulometrías media y gruesa a 1 cm de profundidad, mientras que en el resto de las granulometrías y a 2 cm de profundidad de siembra ocurrió entre el cuarto y quinto dds; pero, en la dinámica de emergencia, hasta el momento de la pérdida de turgencia (22 dds), en el porcentaje de emergencia final no se observaron diferencias significativas (Figura 2).

However, there were no significant differences in emergence dynamics, until loss of turgidity (22 das) or in percentage of emergence (Figure 2).

As with *Amaranthus* seedlings from large seeds, with large and small *Malva* seeds there were no differences in final emergence percentages. This, together with dormancy, was documented by Baskin and Baskin (2004) and Michael *et al.* (2006). For these reasons, the lack of significant differences among granulometries and between sowing depths may be due to low germination (less than 64 %). In this regard, Childs *et al.* (2010) indicated that germination responses can vary among species and even among seed lots of the same species, because this type of plant has developed diverse reactions to conditions of germination. Our results coincide partially with those reported by Cauhan *et al.* (2006), who indicated that *M. parviflora* seedling emergence was in function of sowing depth, showing the highest emergence percentage between 0.5 and 2 cm deep, which decreased as sowing depth increased.

Rastegar *et al.* (2011) stated that small soybean (*Glycine max* cv. DPX) seeds had better germination uniformity than large seeds since the small seeds transfer a larger percentage of reserves to growing seedlings. Besides, increments in emerged seedling density depend on seed age or maturity, temperature and degree of adaptation of the species to the conditions of a given region (Schutte *et al.*, 2013).

Igual que en las plántulas de las semillas grandes de *Amaranthus*, en las plántulas de las semillas grandes y pequeñas de *Malva* no se observó diferencia en el porcentaje de emergencia final. Esto, aunado a la latencia, fue documentado por Baskin y Baskin (2004) y Michael *et al.* (2006). Debido a lo anterior, la falta de diferencias significativas entre las granulometrías y profundidades de siembra pudo deberse a la germinación baja (menor de 64 %) porque, según Childs *et al.* (2010), las respuestas germinativas pueden variar entre especies e incluso entre lotes de semillas de la misma especie, debido a que este tipo de plantas han desarrollado reacciones diversas a las condiciones de germinación. Nuestros resultados concuerdan parcialmente con los reportados por Cauhan *et al.* (2006), quienes indicaron que la emergencia de las plántulas de *M. parviflora* estuvo en función de la profundidad de siembra, y el porcentaje de emergencia mayor fue de 0.5 a 2 cm de profundidad y disminuyó con su incremento.

Rastegar *et al.* (2011) mencionaron que las semillas de soya (*Glycine max* cv. DPX) de menor tamaño, tuvieron uniformidad mejor en la germinación comparada con las semillas grandes, ya que las pequeñas transfieren un porcentaje mayor de reservas a las plántulas en crecimiento. Además, el incremento en la densidad de plántulas emergidas depende de la edad o madurez de la semilla, la temperatura y el grado de adaptación de una especie a las condiciones de una zona determinada (Schutte *et al.*, 2013).

Respecto a la velocidad de emergencia (Figura 3), los valores en nuestro estudio tienen relación con lo observado en los porcentajes de emergencia finales, es decir, las tasas mayores de emergencia se presentaron en las tres granulometrías con profundidad de 1 cm, comparadas a las de 2 cm. Las tasas de emergencia mayores en *A. hybridus* se presentaron en la granulometría gruesa, a 1 cm de profundidad de siembra y en ambos tamaños de semilla fueron similares. Además, no hubo diferencias en la velocidad de emergencia en los vástagos de las semillas grandes en los factores granulometría del sustrato y profundidad de siembra, pero sí hubo diferencias ( $p \leq 0.01$ ) en los vástagos de las semillas pequeñas entre los factores: media y 1 cm y media y 2 cm; gruesa y 1 cm y fina y 2 cm; y gruesa y 1 cm y media y 2 cm, y los primeros fueron mayores respecto a los segundos. En la misma especie, al considerar los factores tamaño de semilla, granulometría del sustrato y profundidad

Regarding emergence rate (Figure 3), the values presented in our study are related to final emergence percentages; that is, higher emergence rates occurred in the three granulometries at the sowing depth of 1 cm than at 2 cm. The highest emergence rates in *A. hybridus* were observed in coarse granulometry at 1 cm sowing depth, and there were no differences between seed sizes. Moreover, there were no differences in emergence rate of shoots from large seeds for the factors substrate granulometry or sowing depths. Differences ( $p \leq 0.01$ ) were observed, however, in shoots from small seeds in terms of the factors substrate granulometry and sowing depth. Emergence rate was higher in medium granulometry at 1 cm than medium at 2 cm; it was higher in coarse granulometry at 1 cm than in fine at 2 cm, and higher in coarse at 1 cm than medium at 2 cm. In this same species, considering the factors seed size, substrate granulometry and sowing depth, there were significant differences ( $p \leq 0.01$ ) between large seed in fine substrate at 1 cm deep and small seed in medium substrate at 2 cm deep, between small seed in coarse granulometry at 1 cm deep and large seed in fine granulometry at 2 cm deep, between large seed in medium granulometry at 2 cm deep and small seed in medium granulometry at 2 cm deep, between large seed in coarse granulometry at 2 cm deep and small seed in medium granulometry at 2 cm deep. The first of the pairs were higher than the second.

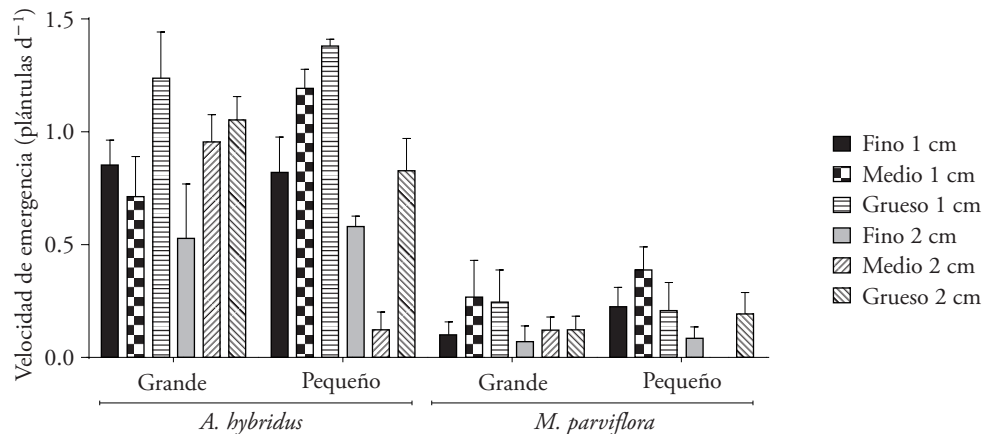
In *M. parviflora*, there were no differences by effect of the factors seed size, substrate granulometry or sowing depth.

Considering the factors species, seed size, substrate granulometry and sowing depth, seedlings from both seed sizes of *A. hybridus* had higher emergency rates than *M. parviflora* seedlings in all of the substrates and sowing depths, suggesting that seedlings from *A. hybridus* seeds are more vigorous.

### Root growth and reserve depletion

#### *Amaranthus hybridus* L.

Small and large seeds produced seedling with roots around 20 and 30 mm long 12 das in all of the granulometries and sowing depths with similar growth dynamics, and therefore, there were no significant differences. However, the reserves in seedlings from large seeds lasted up to 12 das,



**Figura 3. Velocidad de emergencia de *Amaranthus hybridus* L. y *Malva parviflora* L. con tamaño de semilla, granulometría del sustrato y profundidad de siembra diferentes. Los datos son las medias  $\pm$  E.E. de cuatro repeticiones de cinco plántulas cada una.**

**Figure 3. Emergence rate of *Amaranthus hybridus* L. and *Malva parviflora* L. with different seed sizes, substrate granulometries and sowing depths. The data are means  $\pm$  S.E. of four replications of five seedlings each.**

de siembra hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.01$ ) entre los factores semilla grande en la granulometría fina a 1 cm de profundidad y semilla pequeña en la granulometría media a 2 cm de profundidad; en la semilla pequeña en la granulometría gruesa a 1 cm de profundidad y semilla grande en granulometría fina a 2 cm de profundidad; en semilla grande en la granulometría media a 2 cm de profundidad, y la semilla pequeña en la granulometría media a 2 cm de profundidad; en semilla grande en la granulometría gruesa a 2 cm de profundidad y la semilla pequeña en la granulometría media a 2 cm de profundidad; y los primeros fueron mayores respecto a los segundos.

En *M. parviflora* no se observaron diferencias debido a los factores tamaño de semilla, granulometría del sustrato y profundidad de siembra.

Al considerar los factores especie, tamaño de semilla, granulometría del sustrato y profundidad de siembra, ambos tamaños de semilla de *A. hybridus* mostraron velocidad de emergencia mayor con respecto a *M. parviflora* en todas las granulometrías y profundidades de siembra, lo cual indicaría también que las plántulas de las semillas de la primera son más vigorosas.

### Crecimiento de raíz y agotamiento de reservas

#### *Amaranthus hybridus* L.

Las semillas pequeñas y grandes 12 dds produjeron plántulas con raíces alrededor de 20 y 30 mm

2 d longer than the reserves of seedlings from small seeds (at 10 das). This may indicate that, regardless of seed size, the seedling assigns the same amount of nutrients and energy to root formation, thus guaranteeing anchorage and adequate absorption of nutrients so that once the shoot emerges, the process of photosynthesis begins. This should be corroborated experimentally.

#### *Malva parviflora* L.

The longest root of seedlings from small seeds was around 30 mm, while those from large seeds were around 45 mm. The same dynamics occurred in all of the granulometries and sowing depths, with no significant differences. Reserves depleted in small and large seeds 14 and 22 das, respectively, but apparently, root length was slightly longer in this species than in *A. hybridus*. The longest root lengths were produced in coarse granulometry at 1 cm deep and in medium granulometry at 2 cm deep, while the shortest grew in the treatments with fine granulometry at both sowing depths. This coincides with Bravo and Florentino (1997) who, after evaluating mechanical resistance of a clay loam soil with a cone penetrometer, pointed out that strong resistance to emergence can exist because of compaction, but resistance to root growth is low in the top 10 cm. The lack of differences in root length in different granulometries (Figure 4) may also have been caused by the effect of root diameter.

de longitud, en todas las granulometrías y profundidades de siembra, con dinámica de crecimiento similar, y no hubo diferencias significativas. Pero el agotamiento de reservas en las plántulas provenientes de semillas grandes (a los 12 dds) se prolongó 2 d más respecto a las de semillas pequeñas (a los 10 dds).

Lo anterior puede indicar que, independientemente del tamaño de la semilla, la plántula asigna la misma cantidad de reservas y energía a la formación de la raíz, lo que garantiza el anclaje y absorción adecuados de nutrientes para que una vez emergido el vástago, inicie el proceso fotosintético. Lo anterior debe corroborarse experimentalmente.

#### *Malva parviflora* L.

En las semillas pequeñas, la longitud máxima de la raíz de las plántulas fue alrededor de 30 mm, y 45 mm con la semilla grande. La misma dinámica ocurrió en todas las granulometrías y profundidades de siembra, sin diferencias significativas. El agotamiento de reservas en las semillas pequeñas y grandes se presentó 14 y 22 dds, respectivamente, pero aparentemente la longitud de las raíces fue ligeramente mayor en esta especie respecto a *A. hybridus*. Las longitudes máximas se presentaron en la granulometría gruesa a 1 cm de profundidad y en la granulometría media a 2 cm de profundidad; las longitudes mínimas se produjeron en los tratamientos con la granulometría fina en ambas profundidades de siembra. Esto coincidió con lo reportado por Bravo y Florentino (1997), quienes después de evaluar la resistencia mecánica de un suelo franco arcilloso con un penetrómetro de punta cónica, señalaron que puede existir resistencia elevada para la emergencia por compactación, pero la resistencia a la elongación de la raíz puede ser baja en los primeros 10 cm de profundidad. La ausencia de diferencias en la longitud de las raíces en las diferentes granulometrías (Figura 4) también pudo ser causada por el diámetro de las raíces. Al respecto, Pierret *et al.* (2005) argumentaron que cuando se desarrollan raíces en suelos densos (compactos), con tamaño reducido de los poros, la colonización es por raíces de diámetro pequeño.

La diferencia en el tiempo para agotar las reservas en los tamaños de semilla, es importante para la sobrevivencia y establecimiento de las plántulas. Al respecto, Caddick y Linder (2002) indicaron que algunas especies tienden a incrementar el peso de

In this respect, Pierret *et al.* (2005) argued that roots with small diameters are those that develop in dense (compact) soils with small pores.

The difference in time to deplete reserves between seed sizes is important for survival and establishment of the seedlings. In this respect, Caddick and Linder (2002) reported that some species tend to accumulate more weight in the seeds when they develop in stressful environments.

For these reasons, it can be expected that *A. hybridus* seedlings emerge in greater proportion than *M. parviflora*, and after a certain time, the proportion would be similar. However, *A. hybridus* seedlings would be more dependent on having optimal conditions to begin photosynthesis since their reserve content would allow them to live for 12 days at most, while *M. parviflora* seedlings are able to live up to 22 days on their reserves.

## CONCLUSIONS

*Amarnathus hybridus* L. seeds are more vigorous than *Malva parviflora* L. seeds, according to their germination percentages. Large seeds had higher germination values than small seeds of both species.

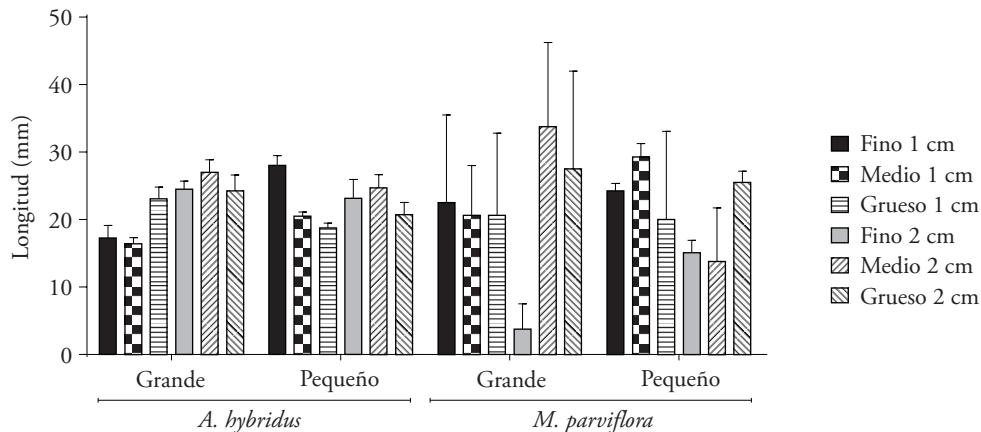
Emergence percentages of both species were similar, but emergence rate was higher in *A. hybridus*. Seed size did not affect emergence percentage or root length, but large seeds took longer to deplete their reserves (because of the larger reserve content), and thus *M. parviflora* was more vigorous than *A. hybridus*.

—End of the english version—



sus semillas cuando se encuentran en ambientes estresantes.

Por lo anterior, podría esperarse que las plántulas de *A. hybridus* emergieran en proporción mayor respecto a *M. parviflora*, y después de cierto tiempo la proporción sería similar. Pero las plántulas de *A. hybridus* serían más dependientes de condiciones óptimas para comenzar a fotosintetizar, ya que su contenido de reservas sólo les permite permanecer vivas 12 d máximo, mientras que las de *M. parviflora* lo pueden hacer hasta 22 d.



**Figura 4.** Longitud de la raíz de *Amaranthus hybridus* L. y *Malva parviflora* L. con tamaño de semilla, granulometría de sustrato y profundidad de siembra diferentes. Los datos son las medias  $\pm$  E.E. de cuatro repeticiones de cinco raíces cada una.

**Figure 4.** Root length of *Amaranthus hybridus* L. and *Malva parviflora* L. with different seed sizes, substrate granulometries and sowing depths. The data are means  $\pm$  S.E. of four replications of five seedlings each.

## CONCLUSIONES

Las semillas de *Amaranthus hybridus* L. presentaron mayor vigor, según los porcentajes de germinación, con respecto a las de *Malva parviflora* L., y las semillas grandes mostraron valores mayores de germinación con respecto a las pequeñas en ambas especies.

Los porcentajes de emergencia de ambas especies fueron similares, pero la velocidad de emergencia fue mayor en *A. hybridus*. El tamaño de semilla no afectó el porcentaje de emergencia ni la longitud de las raíces, en las plántulas, pero las semillas grandes agotaron sus reservas en plántulas de más días (por su contenido mayor de reservas), por lo cual *M. parviflora* fue más vigorosa que *A. hybridus*.

## AGRADECIMIENTOS

Al CONACyT por otorgar la beca de maestría; al Dr. Víctor Ordaz Chaparro, al M.C. Francisco Landeros Sánchez<sup>†</sup> y al personal del Laboratorio de Física de Suelos del Posgrado en Edafología por su ayuda en la caracterización del sustrato; al Departamento de Campos Experimentales-COLPOS por facilitar las cámaras de ambiente controlado; al Dr. Víctor Conde Martínez, a la M.C. Petra Yáñez Jiménez y al M.C. Ricardo Vega Muñoz del Posgrado en Botánica del Colegio de Postgraduados por su colaboración en diversos aspectos de la investigación.

## LITERATURA CITADA

- Alizaga, R. 1990. Alteraciones fisiológicas y bioquímicas en semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* de alto y bajo vigor inducido. *Agron. Costarricense* 14: 161-168.
- Amini, R., and S. Ghanepour. 2013. Growth and yield of different types of dry bean affected by smooth amaranth (*Amaranthus hybridus* L.) shoot extracts. *Int. J. Agric. Crop Sci.* 5: 115-119.
- AOSA (Association of Official Seed Analysts). 2000. Tetrazolium Testing Handbook. The Tetrazolium Subcommittee of the 32 Association of Official Seed Analyst. 32 p.
- Baskin, J. M., and C. C. Baskin. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res.* 14: 1-16.
- Bewley, D. J., K. J. Bradford, H. W. M. Hilhorst, and H. Nonogaki. 2013. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. 3rd ed. Springer Science. 399 p.
- Bradbeer, J. W. 1988. *Seed Dormancy and Germination*. Blackie and Son Ltd. 146 p.
- Bravo, C., y A. Florentino. 1997. Efecto de diferentes sistemas de labranza sobre las propiedades físicas del suelo y su influencia sobre el rendimiento del algodón. *Bioagro* 9: 67-75.
- Caddick, L. R., and H. P. Linder. 2002. Evolutionary strategies for reproduction and dispersal in African restionaceae. *Aus. J. Bot.* 50: 339-355.
- Cauhan, B. S., G. Gill, and C. Preston. 2006. Factor affecting seed germination of little mallow (*Malva parviflora*) in southern Australia. *Weed Sci.* 54: 1045-1050.
- Childs, D. Z., C. J. E. Metcalf, and M. Rees. 2010. Evolutionary bet-hedging in the real world: empirical evidence and challenges revealed by plants. *Proc. Royal Soc. London. Series B-Biol. Sci.* 277: 3055-3064.
- Doria, J. 2010. Generalidades sobre las semillas: su producción, comercialización y almacenamiento. *Cultivos Tropicales* 31: 74-85.



- Espitia R. E., L. D. Escobedo, S. C. Mapes, O. M. de la O, D. M. Aguilar, C. M. Hernández, G. A. V. Ayala, V. P. Rivas, T. G. Martínez, V. M. Ramírez, y B. S. Morá. 2012. Conservación de los recursos genéticos de amaranto (*Amaranthus* spp.) en México. *In*: Espitia R., E. (ed). Amaranto: Ciencia y Tecnología. Libro Científico No. 2. INIFAP/SINAREFI. México. pp. 147-163.
- Gallagher, S. R. and J. Cardina. 1998. Phytochrome-mediated *Amaranthus* germination I: Effect of seed burial and germination temperature. *Weed Sci.* 46: 48-52.
- Gepts, P. 2004. Crop Domestication as Long-term Selection Experiment. John Wiley & Sons, Inc. *Plant Breed. Rev.* Vol. 24, Part 2. 1-44.
- Harlan, J. R. 2010. *Crops and Man*. 2nd ed. American Society of Agronomy, Inc. Crop Sci. Soc. of America, Inc. 284 p.
- Harrison, S. K., E. E. Regnier, J. T. Schmoll, and J. M. Harrison. 2007. Seed size and burial effect on giant ragweed (*Ambrosia trifida*) emergence and seed demise. *Weed Sci.* 55: 16-22.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2014. International Rules for Seed Testing. The International Seed Testing Association. 272 p.
- Jones, R. E., and R. W. Medd. 2000. Economic thresholds and the case for longer term approaches to population management of weeds. *Weed Technol.* 14: 337-350.
- Koeppe, J. S., J. H. Rupnow, C. E. Alker, and A. Davis. 1985. Isolation and heat stability of trypsin inhibitors in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*). *J. Food Sci.* 50: 1519-1521.
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergences and vigor. *Crop. Sci.* 2: 176-177.
- McDonald, M. B. Jr., and B. R. Phaneendranath. 1978. A modified accelerated ageing seed vigor test for soybeans. *J. Seed Technol.* 3: 27-37.
- Michael, P. J., K. J. Steadman, and J. A. Plummer. 2006. Climatic regulation of seed dormancy and emergence of diverse *Malva parviflora* populations from a Mediterranean-type environment. *Seed Sci. Res.* 16: 273-281.
- Molina-Freaner, F., F. Espinosa-García, and J. Sarukhán-Kermez. 2008. Weed population dynamics in a rain-fed maize field from the Valle of Mexico. *Agrociencia* 42: 655-667.
- Navarro, M., G. Febles, y V. Torres. 2012. Bases conceptuales para la estimación del vigor de las semillas a través de indicadores del crecimiento y el desarrollo inicial. *Pastos y Forrajes* 35: 233-246.
- Nogarajan, S., and K. Pandita. 2001. Improvement in germination characteristics in artificially aged tomato seeds by osmoconditioning. *Seed Res.* 29: 136-140.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-021-SEMARNAT-2000. 2001. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Diario Oficial.
- Omami, E. N., A. M. Haig, R. W. Meed, and H. I. Nicol. 1999. Changes in germinability, dormancy and viability of *Amaranthus retroflexus* as affected by depth and duration of burial. *Weed Res.* 39: 345-354.
- Parra, C. F. I., y F. J. P. Délano. 2012. Uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal para aumentar la productividad de amaranto de grano. *In*: Espitia R., E. (ed). Amaranto: Ciencia y Tecnología. Libro Científico No. 2. INIFAP/SINAREFI. México. pp. 113-127.
- Pierret, A., C. J. Moran, and C. Doussan. 2005. Conventional detection methodology is limiting our ability to understand the roles and functions of fine roots. *New Phytol.* 166: 967-980.
- Prism. 2012. Graphpad software version 6.01. GraphPad Software, Inc San Diego, CA, USA.
- Rastegar, Z., M. Aghighi, and S. Kandi. 2011. The effect of salinity and seed size on seed reserve utilization and seedling growth of soybean (*Glycine max*). *Int. J. Agron. Plant Prod.* 2: 1-4.
- Ross, M. A., and C. A. Lembi. 2009. Applied weed science: Including the Ecology and Management of Invasive Plants. 3rd ed. Pearson Prentice Hall. 561 p.
- Rzedowski, G. C. de, y J. Rzedowski. 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª. ed., reimpr., Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán). 1406 p.
- Salinas, A. R., A. M. Yoldjian, R. M. Cravioto, y V. Bisaro. 2001. Pruebas de vigor y calidad fisiológica de semillas de soja. *Pesq. Agropec. Bras.* 36: 371-379.
- Schutte, B. J., B. J. Tomasek, A. S. Davis, L. Andersson, D. L. Benoit, A. Cirujeda, J. Dekker, A. Forecella, J. L. González-Andujar, F. Graziani, A. J. Murdoch, P. Neve, I. A. Rasmussen, B. Sera, J. Salonen, F. Tei, K. S. Torresen, and J. M. Urbano. 2013. An investigation to enhance understanding of the stimulation of weed seedling emergence by soil disturbance. *Weed Res.* 54: 1-12.
- Summer, D. C., and R. D. Cobb. 1967. Germination characteristics of cheese-weed (*Malva parviflora* L.) seeds. *Agron. J.* 59: 207-208.
- Zahedi, S. M., and N. A. Ansari. 2011. Allelopathic potential of common mallow (*Malva sylvestris*) on the germination and the initial growth of tomato, cucumber and cress. *Asian. J. Agric. Sci.* 3: 235-241.
- Zaman, K. A., P. Shah., F. Mohd., H. Khan., A. S. Perveen., S. Nigar., S. K. Khalil, and M. Zubair. 2010. Vigor tests used to rank seed lot quality and predict field emergence in wheat. *Pak. J. Bot.* 42: 3147-3155.
- Ziller, S. R. 2001. Plantas exóticas invasoras: a ameaça da contaminação biológica. *Ciência Hoje.* 30: 77-79.