

RECUBRIMIENTO DE SEMILLAS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) CON QUITOSANO Y ALGINATO DE SODIO Y SU EFECTO EN EL DESARROLLO RADICAL

MAIZE (*Zea mays* L.) SEED COATING WITH CHITOSAN AND SODIUM ALGINATE AND ITS EFFECT ON ROOT DEVELOPMENT

Miguel Peña-Datoli¹, C. M. Isabel Hidalgo-Moreno^{1*}, V. Arturo González-Hernández²,
E. Gabriel Alcántar-González¹, J. Dionisio Etchevers-Barra¹

¹Edafología. ²Genética. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (hidalgo@colpos.mx).

RESUMEN

El tiempo entre la germinación de la semilla y una planta autótrofa es una etapa crítica. Durante este periodo la plántula es susceptible a la competencia con malezas y condiciones edafoclimáticas adversas debido a su reducido sistema radicular y escasa área foliar, como el caso del maíz (*Zea mays* L.). El uso de agentes bioquímicos como recubrimiento en semillas que promuevan un mayor desarrollo radical en etapas tempranas favorece un buen desarrollo inicial de plántula. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de recubrimientos con quitosano (30 g L⁻¹), alginato de sodio (50 g L⁻¹), ácido salicílico (1x10⁻³ M) y fertilizantes equivalente a una dosis de N-P₂O₅-K₂O: 26.7-7.5-13.3 kg ha⁻¹, en la emergencia, desarrollo radical, y absorción de agua y nutrientes, en dos líneas genéticas de maíz con desarrollo radical contrastante. La hipótesis fue que el recubrimiento de semillas con uno o más de estos materiales favorece el estatus hídrico y nutricional de la plántula, que estimula una eficiente emergencia e incrementa la biomasa radical, la absorción de agua y nutrientes en maíz. El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial 2x6 (2 líneas genéticas de maíz, 6 recubrimientos) con dos testigos (semilla sin recubrimiento). Las unidades experimentales fueron macetas y la comparación de medias se realizó con la prueba LSD (p≤0.05). Las semillas fueron recubiertas mediante la técnica de gelificación iónica, sembradas en tezontle y regadas con solución nutritiva Steiner sin macronutrientes en invernadero. La biomasa y concentración nutricional de las plántulas se evaluaron 30 y 50 d después de la siembra (DDS). La emergencia de las plantas disminuyó por los recubrimientos: quitosano (40 %) y alginato de sodio (14 %). Los fertilizantes y ácido salicílico redujeron la biomasa y longitud radical (30 DDS). No hubo

ABSTRACT

Time between seed germination and an autotrophic plant is a critical stage. During this period the seedling is susceptible to competition with weeds and adverse soil and climate change conditions due to its reduced root system and scarce leaf area, as in the case of maize (*Zea mays* L.). The use of biochemical agents as coating on seeds that promote a greater root development in early stages favors a good initial development of the seedling. This study aimed to evaluate the effect of coatings with chitosan (30 g L⁻¹), sodium alginate (50 g L⁻¹), salicylic acid (1x10⁻³ M) and fertilizers equivalent to a dose of N-P₂O₅-K₂O: 26.7-7.5-13.3 kg ha⁻¹ in the emergence, root development, and absorption of water and nutrients in two maize genetic lines with contrasting root development. The hypothesis was that the coating of maize seeds with one or more of these materials favors the water and nutritional status of the seedling, which stimulates an efficient emergence, increases the root biomass and the absorption of water and nutrients. The experimental design was completely randomized with a 2x6 factorial arrangement (2 maize lines, 6 coatings) with two controls (uncoated seed). The experimental units were pots and the comparison of means was performed with the LSD test (p≤0.05). Seeds were covered by the ionic gelation technique sowed in tezontle and irrigated with the Steiner nutrient solution without macronutrients in the greenhouse. The biomass and nutritional concentration of the seedlings were evaluated 30 and 50 d after sowing (DAS). The emergence of plants decreased as a result of the coatings: chitosan (40 %) and sodium alginate (14 %). Fertilizers and salicylic acid reduced biomass and root length (30 DAS). There was no consistent effect of coatings on nutrient concentration in maize plants.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: enero, 2016. Aprobado: julio, 2016.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 50: 1091-1106. 2016.

Key words: Seeds coating, ionic gelling, root development, chitosan, sodium alginate.

un efecto consistente de los recubrimientos sobre la concentración nutrimental en las plantas de maíz.

Palabras clave: recubrimiento de semillas, gelificación iónica, desarrollo radical, quitosano, alginato de sodio.

INTRODUCCIÓN

México es el mercado más grande de maíz (*Zea mays* L.) en el mundo y consume 11 % de la producción mundial. Del año 2014 al 2015, las importaciones de maíz en México fueron 10 millones Mg, y ocupa el segundo lugar como país importador en el mundo. La producción total de maíz fue 37.1 millones Mg, lo cual es aproximadamente 33 % del valor total de producción del sector agrícola (SIAP-SAGARPA, 2015)³.

En el cultivo de maíz, las arvenses compiten por agua, nutrientes del suelo y luz solar, principalmente en las fases iniciales del cultivo, cuando la plántula de maíz es más sensible a la competencia, debido a su sistema radicular reducido y área foliar escasa.

El vigor temprano de las plántulas de maíz conlleva al establecimiento más rápido del cultivo y posibilidades mejores frente al estrés provocado por la competencia con malezas (Costar *et al.*, 2013).

El sistema radical del maíz se divide en raíces embrionarias (raíz primaria y raíces seminales) y raíces postembrionarias (raíces nodales y raíces de la corona). En las primeras dos semanas, la raíz principal y las raíces seminales constituyen la mayor parte del sistema radical. Las raíces nodales y de corona que forman la columna vertebral del sistema radical en maíz aparecen después de las raíces embrionarias. Durante la primera fase del desarrollo radical, las raíces laterales realizan el mayor transporte de agua y nutrimentos a las partes aéreas de la planta de maíz porque sus ramificaciones tienen la capacidad de conducción. La transición entre la primera y la segunda etapa del desarrollo radical de la planta de maíz (etapa temprana-tardía) empieza 3 a 4 semanas después de la germinación, junto con la formación de nudos de raíces de la corona (Hochholdinger *et al.*, 2004).

La absorción nutrimentos del suelo por la planta depende de un espacio poroso adecuado (poros que puedan ser penetrados por las raíces) para almacenar el agua que forma la solución del suelo, cantidad

INTRODUCTION

Mexico is the largest maize (*Zea mays* L.) market in the world consuming 11 % of world production. From 2014 to 2015 maize imports into Mexico were 10 million Mg, and currently ranks second as an importing country in the world. Total maize production amounted to 37.1 million Mg, around 33 % of the total production value of the agricultural sector (SIAP-SAGARPA, 2015)³.

In maize cultivation weeds compete for water, soil nutrients and sunlight mainly in the early stages of development, when maize seedlings are more sensitive to competition due to their reduced root system and scarce leaf area. The early vigor of maize seedlings leads to the faster establishment of the crop and better possibilities in the face of stress caused by competition with weeds (Costar *et al.*, 2013).

The root system of maize is divided into embryonic roots (primary root and seminal roots) and postembryonic roots (nodal roots and crown roots). In the first two weeks, the main root and the seminal roots make up most of the root system.

The nodal and crown roots that form the backbone of the maize root system appear after the embryonic roots. During the first phase of the root development, the lateral roots carry out most of the water and nutrient transport to the aerial parts of the maize plant because their branches have the ability to do so. The transition between the first and second stages of root development of the maize plant (early – late stage) begins 3 to 4 weeks after germination, along with the formation of crown nodal roots (Hochholdinger *et al.*, 2004).

Soil nutrient uptake by the plant depends on: an adequate soil pore space (pores that can be penetrated by the roots) to store the water that forms the soil solution, sufficient amount of nutrient reserves, a healthy root system in the plant and the efficiency of nutrient uptake or proportion of nutrients absorbed by the plant from the total applied. It depends on factors such as the volume of the root system, the physical and chemical form of the applied fertilizer, and the reactions in the soil (Etchevers, 2008).

The germination process of the seed has three phases: hydration, sprouting and growth, which

³SIAP-SAGARPA, 2015. Panorama Mundial 2015. Folleto semanal. Semana al 22 de abril de 2015. 9 p.

suficiente de reservas de nutrimentos y un sistema radical sano en la planta. La eficiencia de absorción de nutrimentos, que es la proporción del total aplicado absorbido por la planta, depende de factores como el volumen del sistema radical, la forma física y química del fertilizante aplicado, y las reacciones en el suelo (Etchevers, 2008).

El proceso germinativo de la semilla tiene tres fases: hidratación, germinación y crecimiento, las cuales dependen del contenido de compuestos hidratables y la permeabilidad de la cubierta de la semilla al agua y oxígeno. La fase de crecimiento comprende la movilización de las reservas en la semilla y el desarrollo de la plántula (Koornneef *et al.*, 2002). El crecimiento y desarrollo de la planta después del proceso germinativo está determinado por las reservas presentes en la semilla y en segunda instancia por las condiciones ambientales del entorno. Revilla *et al.* (1999) mencionan que tres semanas después de la emergencia, las reservas del endospermo son consumidas y la plántula depende de su capacidad para generar asimilados, producir área foliar y continuar su crecimiento. El éxito de la siembra es determinado en gran parte por las características fisiológicas y bioquímicas de la semilla, su reacción al ambiente y la rapidez con que utilice sus reservas para iniciar y sostener el crecimiento de la plántula en las primeras etapas de desarrollo, antes de ser un organismo autotrófico (Soltani *et al.*, 2006).

Las semillas recubiertas establecidas en diferentes condiciones ambientales logran porcentajes y tasa de emergencia cercanos al 100 %, un adecuado desarrollo inicial de plántula y altos rendimientos finales (Tillmann y Miranda, 2006). El recubrimiento de semillas se fundamenta en el proceso de encapsulación para elaborar pastillas y tiene como objetivo mejorar las características de crecimiento y desarrollo de la plántula y protegerla de agresiones bióticas exteriores nocivas (Lizárraga *et al.*, 2011). Los polisacáridos de origen animal y vegetal usados con frecuencia en la microencapsulación son alginato, goma arábiga y quitosano (Lupo *et al.*, 2012).

El quitosano es un polisacárido hidrofílico biodegradable derivado de la desacetilación de la quitina y se usa en el recubrimiento de semillas para conservarlas durante el almacenamiento, estimula el crecimiento de las plántulas y presenta un efecto bactericida (Kong *et al.*, 2010), fungicida y antiviral (Niquette *et al.*, 2004; Lárez, 2006; Lárez, 2008). El alginato es un polisacárido hidrofílico natural obtenido

depend on the content of hydratable compounds and the permeability of the seed cover to water and oxygen. The growth phase comprises the mobilization of seed reserves and seedling development (Koornneef *et al.*, 2002). The growth and development of the plant after the germination process is determined by the existing reserves in the seed and secondly by the environmental conditions.

Revilla *et al.* (1999) mention that three weeks after emergence, endosperm reserves are consumed and the seedling depends on its ability to generate assimilates, produce leaf area and continue its growth. The success of planting is largely determined by the physiological and biochemical characteristics of the seed, its reaction to the environment and the rate with which it uses its reserves to initiate and sustain seedling growth in the early stages of development, before being an autotrophic organism (Soltani *et al.*, 2006).

Covered seeds established under different environmental conditions reach percentages and emergency rate close to 100 %, an adequate initial seedling development and high final yields (Tillmann and Miranda, 2006). The seed coating is based on the encapsulation process to make pellets, and aims to improve seedling growth and development characteristics and protect them from harmful external biotic aggressions (Lizárraga *et al.*, 2011). The animal and plant polysaccharides frequently used in microencapsulation are alginate, arabic gum and chitosan (Lupo *et al.*, 2012).

Chitosan is a biodegradable hydrophilic polysaccharide derived from the deacetylation of chitin which is used in the coating of seeds to preserve them during storage. Chitosan stimulates the growth of seedlings and has a bactericidal (Kong *et al.*, 2010), fungicide and antiviral effect (Niquette *et al.*, 2004; Lárez, 2006; Lárez, 2008). Alginate is a natural hydrophilic polysaccharide obtained from brown algae and is used in the microencapsulation of seeds for being biocompatible, non-toxic and degradable (Reddy and Reddy, 2010; Lupo *et al.*, 2012). Spray drying (Parra, 2010) and ionic gelling are coating techniques of seeds practically and economically suited (Gouin, 2004; Lakkis, 2007; Guevara and Jiménez, 2008). Ionic gelling consists of the formation of three-dimensional networks by non-completely stable bonds (physical hydrogels) and weaker than covalent bonds (chemical hydrogels) (Lupo *et al.*, 2012).

de algas pardas y se usa en la microencapsulación de semillas por ser biocompatible, no tóxico y degradable (Reddy y Reddy, 2010; Lupo *et al.*, 2012).

El secado por aspersión (Parra, 2010) y la gelificación iónica son técnicas de recubrimiento de semillas adecuadas desde el punto de vista práctico y económico (Gouin, 2004; Lakkis, 2007; Guevara y Jiménez, 2008). La gelificación iónica consiste en la formación de redes tridimensionales por uniones no completamente estables (hidrogeles físicos) y más débiles que las uniones covalentes (hidrogeles químicos) (Lupo *et al.*, 2012).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del quitosano, alginato de sodio, ácido salicílico y nutrientes en la emergencia, desarrollo radical, y absorción de agua y nutrientes, en dos variedades de maíz con desarrollo radical contrastante. La hipótesis fue que el recubrimiento de semillas con uno o más de los materiales mencionados, favorece un estatus hídrico y nutrimental de la plántula, que estimula una eficiente emergencia, un incremento en la producción de biomasa radical y una mayor absorción de agua y nutrientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en invernaderos del Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. Antes de evaluar los recubrimientos en semillas de maíz se hicieron pruebas de: 1) cinética del consumo de reservas de semillas para determinar el tiempo en que las plántulas de maíz son autótrofas y ya no dependen de las reservas de la semilla en una variedad criolla; 2) selección de dos variedades de maíz con desarrollo radical contrastante; 3) comparación de técnicas para recubrir las semillas de maíz.

El tiempo requerido por la planta para independizarse de las reservas de las semillas se determinó con semillas de maíz blanco criollo. Todas las semillas usadas en este experimento se obtuvieron del Programa de Semillas del Colegio de Postgraduados. Las semillas fueron sembradas en macetas cónicas (25 cm de diámetro, 25 cm de altura) con tezontle rojo (diámetro < 5 mm) en invernadero. Las macetas se regaron con 0.5 L d⁻¹ de agua de pozo, en la cual se analizó su concentración nutrimental y se determinaron los micronutrientes (mg L⁻¹): NO₃⁻ 0.003; NH₄⁺ 0.001; P 0.025; K 9.334; Ca 29.210; Mg 9.334; Na 39.663; Fe 0.023; Cu 0.028; Zn 0.164; Mn 0.027.

Las semillas de maíz se pesaron y se sembraron el 27 de enero de 2014. Siete, 15, 22, 29 y 36 días después de la siembra (DDS) se evaluó la materia seca (MS) del remanente de la semilla, la parte aérea y la raíz, en seis plántulas. Las plántulas se extrajeron manualmente de la maceta para obtener toda la biomasa radical,

The objective of this study was to evaluate the effect of chitosan, sodium alginate, salicylic acid and nutrients on the emergence, radical development, and absorption of water and nutrients in two lines of maize with contrasting root development. The hypothesis was that the seed coating with one or more of the materials mentioned favors a hydric and nutritional status of the seedling, which stimulates an efficient emergence, an increase in the production of root biomass and a greater absorption of water and nutrients.

MATERIALS AND METHODS

This study was conducted in greenhouses of the Colegio de Postgraduados, Montecillo, Mexico. Before evaluating corn seed coatings, we performed the following tests: 1) kinetics of the consumption of seed reserves to determine the time in which maize seedlings are autotrophic and no longer depend on seed reserves in a native maize race; 2) selection of two maize lines with contrasting root development; 3) comparison of techniques to coat corn seeds.

The time required by the plant to become independent of the seed reserves was determined with seeds of native white maize. All the seeds used in this experiment were obtained from the Seed Program of the Colegio de Postgraduados and sown in conic pots (25 cm in diameter, 25 cm height) filled with red tezontle (< 5 mm in diameter) in greenhouse. The pots were watered with 0.5 L d⁻¹ well water. The nutrient concentration (mg L⁻¹) of the irrigation water was analyzed: NO₃⁻ 0.003; NH₄⁺ 0.001; P 0.025; K 9.334; Ca 29.210; Mg 9.334; Na 39.663; Fe 0.023; Cu 0.028; Zn 0.164; Mn 0.027.

Corn seeds were weighed and sown on January 27, 2014. On days 7, 15, 22, 29 and 36 after sowing (DAS) the dry matter (DM) of the remaining seed, above-ground and root were evaluated in six seedlings. The seedlings were manually extracted from the pot to obtain all the root biomass, washed with running water and dried 72 h in an oven at 70 °C to measure the dry matter and were weighed up on an analytical balance with an approximation of 1 x 10⁻⁴ g. Data were processed with Microsoft Office 2010 Excel and plotted with CurveExpert Professional version 2.0.4.

For selecting two maize lines with contrasting production of root biomass, eight lines or varieties (five replicates in each one) were used: CMS939083, C13x11, CS14x15, CPV-20, HS-2, HT-PRECOZ, PROMESA and VS22. The seeds were weighed before planting and those weighing 0.21 to 0.3 g were selected to obtain homogeneous stock quantities and seeded in pots filled with fine red tezontle in greenhouse on March 25, 2014; and were irrigated with 0.3 L d⁻¹ of water.

se lavaron con agua corriente, se secaron 72 h en una estufa a 70 °C y se pesaron en una balanza analítica con aproximación de 1×10^{-4} g. Los datos se procesaron con Excel de Microsoft Office 2010 y se graficaron con CurveExpert Profesional versión 2.0.4.

En la selección de las dos variedades de maíz con producción contrastante de biomasa radical se utilizó grano de ocho líneas o variedades (cinco repeticiones en cada una): CMS939083, C13x11, CS14x15, CPV-20, HS-2, HT-PRECOZ, PROMESA y VS22. Las semillas se pesaron antes de la siembra y se seleccionaron aquellas con un peso de 0.21 a 0.3 g para obtener cantidades de reservas homogéneas. Las semillas se sembraron en macetas rellenas con tezontle rojo fino en invernadero el 25 de marzo de 2014 y se regaron con 0.3 L d^{-1} de agua.

Las plántulas se cosecharon 20 DDS y se secaron en una estufa a 70 °C por 72 h. El peso de la biomasa obtenida por planta se midió en una balanza analítica con aproximación de 1×10^{-4} g. Los datos se procesaron con Excel de Microsoft Office 2010.

La comparación de técnicas de recubrimiento comprendió la selección del solvente, concentración y metodología de recubrimiento para cada polímero, que produjera una capa sólida, uniforme y homogénea sobre la superficie de la semilla. Los materiales evaluados fueron: semillas de maíz, quitosano de bajo peso molecular (50-190 kDa) con un grado de desacetilación entre 75 y 85 %, alginato de sodio (Sigma Aldrich), ácido salicílico, ácido acético glacial concentrado, cloruro de calcio e hidróxido de sodio. Las suspensiones evaluadas tuvieron concentraciones de 1, 3 y 5 % de cada polímero y se agitaron 60 min a velocidad media en un agitador magnético.

La dosis de fertilización propuesta para el cultivo de maíz con un ciclo de 180 d y una densidad de población de 60,000 plantas ha^{-1} fue 120-40-60 de $\text{N-P}_2\text{O}_5\text{-K}_2\text{O}$, de la cual se calculó la dosis 26.7-7.5-13.3 kg ha^{-1} para plántulas de maíz durante 15 d. Las cantidades de nutrimentos para cada plántula de maíz durante este periodo fueron: 0.44 g N, 0.05 g P y 0.18 g K por planta. Los fertilizantes usados para cubrir los requerimientos nutrimentales de las plantas de maíz fueron: nitrato de amonio, sulfato de potasio, fosfato de calcio monohidratado, nitrato de potasio y fosfato monobásico de potasio.

Las suspensiones se prepararon solubilizando primero los polímeros y luego los fertilizantes para evitar precipitados, los cuales fueron triturados en un mortero para facilitar su integración. En las suspensiones finales se agregó ácido salicílico porque favorece el crecimiento vegetal, al estar involucrado en procesos fisiológicos: termogénesis, resistencia a patógenos, inducción a la floración, crecimiento de raíces y absorción de nutrimentos (Larqué y Martín, 2007).

El quitosano es un polication y forma complejos con moléculas de carga opuesta para obtener películas coloidales (Rodríguez *et al.*, 2010). La técnica para gelificar el quitosano fue

Seedlings were harvested 20 DAS and dried in an oven at 70 °C for 72 h. Dry weight per plant was measured on an analytical balance with an approximation of 1×10^{-4} g. Data were processed using Excel of Microsoft Office 2010.

The comparison of coating techniques comprised the solvent selection, concentration and coating methodology for each polymer to produce a solid, uniform and homogeneous layer on the seed surface. The evaluated materials were: corn seeds, low molecular weight chitosan (50-190 kDa) with a degree of deacetylation between 75 and 85 %, sodium alginate (Sigma Aldrich), salicylic acid, concentrated glacial acetic acid, calcium chloride and sodium hydroxide. The suspensions evaluated had concentrations of 1, 3 and 5 % from each polymer and were stirred for 60 min at medium speed on a magnetic stirrer.

From the proposed fertilization dose for field corn cultivation with a cycle of 180 d and a population density of 60 000 plants ha^{-1} that was 120-40-60 kg ha^{-1} $\text{N-P}_2\text{O}_5\text{-K}_2\text{O}$, we calculated the dose 26.7- 7.5-13.3 kg ha^{-1} for maize seedlings for 15 d. The nutrient amounts for each maize seedling during this period were: 0.44 g N, 0.05 g P and 0.18 g K per plant. The fertilizers used to cover the nutritional requirements of maize plants were: ammonium nitrate, potassium sulfate, monohydrate calcium phosphate, potassium nitrate and analytical grade monobasic potassium phosphate.

The suspensions were prepared by first solubilizing the polymers and then the fertilizers to avoid precipitates. Both were ground in a mortar to facilitate their integration. In the final suspensions, we added salicylic acid because it favors plant growth for being involved in physiological processes: thermogenesis, resistance to pathogens, induction of flowering, root growth and nutrient absorption (Larqué and Martín, 2007).

Chitosan is a polycation and forms complexes with molecules of opposite charge to obtain colloidal coatings (Rodríguez *et al.*, 2010). The technique for gelling chitosan was proposed by Trasviña and Louvier (2010)⁴, which was modified to determine the appropriate concentration of NaOH because the alkalinity of this reagent can damage the seed surface. Maize seeds were immersed in the chitosan suspension, then in 0.5 and 1N NaOH solutions, for 5, 60 and 180 min for evaluation. Sodium alginate gelling was performed with 0.05 M calcium chloride by using the external gelation technique described by Lupo *et al.* (2012). The coated seeds were dried in the shade outdoors for 24 h.

We evaluated the effect of the proposed coatings with the emergence, biomass produced and nutrient concentration in the maize plants obtained. The maize seeds of the selected lines were weighed on an analytical balance and those weighing 0.21 to 0.30 g were selected. The interaction between the two maize lines and the six seed coat suspensions gave rise to the 12 treatments evaluated (Table 1), to which two control treatments (uncoated

la propuesta por Trasviña y Louvier (2010)⁴, la cual se modificó para determinar la concentración adecuada de NaOH porque la alcalinidad de este reactivo puede dañar la superficie de la semilla. Las semillas de maíz se sumergieron en la suspensión de quitosano, luego en NaOH 0.5 y 1N por 5, 60 y 180 min. La gelificación de alginato de sodio se realizó con cloruro de calcio 0.05 M mediante la técnica de gelificación externa descrita por Lupo *et al.* (2012). Las semillas recubiertas se secaron a la sombra y al aire libre por 24 h.

El efecto de los recubrimientos propuestos se evaluó con la emergencia, biomasa producida y la concentración nutrimental en las plantas de maíz obtenidas. Las semillas de maíz de las variedades seleccionadas se pesaron en una balanza analítica y se seleccionaron aquellas con un peso de 0.21 a 0.30 g. La interacción entre las dos líneas de maíz y las seis suspensiones para recubrir las semillas originaron los 12 tratamientos evaluados (Cuadro 1), a los cuales se anexaron dos tratamientos testigos (semillas sin recubrimiento).

Las semillas de las dos líneas de maíz se recubrieron con las suspensiones finales y se secaron a la sombra y al aire libre por 24 h (Figura 1). Para el recubrimiento de semillas se usó quitosano (30 g L⁻¹), alginato de sodio (50 g L⁻¹), ácido salicílico (1x10⁻³ M) y fertilizantes (N-P₂O₅-K₂O: 26.7-7.5-13.3), como promotores del desarrollo radical.

Las semillas recubiertas se sembraron en macetas rellenas con tezontle rojo fino (diámetro <5 mm) en invernadero, donde se

seeds) were attached.

Seeds of the two maize lines were coated with the final suspensions and dried in the shade outdoors for 24 h (Figure 1). For seed coating we used chitosan (30 g L⁻¹), sodium alginate (50 g L⁻¹), salicylic acid (1 x 10⁻³ M) and fertilizers (N-P₂O₅-K₂O: 26.7-7.5-13.3) as promoters of root development.

The coated seeds were sown in pots filled with fine red tezontle (<5 mm in diameter) in a greenhouse and watered daily with 0.3 L of modified Steiner solution (without macronutrients). Water for irrigation was analyzed to adjust the macro and micronutrient concentrations of the nutrient solution. The nutrient concentration of the nutrient solution according to Steiner (1961) without macronutrients was: 2 ppm Fe, 0.7 ppm Mn, 0.5 ppm B, 0.04 ppm Mo, 0.16 ppm Zn and 0.02 ppm Cu. This solution was prepared with: 0.50 mg L⁻¹, H₃BO₃, 1.98 mg L⁻¹ chelate-Fe 13.2 %, 0.67 mg L⁻¹ MnSO₄ * H₂O and 0.04 mg L⁻¹ Na₂MoO₄ * 2H₂O.

Sowing was done on December 21, 2014 and two harvests were made 30 and 50 DAS, in which the entire plant was extracted and the aerial part of the root was removed. The variables measured in plants 30 DAS were above-ground biomass and root, and the root length; in plants 50 DAS we measured only the biomass of the above-ground and root biomass. The weight of the biomass was measured with an approximation of 1 x 10⁻⁴ g. The root length of the seedlings 30 DAS was evaluated with the modified Newman method (Böhm, 1979). In both crops

Cuadro 1. Suspensiones finales para la evaluación de recubrimientos.
Table 1. Final suspensions for the evaluation of coatings.

Suspensión [†]	Tratamiento	
	Var. HS-2	Var. CMS939083
Quitosano	1	8
Quitosano + Dosis de fertilizante 1	2	9
Quitosano + Dosis de fertilizante 2	3	10
Alginato de calcio	4	11
Alginato de calcio + Dosis de fertilizante 1	5	12
Alginato de calcio + Dosis de fertilizante 2	6	13
Testigo	7	14

[†] Dosis de fertilizante 1=1.1 g N, 0.125 g P, 0.45 g K y 10 mL de ácido salicílico (1x10⁻³ M), Dosis de fertilizante 2=2.2 g N, 0.25 g P, 0.9 g K y 10 mL de ácido salicílico (1x10⁻³ M); ambas dosis se aforaron a 100 mL con su respectivo solvente: ácido acético al 2 % para quitosano y agua destilada para alginato de sodio ♦ [†]Fertilizer 1 dose=1.1 g N, 0.125 g P, 0.45 g K and 10 mL salicylic acid (1x10⁻³ M); Fertilizer 2 dose=2.2 g N, 0.25 g P, 0.9 g K and 10 mL salicylic acid (1x10⁻³ M). Both doses were titrated to 100 mL with their respective solvent: 2% acetic acid for chitosan and distilled water for sodium alginate.

⁴Trasviña O., J. y F. Louvier J. 2010. Elaboración de películas y perlas de quitosano. XII Verano de la Ciencia. Departamento de Ingeniería Química. Instituto Tecnológico de Celaya. Guanajuato.

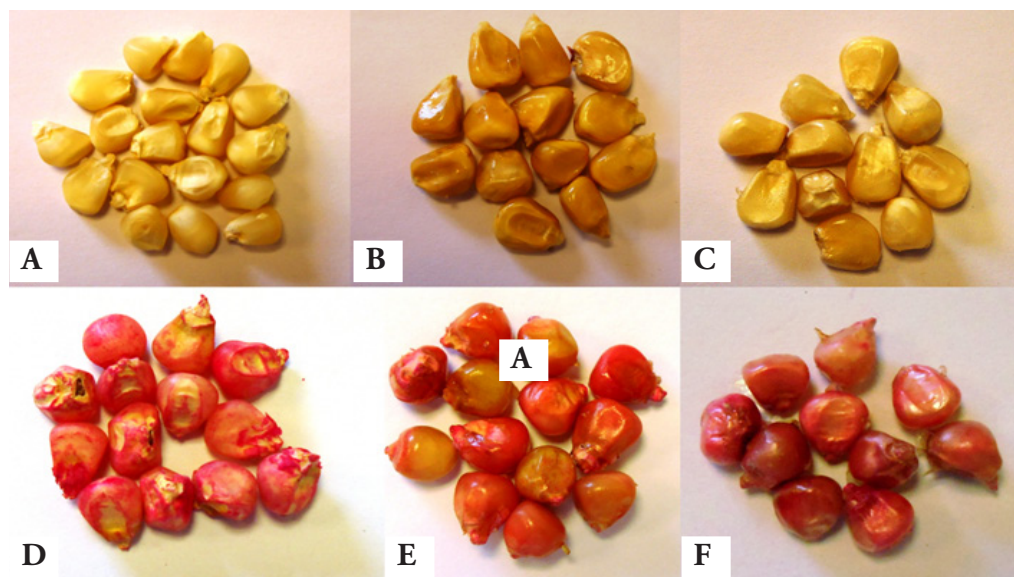


Figura 1. Semillas recubiertas. A) Semillas de la variedad HS-2 sin recubrir, B) Semillas de la variedad HS-2 recubiertas con quitosano, C) Semillas de la variedad HS-2 recubiertas con alginato de sodio, D) Semillas de la variedad CMS939083 sin recubrir, E) Semillas de la variedad CMS939083 recubiertas con quitosano y, F) Semillas de la variedad CMS939083 recubiertas con alginato de sodio.

Figure 1. Coated seeds. A) Seeds of variety HS-2 uncoated, B) Seeds of variety HS-2 coated with chitosan, C) Seeds of variety HS-2 coated with sodium alginate, D) Seeds of line CMS939083 uncoated, E) Seeds of line CMS939083 coated with chitosan and, F) Seeds of line CMS939083 coated with sodium alginate.

regaron diariamente con 0.3 L de solución de Steiner modificada (sin macronutrientes). El agua para riego se analizó para ajustar la concentración de macro y micronutrientes en la solución nutritiva. La concentración nutricional de la solución nutritiva según Steiner (1961) sin macronutrientes fue: 2 ppm Fe, 0.7 ppm Mn, 0.5 ppm B, 0.04 ppm Mo, 0.16 ppm Zn y 0.02 ppm Cu; la cual se preparó con: 0.50 mg L⁻¹ H₃BO₃, 1.98 mg L⁻¹ quelato-Fe 13.2 %, 0.67 mg L⁻¹ MnSO₄·H₂O y 0.04 mg L⁻¹ Na₂MoO₄·2H₂O.

La siembra se realizó el 21 de diciembre de 2014 y se efectuaron dos cosechas 30 y 50 DDS, en las cuales se extrajo la planta completa y separó la parte aérea de la raíz. Las variables medidas en plantas de 30 DDS fueron biomasa de la parte aérea y raíz, y la longitud radical; en plantas de 50 DDS se midió solo la biomasa de la parte aérea y raíz. El peso de la biomasa se midió con una balanza analítica con una aproximación de 1 x 10⁻⁴ g. La longitud radical de las plántulas de 30 DDS se midió con el método de Newman modificado (Böhm, 1979). En ambas cosechas se realizaron análisis químicos del tejido vegetal con la metodología del manual de Walinga *et al.* (1995) y se determinó N, P y K totales de muestras compuestas, de la parte aérea y de la raíz.

El diseño experimental fue completamente al azar con un arreglo factorial 2x6 (2 líneas y 6 tratamientos) y dos tratamientos

chemical analyzes of the plant tissue were carried out using the methodology of the Walinga *et al.* (1995) manual, and N, P and K totals of composite samples of the aerial part and root were determined.

The experimental design was completely randomized with a 2x6 factorial arrangement (2 maize lines and 6 treatments) and two control treatments (seeds without coating) for the comparison test of means. The experimental units were pots with fine red tezontle (<5 mm in diameter). The treatments had 10 replicates, with a total of 140 experimental units. In the first harvest (30 DAS) we collected the above-ground and root parts of five plants per treatment. In the second crop the plants per treatment were variable, where treatment 3 was completely lost. Results were subjected to a normality test (Shapiro-Wilks) and a homoscedasticity test (Bartlett). The ANOVA of data were performed using the GLM procedure and the comparison of means with the LSD test ($p \leq 0.05$). All results were processed with SAS 9.0 and plotted with Microsoft Office 2010 Excel.

RESULTS AND DISCUSSION

After the development of the roots, leaves and stem, the seedlings began to photosynthesize and

testigos (semillas sin recubrimiento) para la prueba de comparación de medias. Las unidades experimentales fueron macetas con tezontle rojo fino (diámetro <5 mm). Los tratamientos tuvieron 10 repeticiones, para un total de 140 unidades experimentales. En la primera cosecha (30 DDS) se recolectó la parte aérea y radical de cinco plantas por tratamiento. En la segunda cosecha las plantas por tratamiento fueron variables, donde el tratamiento 3 se perdió por completo. Para los resultados se hizo una prueba de normalidad (Shapiro-Wilks) y una prueba de homocedasticidad (Bartlett). El ANDEVA de los datos se realizó con el procedimiento GLM y la comparación de medias con la prueba LSD ($p \leq 0.05$). Todos los resultados se procesaron con SAS 9.0 y se graficaron con Excel de Microsoft Office 2010.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después del desarrollo de las raíces, hojas y tallo, las plántulas comienzan a fotosintetizar y producir su propio alimento u obtenerlo del suelo mediante su sistema radical, lo cual independiza a la planta de las reservas de la semilla. Durante esta etapa, la MS de la semilla disminuye debido al consumo de las reservas. Con un promedio entre 87 y 92 %, el consumo de las reservas de la semilla se estabilizó entre 15 y 22 DDS (Figura 2). Estos resultados mostraron que la plántula de maíz se independizó de las reservas de la semilla aproximadamente 20 DDS.

La evaluación de las líneas de maíz se realizó 20 DDS, cuando la planta ya es independiente de las reservas de la semilla. Las variedades de maíz con valores superiores en materia fresca y seca de raíz fueron HT-Precoz, PROMESA, HS-2 y CPV-20, comparadas con las líneas CMS939083, CS13x11 y

produce their own food or obtain it from the soil through their root system, which made the plant independent of the seed reserves. During this stage, the DM of the seed decreased due to the consumption of the reserves. With an average between 87 and 92 %, the consumption of seed reserves stabilized between 15 and 22 DAS (Figure 2). These results showed that the maize seedlings were independent of the seed reserves at approximately 20 DAS.

The evaluation of maize lines was done 20 DAS, when the plant was already independent of seed reserves. The maize varieties with higher fresh and dry root values were: HT-Precoz, PROMESA, HS-2 and CPV-20, compared to lines CMS939083, CS13x11 and CS14x15 (Table 2). The variety HS-2 and line CMS939083 were chosen to evaluate the coatings in seeds because they presented contrasting root development.

Manual spray coating and ionic gelation techniques are common in seed treatment because they are low cost and methodologically easy to use. Two percent acetic acid was used to solubilize chitosan, and distilled water for sodium alginate. The concentrations leading to an adequate adhesion to the seed without interference in the emergence were 30 g L⁻¹ of chitosan and 50 g L⁻¹ of sodium alginate. Ammonium nitrate, potassium nitrate and monobasic potassium phosphate were the fertilizers chosen for the seed coating tests, since they did not generate precipitates in the suspension. The fertilizer concentrations were: 57 g ammonium nitrate (NH₄NO₃), 15.5 g potassium nitrate (KNO₃) and 11 g monobasic potassium phosphate (KH₂PO₄) per

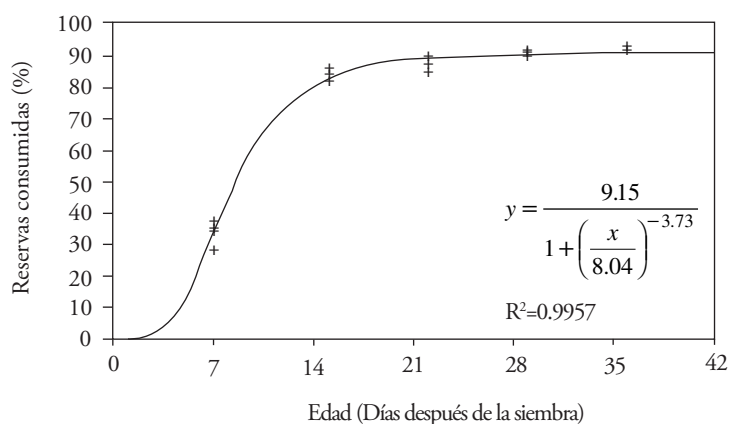


Figura 2. Consumo de las reservas de semillas maíz blanco criollo.
Figure 2. Consumption of seed reserves of native white maize.

CS14x15 (Cuadro 2). Las variedades HS-2 y la línea CMS939083 se eligieron para evaluar los recubrimientos en semillas debido a que presentaron desarrollo radical contrastante.

Las técnicas de recubrimiento de aspersión manual y gelificación iónica son comunes en el tratamiento de semillas debido a su facilidad metodológica y bajo costo. El ácido acético al 2 % se utilizó para solubilizar el quitosano, y agua destilada para el alginato de sodio. Las concentraciones que permitieron una adecuada adherencia a la semilla sin interferir en la emergencia fueron 30 g L⁻¹ de quitosano y 50 g L⁻¹ de alginato de sodio. El nitrato de amonio, nitrato de potasio y fosfato monobásico de potasio fueron los fertilizantes elegidos para las pruebas de recubrimiento de semillas, ya que no generaron precipitados en la suspensión. Las concentraciones de los fertilizantes fueron: 57 g de nitrato de amonio (NH₄NO₃), 15.5 g de nitrato de potasio (KNO₃) y 11 g de fosfato monobásico de potasio (KH₂PO₄) por litro de suspensión. La suspensión final se preparó agregando 10 mL de ácido salicílico 1x10⁻³ M por cada 100 mL de suspensión, antes de la adición de los fertilizantes.

La retención de cualquier producto con las técnicas de tratamiento de semillas depende de la adherencia de los productos aplicados, la compatibilidad entre las diferentes formulaciones utilizadas y las características de la cubierta de la semilla (Avelar *et al.*, 2012). La técnica de aspersión manual no logró un recubrimiento uniforme en ambas caras de la semilla. La gelificación iónica se eligió para recubrir las semillas de maíz porque permitió que los recubrimientos se aplicaran sin problemas de adherencia u homogeneidad

liter of suspension. Final suspensions were prepared by adding 10 mL of salicylic acid 1x10⁻³ M per 100 mL of suspension before the fertilizers addition.

The retention of any product with the techniques of seed treatment depends on the adhesion of the products applied, the compatibility between the different formulations used and the characteristics of the seed cover (Avelar *et al.*, 2012). The manual spray technique did not achieve a uniform coating on both sides of the seed. Ionic gelling was chosen for coating corn seeds since it caused no problems of adhesion or homogeneity on the seed surface. Chitosan was gelled in both 0.5 and 1N NaOH solutions with no notable physical differences in the coating. However, the seed surface was affected by 1N NaOH, whereby the 0.5N NaOH solution was chosen. The minimum time to obtain stable and homogeneous coatings of chitosan was 5 min.

Emergence

Bhaskara *et al.* (1999) reported that chitosan has positive effects on plant growth (roots, shoots and leaves) and seed germination. However, in our study, chitosan reduced the emergence of corn seeds, which was accentuated by the addition of fertilizers and salicylic acid. These results agree with those by Arias *et al.* (1998), who coated maize seeds with chitosan combined with Captan to control deterioration induced by *Pythium spp.* and observed that maize plants reduced their emergence significantly.

Coatings showed having an adverse effect on the emergence of all seeds, values of 13 to 67% lower than

Cuadro 2. Biomasa producida por variedad en plantas de maíz en invernadero.
Table 2. Biomass produced by each race of maize plants in greenhouse.

Variedad	Materia fresca		Materia seca	
	Parte aérea	Raíz	Parte aérea	Raíz
	g planta ⁻¹			
CMS939083	1.518	1.476	0.157	0.098
CS13x11	1.510	1.519	0.168	0.103
CS14x15	1.77	2.027	0.183	0.122
CPV-20	2.056	2.734	0.208	0.144
HS-2	1.975	2.839	0.244	0.169
HT-PRECOZ	2.646	3.327	0.279	0.169
PROMESA	1.872	2.568	0.207	0.174
VS22	1.806	2.192	0.166	0.140

en la superficie de la semilla. El quitosano se gelificó con soluciones de NaOH 0.5 y 1N, sin diferencias físicas notables del recubrimiento. Sin embargo, la superficie de la semilla se afectó cuando la concentración de NaOH aumentó a 1N, por lo cual se eligió la solución de NaOH 0.5 N. El tiempo mínimo para la obtención de recubrimientos estables y homogéneos de quitosano fue 5 min.

Emergencia

Bhaskara *et al.*, 1999 reportaron que el quitosano tiene efectos positivos en el crecimiento de las plantas (raíces, retoños y hojas) y la germinación de semillas. Sin embargo, en nuestro estudio, el quitosano redujo la emergencia de las semillas de maíz, la cual se acentúa con la adición de fertilizantes y ácido salicílico. Estos resultados concuerdan con los de Arias *et al.* (1998), quienes recubrieron semillas de maíz con quitosano combinado con Captan para controlar el deterioro inducido por *Pythium spp.* y observaron que las plantas de maíz redujeron su emergencia significativamente.

Los recubrimientos mostraron un efecto adverso en la emergencia de las semillas, porque presentaron valores de 13 a 67 % menores al testigo para el quitosano, y 7 a 40 % menores al testigo en el alginato de sodio. Sin embargo, los tratamientos con alginato de sodio solo disminuyeron en promedio 10 % la emergencia de las semillas de la variedad HS- 2, comparada con la línea CMS939083 cuya emergencia se redujo 17 %, en promedio con respecto al testigo.

El efecto negativo del quitosano sobre la emergencia de las semillas puede explicarse por las altas concentraciones de polímero, ya que Guan *et al.* (2009) observaron un incremento en la emergencia de semillas de maíz recubiertas con quitosano cuando fueron sometidas a condiciones de estrés por temperatura. Lárez *et al.* (2012) mostraron que el quitosano con alto peso molecular estimula un mayor potencial de emergencia en semillas de calabacín (*Cucurbita Pepo*). Esto se repite en algodón americano (*Gossypium Irsutum*) y maíz (*Zea Mays L.*) (Tingda *et al.*, 1994), trigo (*Triticum Aestivum*) (Bhaskara *et al.*, 1999 y Reddy *et al.*, 1999), pepino (*Cucumis Sativus*), pimienta (*Capsicum Annuum*), calabaza (*Cucurbita Sp.*) (Chandrkrachang, 2002) y alcachofa (*Cynara Scolymus L.*) (Ziani *et al.*, 2010).

the control for chitosan, and 7 to 40% lower than the control in sodium alginate. However, treatments with sodium alginate only decreased by an average of 10% the emergence of the seeds of the variety HS-2, compared to the line CMS939083 whose emergence was reduced by 17% on average, compared to the control.

The negative effect of chitosan on the emergence of seeds can be explained by the high concentrations of polymer. Guan *et al.* (2009) observed an increase in the emergence of maize seeds coated with chitosan when subjected to temperature stress conditions. Lárez *et al.* (2012) showed that chitosan with high molecular weight stimulates a greater potential of emergence in zucchini seeds (*Cucurbita pepo*). This is repeated in American cotton (*Gossypium hirsutum*), maize (*Zea mays L.*) (Tingda *et al.*, 1994), wheat (*Triticum aestivum*) (Bhaskara *et al.*, 1999 and Reddy *et al.*, 1999), cucumber (*Cucumis sativus*), pepper (*Capsicum annuum*), squash (*Cucurbita sp*) (Chandrkrachang, 2002) and artichoke (*Cynara scolymus L.*) (Ziani *et al.*, 2010). The concentrations of chitosan evaluated in these studies range from 0.5 to 2% of the polymer (p/v), and the seeds were only immersed in the suspensions for a certain time and filtered, leaving a thin coating on the seed. These low coating conditions allowed the seeds to emerge without any physical barrier, but in our study it was the opposite because a greater amount of coating was generated on the seed, which was a quality required for the study. A greater coating on the seeds could reduce the rate of seed imbibition due to the polyionic properties of chitosan, which allow it to form water-insoluble complexes (Argin *et al.*, 2009), causing the seeds to take longer to emerge or not germinate.

Sodium alginate presents high permeability, does not repel water and swells with prolonged exposure to water (McHugh, 1987), allowing proper imbibition of the seed, which favors the germination process and generates emergence percentages similar to the control (uncoated seed). However, the combination of sodium alginate with fertilizers decreased germination in both lines evaluated, with a greater effect in the line CMS939083. These results are similar to those by Sarrocco *et al.* (2004), who coated wheat seeds with sodium alginate and emergence percentages were similar to those of untreated seeds.

Las concentraciones de quitosano evaluadas en estos estudios van de 0.5 a 2 % del polímero (p/v), y las semillas sólo se sumergieron en las suspensiones por cierto tiempo y se filtraron, dejando un delgado recubrimiento sobre la semilla. Estas condiciones de escaso recubrimiento permitieron que las semillas emergieran sin ninguna barrera física, pero en nuestro estudio fue lo contrario porque se generó una mayor cantidad de recubrimiento sobre la semilla, lo cual fue una cualidad requerida para el estudio. Un recubrimiento mayor sobre las semillas pudo reducir la velocidad de imbibición de la semilla debido a las propiedades poliónicas del quitosano, las que le permiten formar complejos insolubles en agua (Argin *et al.*, 2009), lo cual causó que las semillas tardaran más tiempo para emerger o no germinaran.

El alginato de sodio presenta alta permeabilidad, ya que no repele al agua y se hincha con la exposición prolongada al agua (McHugh, 1987), permitiendo una imbibición adecuada de la semilla, favoreciendo el proceso germinativo y generando porcentajes de emergencia similares al testigo (semilla sin recubrir). Sin embargo, la combinación de alginato de sodio con fertilizantes disminuyó la germinación en ambas variedades, con un efecto mayor en la línea CMS939083. Estos resultados son similares a los de Sarrocco *et al.* (2004), quienes recubrieron semillas de trigo con alginato de sodio y los porcentajes de emergencia fueron similares a las semillas no tratadas.

Desarrollo radical

En la plantas de maíz de 30 DDS hubo efecto ($p \leq 0.05$) de la dosis de fertilización en la mayoría de las variables (Cuadro 3). Las plantas de maíz de 50 DDS solo presentaron efectos significativos ($p \leq 0.05$) en la materia fresca de raíz, por lo cual se omitió la información del ANDEVA.

Brown y Scott (1984) mencionan que el suelo o sustrato donde se coloca la semilla, así como el clima y el propio cultivo, influyen en las cualidades físicas de las raíces desarrolladas en las plantas. La semilla de la variedad HS-2 evaluada 30 DDS mostró un vigor inicial mayor que la línea CMS939083, al producir mayor biomasa radical. Sin embargo, la longitud radical fue mayor en la línea CMS939083, lo cual puede explicarse por el uso de las reservas de la semilla para la elongación de la raíz en vez de la producción de materia seca (Figura 3).

Root development

In maize plants 30 DAS there was an effect ($p \leq 0.05$) of the fertilization dose on most response variables (Table 3). The 50 DAS maize plants showed significant effects ($p \leq 0.05$) only on the fresh root matter, therefore the information from ANDEVA was omitted.

Brown and Scott (1984) mentioned that the soil or substrate where the seed is placed, as well as the climate and the own crop influence the physical qualities of the roots developed in the plants. The variety HS-2 evaluated 30 DAS showed an initial seed vigor greater than the line CMS939083, because it produced greater root biomass. However, the root length was higher in the line CMS939083, which can be explained by the use of seed reserves for root elongation instead of dry matter production (Figure 3).

The variables measured in plants 30 DAS were susceptible to the fertilization dose, evidencing a marked negative effect of fertilizers and salicylic acid (Table 4). These results are similar to those by Gawade and Somawanshi (1979), who show that the application of fertilizers in insoluble forms does not affect the emergence, so they can be used in seeds for initial stages of cultivation. However, Scott *et al.* (1985) and Scott (1975) state that insoluble fertilizers are ineffective in promoting initial plant growth.

The effect of fertilizers will depend on the type and amount of fertilizer added, crop species, and the texture and moisture of the substrate. The highest amount of fertilizer produced the lowest values in aerial and root biomass, and root length in plants with 30 days of development. However, 50 DAS plants did not show significant differences between treatments due to a likely decrease in the effect of fertilizers.

These results can be explained by what has been reported by Melaj and Daraio (2012), who found that chitosan releases fertilizer in short times since its swelling capacity is high, the previous phase for the release of fertilizer. Therefore, fertilizers probably generated saline conditions that affected the growth and development of the plant.

Nutritional concentration

When the needs of a crop (nutritional and others) are satisfied the concentration of nutrients

Cuadro 3. Diferencia estadística de factores e interacciones en la biomasa producida y longitud radical de plantas de maíz con 30 días de desarrollo[†].

Table 3. Statistical difference of factors and interactions in the biomass produced and root length of maize plants 30 days after sowing[†].

Fuente de variación	MFPA	MFR	MSPA	MSR	LR
Variedad (V)	ns	**	ns	**	*
Polímero (P)	ns	ns	ns	ns	ns
Dosis de fertilización (F)	**	**	**	*	**
Interacción V*P	ns	ns	ns	ns	ns
Interacción V*F	ns	ns	ns	ns	ns
Interacción P*F	ns	ns	ns	ns	ns
Interacción V*P*F	ns	**	ns	ns	*

Ns: no significativa; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$. [†]MFPA: materia fresca de la parte aérea, MFR: materia fresca de raíz, MSPA: materia seca de la parte aérea, MSR: materia seca de raíz y, LR: longitud radical ♦ ns: not significant; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; [†]MFPA: fresh matter of the aerial part; MFR: fresh root matter; MSPA: shoot dry matter; MSR: root dry matter; LR: root length.

Las variables medidas en plantas de 30 DDS fueron susceptibles a la dosis de fertilización y evidencia un marcado efecto negativo de los fertilizantes y ácido salicílico (Cuadro 4). Estos resultados son similares a los de Gawade y Somawanshi (1979), quienes mostraron que la aplicación de fertilizantes en formas insolubles no afecta la emergencia, por lo que son seguros utilizarlos en semillas para etapas iniciales del cultivo. Sin embargo, Scott *et al.* (1985) y Scott (1975) mencionan que los fertilizantes insolubles son ineficaces para promover el crecimiento inicial de la planta.

El efecto de los fertilizantes dependerá del tipo y cantidad de fertilizante adicionado, especie de cultivo, y la textura y humedad del sustrato. La mayor cantidad de fertilizante produjo los valores más bajos en biomasa aérea y radical, y longitud radical en plantas con 30 días de desarrollo. Sin embargo, las plantas de 50 DDS no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, debido a una probable disminución de los fertilizantes, lo que redujo su efecto en los tratamientos. Estos resultados se pueden explicar con lo reportado por Melaj y Daraio (2012), quienes muestran que el quitosano libera el fertilizante en tiempos cortos, ya que su capacidad de hinchamiento es alta, fase previa para la liberación del fertilizante. Por lo tanto, los fertilizantes probablemente generaron condiciones salinas que afectaron el crecimiento y desarrollo de la planta.

throughout the plant reach levels that vary with age and the type of plant (Etchevers, 2008). This explains the differences in nutrient concentration between variety or lines and days of development of maize plants (Table 5), because in plants 30 DAS the concentration of N in leaf and P in the root of

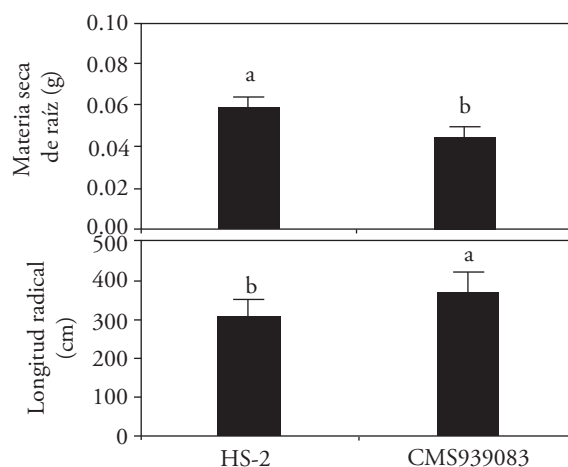


Figura 3. Efecto de la variedad sobre el desarrollo radical de plantas de maíz con 30 días de desarrollo (LSD, $p \leq 0.05$, materia seca de raíz; DMS=0.0057 y longitud radical; DMS=50.756).

Figure 3. Effect of race on the root development of maize plants 30 days after sowing (LSD, $p \leq 0.05$, root dry matter, DMS=0.0057 and root length, DMS=50.756).

Cuadro 4. Comparación de medias de biomasa y longitud radical en plantas de maíz con 30 días de desarrollo en función de la dosis de fertilización.**Table 4. Comparison of biomass means and root length in maize plants 30 days after sowing depending on the fertilization dose.**

Tratamiento [†]	Materia fresca		Materia seca		Longitud radical
	P. aérea	Raíz	P. aérea	Raíz	
	g				cm
Testigo	1.772 a	1.051 a	0.155 a	0.057 a	370.4 a
D1	1.571 ab	0.833 b	0.132 b	0.047 b	359.9 a
D2	1.380 b	0.755 b	0.122 b	0.049 b	269.2 b
DMS [‡]	0.228	0.160	0.019	0.007	63.3

Letras distintas indican diferencias significativas (LSD, $p \leq 0.05$). [†] Testigo=sin fertilizantes, D1=2.2 g N, 0.25 g P y 0.9 g K, D2=4.4 g N, 0.5 g P y 1.8 g K. [‡]DMS=diferencia mínima significativa ♦ Different letters indicate significant differences (LSD, $p \leq 0.05$). Check: no fertilizer, D1=2.2 g N, 0.25 g P and 0.9 g K; D2=4.4 g N, 0.5 g P and 1.8 g K. *DMS = significant minimum difference.

Concentración nutrimental

Cuando las necesidades de un cultivo (nutrimentales y otras) son satisfechas, la concentración de los nutrimentos en toda la planta alcanzan niveles que varían con la edad y tipo de planta (Etchevers, 2008). Esto explica las diferencias de concentración nutrimental entre las variedades o líneas y días de desarrollo de las plantas de maíz (Cuadro 5), porque en plantas de 30 DDS la concentración de N en hoja y P en raíz de la línea CMS939083 fue superior comparada con la de la variedad HS-2, y en plantas de 50 DDS la concentración de potasio en hoja en la variedad HS-2 fue superior comparada con la de la línea CMS939083 ($p \leq 0.05$).

El requerimiento interno de N, P, K en la biomasa aérea total de plantas de maíz que han alcanzado la máxima producción se ha estimado en 1.0, 0.17 y 1.0 % (Rodríguez, 1993), y la concentración de algunos nutrimentos disminuyen en el tejido (MS) a medida que la planta crece (N, P, K, Mg), mientras que otros aumentan (Ca, Mn) (Etchevers, 2008), esto puede explicar que la concentración nutrimental en plantas de 30 DDS solo mostró el efecto significativo ($p \leq 0.05$) de los polímeros en la acumulación de K en la hoja de las plantas de maíz, mientras que en plantas con 50 DDS, los polímeros produjeron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la acumulación de N en la raíz (Cuadro 6). Además, el quitosano está compuesto por dos unidades estructurales: la N-acetil-D-glucosamina y la D-glucosamina (Peniche,

the line CMS939083 were higher than the variety HS -2, and in 50 DAS plants the leaf potassium concentration in the variety HS-2 was higher than in the line CMS939083 race ($p \leq 0.05$).

The internal requirements of N, P, K in the total above-ground biomass of maize plants that have reached the maximum production have been estimated at 1.0, 0.17 and 1.0 % (Rodríguez, 1993), and the concentration of some nutrients decreases in the tissue (MS) as the plant grows (N, P, K, Mg), while others increase (Ca, Mn) (Etchevers, 2008); this may explain that the nutrient concentration in plants 30 DAS only showed the significant effect ($p \leq 0.05$) of the polymers on the accumulation of K in the leaf of maize plants, while in plants 50 DAS, the polymers produced significant differences ($p \leq 0.05$) in the accumulation of N in the root (Table 6). In addition, chitosan is composed of two structural units: N-acetyl-D-glucosamine and D-glucosamine (Peniche, 2006), which contain nitrogen that during the chitosan degradation process was probably used by the plant, which explains the difference in nutrient concentration between 50 DAS plants.

CONCLUSIONS

Chitosan had lower average emergence percentages than the control in both maize genetic lines when applied to the seed alone or combined with fertilizers. Sodium alginate reduced the percentages of emergence to a lesser extent than chitosan

Cuadro 5. Comparación de medias de la concentración nutricional en la biomasa de plantas de maíz en función de la variedad.**Table 5. Comparison of nutritional concentration means in the biomass of maize plants depending on the genetic line.**

Tratamiento	30 DDS		50 DDS
	N-hoja	P-raíz %	K-hoja
HS-2	2.64 b	0.16 b	5.29 a
CMS939083	2.83 a	0.19 a	4.87 b
DMS [†]	0.17	0.02	0.41

Letras distintas indican diferencias significativas (LSD, $p \leq 0.05$). DDS: Días después de la siembra, N: nitrógeno, P: fósforo, K: potasio. [†]DMS: diferencia mínima significativa ♦ Different letters indicate significant differences (LSD, $p \leq 0.05$). DAS: Days after sowing; N: nitrogen; P: phosphorus; K: potassium; DMS: minimum significant difference.

2006), que presentan nitrógeno y durante el proceso de degradación del quitosano probablemente fue aprovechado por la planta, lo cual explica la diferencia de concentración nutricional en las plantas de 50 DDS.

CONCLUSIONES

El quitosano presentó porcentajes de emergencia promedio inferiores al testigo en las líneas genéticas de maíz cuando se aplicó a la semilla sólo o combinado con fertilizantes. El alginato de sodio redujo los porcentajes de emergencia en menor grado que el quitosano, en la variedad HS-2 y en la línea CMS939083, aunque sin fertilizantes logró porcentajes de germinación similares al testigo. El desarrollo radical de las plantas no fue estable en ambas líneas genéticas. La variedad HS-2 produjo mayor cantidad de materia seca de raíz, pero la línea CMS939083 generó mayor longitud radical. La adición de fertilizantes y ácido salicílico a las semillas disminuyó la producción de biomasa y longitud radical de las plantas de maíz. La concentración de nitrógeno, fósforo y potasio en las plantas de maíz fue variable, por lo cual no hay un efecto concluyente de los recubrimientos sobre la acumulación de nutrimentos en la planta.

Cuadro 6. Comparación de medias de la concentración nutricional en la biomasa de plantas de maíz en función del polímero.**Table 6. Comparison of nutrient concentration mean in maize plants biomass depending on the polymer.**

Tratamiento	K-hoja (30 DDS)	N-raíz (50 DDS)
	%	
Testigo	4.97 a	1.11 b
Quitosano	4.32 b	1.25 a
Alginato de sodio	4.81 ab	1.13 b
DMS	0.56	0.11

Letras distintas indican diferencias significativas (LSD, $p \leq 0.05$). DDS: Días después de la siembra, N: nitrógeno, P: fósforo, K: potasio. [†]DMS: diferencia mínima significativa ♦ Different letters indicate significant differences (LSD, $p \leq 0.05$). DAS: Days after sowing; N: nitrogen; P: phosphorus; K: potassium; [†]DMS: minimum significant difference.

in the variety HS-2 and the line CMS939083, although without fertilizers it obtained germination percentages similar to the control. The root development of plants was not stable in both genetic lines. The variety HS-2 race produced dryer root matter, but the line CMS939083 generated greater root length. The addition of fertilizers and salicylic acid to the seeds decreased biomass production and root length of maize plants. The concentration of nitrogen, phosphorus and potassium in maize plants was variable, so there is no conclusive effect of the coatings on the accumulation of nutrients in the plant.

—End of the English version—

---*---

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados (Fideicomiso 167304) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo en el financiamiento del proyecto. Al Dr. Aquiles Carballo Carballo del Programa de Semillas del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo por otorgar las semillas de maíz evaluadas en este estudio.

LITERATURA CITADA

- Arias R., B., C. McGee D., y S. Burris J. 1998. Evaluación del potencial de polímeros como agentes envoltantes de fungicidas en el tratamiento de semillas de maíz para el control de *Phythium* spp. *Agron. Trop.* 48: 471-488.
- Argin S., S., P. Kofinas, and Y. Martin L. 2009. Effect of complexation conditions on xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels. *Food Hydrocoll.* 23:202-209.
- Avelar, S. A. G., F. V. De Sousa, G. Fiss, L. Baudet, and S. T. Peske. 2012. The use of film coating on the performance of treated corn seed. *Rev. Bras. Sem.* 34: 186-192.
- Bhaskara, M., J. Arul, P. Angers, y L. Couture. 1999. Chitosan treatment of seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1208-1216.
- Böhm, W. 1979. *Methods of Studying Root Systems*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 188 p.
- Brown D., A., and D. Scott H. 1984. Dependence of crop growth and yield on root development and activity. *In: Roots, Nutrient and Water Flux, and Plant Growth*. Soil Sci. Soc. Am. and Am. Soc. Agron. 144 South Segoe Road, Madison.
- Chandkrachang, S. 2002. The application of chitin and chitosan in agriculture in Thailand. *In: Suchiva, K., Chandkrachang S., Methacanon P. y Peter M. (eds.). Advances in Chitin Science.* 5(1):458-462. Bangkok, Thailand.
- Costar, A., J. Peña A., M. Puig, A. Pérez, y A. Álvarez. 2013. Relaciones de competencia entre el maíz cultivado y las malas hierbas. *Agricultura* 1: 6-10.
- Etchevers B., J. D. 2008. Nutrición en Maíz. *In: De León C., y R. Rodríguez M. (eds). El Cultivo de Maíz. Temas Selectos Vol. 2. Colegio de Postgraduados, México.* pp: 1-27.
- Gawade J., R., and B. Somawanshi R. 1979. Presowing seed coating with P-Zn mixtures; their influence on available P and Zn in the soil and dry matter yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Maharashtra Agric. Univ.* 4: 274-277.
- Gouin, S. 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends Food Sci. Tech.* 15: 330-347.
- Guan, Y. J., J. Hu, X. J. Wang, and C. X. Shao. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 10: 427-433.
- Guevara B., N. A., y T. Jiménez M. 2008. Encapsulación: Técnicas y aplicaciones en la industria alimentaria. *Temas Sel. Ing. Alim.* 2: 36-49.
- Hochholdinger, F., F. Woll, M. Sauer, and D. Dembinsky. 2004. Genetic dissection of root formation in maize (*Zea mays*) reveals root-type specific developmental programmes. *Ann. Bot.* 93: 359-368.
- Kong M., X. G. Chen, K. Xing, and H. J. Park. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *Int. J. Food Microbial.* 144: 51-63.
- Koornneef, M., L. Bentsink, and H. Hilhorst. 2002. Seed dormancy and germination. *Current opinion. Plant Biol.* 5: 33-36.
- Lakkis J., M (ed). 2007. *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems*. Blackwell Publishing, Oxford. 239 p.
- Lárez V., C. 2006. Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y futuro. Departamento de química. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. *Avances en Quím.* 1: 15-21.
- Lárez V., C. 2008. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. Departamento de química. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. *UDO Agrícola* 8: 1-22.
- Lárez V., C., A. Chirinos, M. Tacoronte, and A. Mora. 2012. Chitosan oligomers as bio-stimulants to Zucchini (*Cucurbita pepo*) seed germination. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)* 58: 113-119.
- Lupo P., B., C. González A., y A. Maestro G. 2012. Microencapsulación con alginato en alimentos. *Técnicas y aplicaciones*. Rev. Venezolana Ciencia Tecnol. Alim. 3: 130-151.
- Larqué S., A., and R. Martín M. 2007. Effects of salicylic acid on the bioproductivity of plants. *In: Hayat S. and A. Ahmad (eds). Salicylic Acid a Plant Hormone*. Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp: 15-24.
- Lizárraga P., E. G., I. Torres P., E. Moreno M., y S. P. Miranda C. 2011. Protección contra estrés biótico inducida por quitosán en plántulas de maíz (*Zea mays* L.). *Rev. Mex. Ciencias Agríc.* 2: 813-827.
- McHugh D., J. 1987. Production, properties and uses of alginates. Department of Chemistry. University of New South Wales. Australian Defense Force Academy. Campbell, Australia.
- Melaj M., A., y E. Daraio M. 2012. Matrices poliméricas sólidas basadas en quitosano y xantano para liberación controlada de fertilizantes. *Avances Ciencias Ing.* 3: 1-9.
- Niquette, P., F. Monette, A. Azzouz, y R. Hausler. 2004. Impacts of substituting aluminium-based coagulants in drinking water treatment. Review article. *Water Qual. Res. J. Can.* 39: 303-310.
- Parra H., R. A. 2010. Revisión: Microencapsulación de alimentos. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 63: 5669-5684.
- Peniche C., C. 2006. Estudios sobre quitina y quitosana. Tesis doctoral. Facultad de Química. Universidad de La Habana. Cuba.
- Reddy K., R., and Reddy P., S. 2010. Effect of different co-polymers on sodium alginate microcapsules containing isoniazid. *International J. Pharm. Tech. Res.* 2: 2198-2203.
- Revilla P., A., R. Butrón, A. Malvar, and A. Ordás. 1999. Relationships among Kernel weight, early vigor and growth in maize. *Crop Sci.* 39:654-658.
- Rodríguez S., J. 1993. *La Fertilización de Cultivos Segunda Edición*. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 291 p.
- Rodríguez H., A., A. Valderrama, H. Alarcón, y A. López. 2010. Preparación de partículas de quitosano reticuladas con tripolifosfato y modificadas con polietilenglicol. *Rev. Soc. Quím. Perú.* 76: 336-354.
- Sarroco, S., R. Raeta, and G. Vannacci. 2004. Seeds encapsulation in calcium alginate pellets. *Seed Science and Technology* 32: 649-661
- Scott, D. 1975. Effects of seed coating on establishment. *NZ J. Agric. Res.* 18: 59-67.
- Scott J., M., J. Mitchell C., and J. Blair G. 1985. Effect of nutrient seed coating on the emergence and early growth of perennial ryegrass. *Austr. J. Agric. Research.* 36: 221-231.

- Soltani, A., M. J. Robertson, B. Torabi, M. Yousefi-Daz, and R. Sarparast. 2006. Modelling seedling emergence in chickpea as influenced by temperature and sowing depth. *Agric. For. Meteorol.* 138: 156-167.
- Steiner A., A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil* 15: 134-154.
- Tillman M., A. A., e M. Miranda D. 2006. Análise de sementes. *In: Peske S., T., O. A. Lucca F., e S. A. Barros A. C. (eds) Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos. Pelotas. UFPel. pp: 159-255.*
- Tingda, J., M. Ruixia, Q. Ruiming, and Z. Chunping. 1994. Seed treatment and inhibition of plant pathology of chitosan. *Journal of Environmental Sciences* 6:112-115.
- Walinga, I., J. J. Van Der Lee, V. J. G. Houba, W. Van Vark, and I. Novozamsky. 1995. *Plant Analysis Manual*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands. 195 p.
- Ziani, K., B. Ursúa, and J. Maté. 2010. Application of bioactive coatings based on chitosan for artichoke seed protection. *Crop Protec.* 29: 853-859.