



Relación entre la conductividad eléctrica, pH del agua de remojo, germinación de semillas y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) bajo dos condiciones experimentales

Relationship among electrical conductivity, pH of soaked-water, seed germination and seedling growth of corn (*Zea mays* L.) under two experimental conditions

Hilmig Viloria¹ y Jesús Rafael Méndez Natera^{2,*}

¹ Departamento de Ciencias, Unidad de Estudios Básicos, Universidad de Oriente.

² Departamento de Agronomía, Escuela de Ingeniería Agronómica, Universidad de Oriente. Campus Los Guaritos, Maturín, 6201, estado Monagas. Venezuela. Tele-fax: 58-291-3004091.

Recibido 10 agosto 2011; aceptado 19 diciembre 2011

Resumen

Semillas de maíz (*Zea mays* L.) de 12 lotes de diferentes años de adquisición se utilizaron para estudiar la relación entre las mediciones de conductividad eléctrica (CE) y pH del agua de remojo y la germinación en laboratorio, bajo condiciones normales (CN) y uso de envejecimiento acelerado (EA) de las semillas. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, se aplicó un análisis de varianza convencional y las diferencias entre los lotes se detectaron mediante la prueba de mínima diferencia significativa. Los lotes mostraron a los ocho días de evaluación altos porcentajes de germinación en CN y se evidenció el efecto desfavorable sobre la germinación post tratamiento de EA. El peso seco de la parte aérea y de la radícula arrojó diferencias significativas entre los lotes. Los lotes de semillas que mostraron altos porcentajes de germinación en laboratorio, previo EA, presentaron bajos valores de CE, por lo tanto, esta prueba podría ser buen indicativo del comportamiento de semillas de maíz en condiciones extremas o desfavorables de germinación. La prueba de pH no indicó relación directa con la emergencia de las semillas en laboratorio.

Palabras clave: Calidad de semilla, pruebas de vigor de estrés, crecimiento de plántulas.

Abstract

Corn (*Zea mays* L.) seeds of twelve lots of different acquisition years were used to study the relation among the measurements of electrical conductivity (EC) and pH of the soaking water and the germination in laboratory, under normal conditions (NC) and accelerated aging (AA) of seeds. A randomized complete block design was used with four replications, an analysis of variance was applied and differences among seed lots were detected by Least Significant Difference Test. Seed lots showed high percentage of germination at eight days of evaluation in (NC) and the unfavorable effect of AA was demonstrated. Dry shoot and radicle weights showed significant differences among the lots. Values of EC were related to percentage of germination in laboratory under AA. Seed lots that showed high percentage of germination in laboratory, previous AA, presented low values of electrical conductivity, therefore, this test could be good indicative of the behavior of corn seeds under extreme or unfavorable conditions of germination. The test of pH did not show direct relation with the seed emergency in laboratory.

Keywords: Seed quality, stress vigor tests, seedling growth.

1. Introducción

La calidad de la semilla tiene un efecto fundamental en el rendimiento del cultivo, por lo que resulta de suma importancia

poder discriminar entre diferentes lotes de semillas. Semillas de alta calidad podrían sembrarse en condiciones no óptimas, o podrían ser almacenadas por mayor tiempo

* Autor para correspondencia

Email: jmendezn@cantv.net (J. Méndez)

en comparación con lotes de menor vigor, pero dentro del rango de calidad. El vigor de las semillas es un factor muy importante, sobre todo por el incremento de los costos de las mismas.

Los programas de control de calidad de las semillas, basados en ensayos bien fundamentados, asegurarían que sólo las mejores semillas se ofrezcan en el mercado (McDonald, 1998). En Venezuela, el porcentaje del costo de las semillas de maíz representa, aproximadamente, 13% del costo total de producción, por lo cual, la selección y uso de semillas de alta calidad es extremadamente importante en la obtención de una adecuada y uniforme germinación y establecimiento del cultivo. Esta selección está basada en el resultado de varias pruebas de germinación y vigor llevadas a cabo en laboratorios antes de la siembra. Una desventaja frecuentemente asociada a la mayoría de estas pruebas es que requiere, por lo menos, entre siete y 10 días para obtener resultados. Sin embargo, la prueba de conductividad eléctrica (Wilson, 1992) y la prueba de pH (Peske y Amaral, 1986) se han propuesto para proveer estimados de germinación y/o vigor de semillas en 24 horas o menos. Por otra parte, la utilización de estas dos pruebas no requiere de equipos sofisticados y costosos ni de reactivos de difícil adquisición ni de personal altamente calificado, para determinar la conductividad eléctrica sólo se necesita de un conductímetro y en el caso del pH de un potenciómetro, equipos que están en la mayoría de los laboratorios. Chávez Cabrera y Peske (2002) con el fin de ratificar los resultados de la prueba de pH del exudado para los genotipos de maíz utilizaron 32 lotes de semillas en dos experimentos y encontraron que la germinación y el vigor (prueba de frío) se correlacionaron con los datos obtenidos en la prueba de pH del exudado y concluyeron que es posible determinar la viabilidad de semillas por la prueba de pH del exudado, mientras que Correa-Santana

et al. (1998) realizaron un experimento para adaptar la metodología de la prueba de pH del exudado con fenolfaleína en la evaluación de la calidad fisiológica de semillas de maíz, investigando el efecto de la temperatura, tiempo de remojo y tipo de preparación y encontraron que en la prueba de pH del exudado, el incremento de los periodos de remojo de 30 a 45 y 60 minutos de semillas seccionadas subestimó el potencial de la germinación de los lotes de semillas.

La prueba de conductividad eléctrica permite estimar la integridad de la membrana celular. La pérdida de la integridad de las membranas y la subsiguiente pérdida de solutos citoplasmáticos con propiedades electrolíticas son indicativas del rápido deterioro de las semillas. Por lo tanto, la evaluación de la conductividad eléctrica del exudado de las semillas debería ser una medida de su deterioro y, en consecuencia, de la calidad de las semillas para propósitos de siembra (Tajbakhsh, 2000). Sin embargo, la prueba de conductividad eléctrica para semillas de maíz no ha sido bien aceptada como lo ha sido para soya y vainitas (Gotardo *et al.*, 2001), por lo tanto, es necesario realizar investigaciones que conlleven a estandarizar esta prueba para maíz. Fessel *et al.* (2006) evaluaron los efectos de la temperatura (10, 20, 30, 20/10 y 30/10 °C) y el periodo de almacenamiento sobre la conductividad eléctrica en cuatro lotes de semillas de maíz y encontraron que con excepción de los lotes de semillas almacenados a 10 °C, todas las evaluaciones de vigor revelaron una disminución en el vigor, pero las pruebas de envejecimiento acelerado y de frío mostraron una mayor sensibilidad a disminuir la calidad fisiológica que la conductividad eléctrica, pero Woodstock y Feeley (1965) encontraron que la conductividad eléctrica correlacionó con el vigor de las plántulas en semillas de maíz. Igualmente, se han efectuado trabajos para verificar si los cambios de color están

relacionados con el pH de la solución exudada por las semillas durante el remojo, de manera tal que se pueda determinar cuantitativamente parámetros relacionados con la germinación a partir de valores de pH (Peske y Amaral, 1986). Estos autores desarrollaron un método colorimétrico en el que se asociaba la viabilidad de las semillas con una coloración rosada fuerte del exudado de las semillas remojadas en agua destilada, cuando estaban en presencia de sustancias como la fenolftaleína y el carbonato de sodio y que existió una buena relación entre la viabilidad y el pH del exudado de las semillas de soya, siendo determinado un periodo óptimo de 30 minutos de remojo. Los autores observaron que este cambio de color se debió a que el pH del exudado que, después de las 20 horas de remojo en agua destilada con $\text{pH } 7.00 \pm 0.05$, todas las semillas que presentaron el exudado con $\text{pH} \leq 5.80$ fueron las semillas muertas.

Amaral y Peske (1984) a partir de lotes de semillas de soya en varios cultivares investigaron la posibilidad de obtener información acerca de la germinación sobre la capacidad germinativa lo más rápido posible, después de remojar las semillas en agua destilada durante 20 a 40 minutos a 25°C en 2 ml del exudado de cada semilla se aplicó una gota de solución de carbonato de sodio y una gota de fenolftaleína y observaron que después de un período de 30 minutos de inmersión, fue posible distinguir las semillas viables de las no viables con el uso de estas soluciones. Para las semillas no viables, el exudado permanece incoloro y para las semillas viables el exudado adquiere un color rosado fuerte. En un experimento similar al anterior, pero en caraota (*Phaseolus vulgaris* L.), Fernandes *et al.*, (1987) evaluaron siete cultivares y encontraron que cuatro cultivares presentaron resultados similares entre la prueba de la germinación y el pH del exudado.

Martins *et al.* (2002) indicaron que una de las pruebas más utilizadas para la evaluación del vigor de las semillas es la de envejecimiento acelerado, la cual está basada en el aumento del deterioro de semillas, cuando son expuestas a condiciones adversas de alta temperatura y humedad relativa. Bajo estas condiciones, las semillas de baja calidad se deterioran más rápidamente que aquellas semillas más vigorosas, estableciendo diferencias en el potencial fisiológico de las muestras evaluadas. Según Colmenares (1988) el método de envejecimiento acelerado fue ideado para medir la capacidad de un lote de semillas para ser almacenado sin sufrir pérdidas importantes de viabilidad; sin embargo, se puede utilizar también para medir el vigor e identificar que lote de semillas es de mejor calidad para garantizar una buena producción, comercialización y almacenamiento de un cultivo determinado. Este autor reportó que lotes de semillas con igual porcentaje de germinación, presentaron diferentes respuestas a la prueba de envejecimiento, observándose que los mismos guardaron una estrecha relación con el período de almacenamiento e indicó que la prueba de envejecimiento es relativamente sencilla o fácil de aplicar a muchos cultivares; proporciona, de manera constante una verdadera información de la calidad del lote de semilla muestreado; puede ser repetida en cualquier otro laboratorio y que siendo la temperatura y la humedad relativa los factores más importantes que influyen en el proceso del deterioro de la semilla, la prueba de envejecimiento acelerado, constituye una gran posibilidad para predecir el potencial de almacenamiento.

A pesar de los esfuerzos realizados hasta ahora, la interpretación de la lectura de la conductividad eléctrica y del pH de los exudados liberados por las semillas precisa de estudios más detallados. Por lo cual, en el presente trabajo se estudian las relaciones entre pruebas de calidad de

semillas en el laboratorio (en condiciones normales y con uso de la cámara de envejecimiento acelerado) de 12 lotes de semillas de maíz con las pruebas de conductividad eléctrica y pH, así como se comparan los lotes de semillas dentro de cada prueba.

2. Materiales y métodos

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Producción de Semillas del Postgrado de Agricultura Tropical de la Universidad de Oriente, *Campus* Juanico en el año 2004. Se utilizaron 12 lotes de semillas de seis cultivares adquiridos en el comercio en años diferentes, estos son: Himeca 95 (2003), Himeca 95 (2004), Pioneer 3018 (2002), Pioneer 3031 (2002), Pioneer 3031 (2003), Sefloarca 91 (2002), Sefloarca 91 (2003), Merideño (2002), Merideño (2003), Maíz Cariaco Jusepín (2000), Maíz Cariaco San Antonio (2002) y Maíz Cariaco Jusepín (2003), el número dentro del paréntesis indica año de adquisición de las semillas. Los híbridos Himeca 95, Pioneer 3018, Pioneer 3031 y Sefloarca 91 representan cultivares pertenecientes al sistema de producción de semilla certificada, mientras que Merideño y Maíz Cariaco representan cultivares pertenecientes al sistema artesanal de producción de semilla, denominada semilla común, la cual es aquella que reúne requisitos mínimos de calidad y sanidad establecidos, sin estar involucrados al proceso de certificación (República de Venezuela, 1986).

Las semillas tuvieron una germinación inicial superior al 95%. Las semillas de los 12 lotes una vez adquiridas se almacenaron a bajas temperaturas (5 ± 1 °C) en el Laboratorio de Semillas para retardar su deterioro, debido al largo periodo de tiempo transcurrido entre su adquisición y la fecha de realización del ensayo (año 2004), especialmente en el caso de los lotes adquiridos en el 2000 y 2002.

En el laboratorio se realizaron las siguientes pruebas:

Porcentaje de humedad: Se colocaron 25 semillas no sujetas a envejecimiento acelerado de cada lote de semillas con dos repeticiones, en la estufa a 105 °C durante 24 horas.

Germinación estándar: Se sembraron cuatro repeticiones de 25 semillas de cada uno de los 12 lotes de semillas. Castañeda Saucedo *et al.* (2006) realizaron la prueba de germinación estándar en toallas de papel, de acuerdo con la metodología de ISTA, excepto que utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas en lugar de 100 semillas, otros autores también han utilizado 25 semillas por repetición (Welbaum y Bradford, 1990; Furbeck *et al.*, 1993; Wanli *et al.*, 2001; Cordova-Tellez y Burris, 2002; Basra *et al.*, 2004; García *et al.*, 2004; Mora Aguilar *et al.*, 2006; Neyra, 2006; Silva, 2006; Changrong *et al.*, 2007; Lahuta *et al.*, 2007; Rodrigues Maia *et al.*, 2007; Santos y Paula, 2007). Las semillas se sembraron en bandejas de metal con dos hojas de papel absorbente y cubiertas con dos hojas más de dicho papel. Las semillas fueron previamente desinfectadas con solución de cloro comercial (5.25% hipoclorito de sodio) al 10% por tres minutos y se humedecieron diariamente. Se cosecharon a los ocho días, en lugar de los siete días como lo indica la metodología ISTA. Otros autores han evaluado la germinación en maíz a los ocho días (Salazar *et al.*, 2006; Hoffman y Castiglioni, 2006).

Envejecimiento acelerado: Cuatro repeticiones de 25 semillas de cada lote se colocaron en la cámara de envejecimiento acelerado (CEA) por 72 horas a una temperatura de 45 ± 1 °C y 100% de humedad relativa. Las semillas, posteriormente se sembraron sobre bandejas con papel absorbente y cubiertas con hojas del mismo papel, regadas diariamente durante ocho días.

Los parámetros evaluados a los 8 días después de la siembra fueron: Porcentaje de germinación, altura de la plántula, peso seco del vástago, peso seco de la radícula. Los valores de peso seco se obtuvieron después de que el material vegetal permaneció en estufa durante 72 horas a 80 °C. El porcentaje de germinación fue evaluado a los 8 días en lugar de los 7 días como lo establece las normas ISTA de manera de relacionar la germinación con los caracteres del crecimiento de las plántulas en una misma fecha de evaluación.

Conductividad eléctrica (CE): Se determinó de acuerdo a la metodología modificada por Viloria y Méndez-Natera (2007). Se colocaron cuatro repeticiones de 25 semillas de cada lote en vasos plásticos de 135 ml, con 25 ml de agua destilada durante dos períodos de inmersión: 14 y 20 horas. Viloria y Méndez-Natera (2007) concluyeron que basado en la mayor variación entre los 12 lotes de semillas de maíz para las figuras de la conductividad eléctrica y pH en función del tiempo de imbibición, sugirieron los tiempos de inmersión de 14 y 20 horas como los más adecuados para determinar el pH y la conductividad eléctrica del agua de remojo de las semillas de los lotes de maíz, utilizando 25 semillas colocadas en vasos plásticos de 135 ml, con 25 ml de agua destilada. Posteriormente se midieron los valores de conductividad eléctrica con un

conductímetro marca Oakton, modelo 35661-41 para su tabulación y análisis.

pH: Se determinó simultáneamente y en el mismo lixiviado de la conductividad eléctrica a las 14 y 20 horas de inmersión. El pH se midió con un potenciómetro marca Oakton pH 10 series, modelo 35674-02.

En todos los ensayos se utilizó un diseño de bloques completos al azar, se aplicó un análisis de varianza convencional y las diferencias entre cultivares dentro de cada prueba de semillas se detectaron mediante la prueba de mínima diferencia significativa. Se determinó el coeficiente de correlación lineal simple entre las diferentes pruebas. Se consideraron niveles de significación de 5%.

3. Resultados y discusión

En la Tabla 1 se aprecian los análisis de varianza para los parámetros evaluados en laboratorio bajo condiciones normales y el contenido de humedad y peso de 25 semillas. En la Tabla 2 se muestran los análisis de varianza para los caracteres evaluados en laboratorio con uso de la cámara de envejecimiento acelerado, pH y conductividad eléctrica del agua de remojo de las semillas de 20 h (no se muestran los resultados de 14 h de remojo por ser muy similares a los obtenidos con 20 h). Hubo diferencias significativas o altamente significativas en todos ellos.

Tabla 1

Análisis de varianza para caracteres evaluados en la prueba de germinación estándar en condiciones de laboratorio ocho días después de la siembra.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios							
		Humedad (%)	Peso 25 semillas (g)	% Germinación	Altura planta (cm)	Peso seco vástago (g)	Peso seco radícula (g)	Número de hojas	Diámetro de tallo (mm)
Repetición	3	6.635ns	0.0747*	24.33ns	16.51*	0.0808*	0.1263*	0.0891*	0.0796*
Cultivar	11	9.000*	1.0490*	78.15*	5.91*	0.1119*	0.1052*	0.0548*	0.0467*
Error	33	3.054	0.0223	14.87	0.79	0.0056	0.0083	0.0150	0.0254
Total	47								
Promedio		11.39	2.63	95.91	14.21	0.844	0.798	2.02	1.93
CV (%)		15.33	5.68	4.02	6.28	8.88	11.41	6.06	8.28

*: Significativo ($p \leq 0.05$); ns : No significativo ($p > 0.05$). CV = Coeficiente de variación.

Tabla 2

Análisis de varianza para caracteres evaluados en la prueba de envejecimiento acelerado en condiciones de laboratorio ocho días después de la siembra.

Fuente de variación	Grado de libertad	Cuadrados medios							
		Conductividad eléctrica (dS/cm) (20h)	pH (20h)	Porcentaje germinación	Altura planta (cm)	Peso seco vástago (g)	Peso seco radícula (g)	Número de hojas	Diámetro de tallo (mm)
Repetición	3	0.0124ns	0.0126ns	9.33ns	6.577ns	0.0252ns	0.0041ns	0.0374ns	0.1090*
Cultivar	11	0.0292*	0.2599*	1451.27*	7.494ns	0.2314*	0.1938*	0.2202*	0.1941*
Error	33	0.0059	0.0063	234.55	4.1028	0.01839	0.0212	0.0533	0.0161
Total	47								
Promedio		0.18	5.25	61.50	10.90	0.5063	0.4104	1.64	1.90
CV (%)		42.43	1.51	24.90	18.59	26.79	35.49	14.09	6.68

*: Significativo ($p \leq 0.05$); ns : No significativo ($p > 0.05$). CV = Coeficiente de variación.

En la Tabla 3 se observa que los cultivares con mayor contenido de humedad de las semillas no sometidas a envejecimiento acelerado son los materiales de polinización libre, procesados de manera artesanal (Cariacos y Merideños), todos estadísticamente similares entre sí y a Pioneer 3031 (2003), mientras que el resto de los híbridos comerciales presentaron menores porcentajes de humedad. Se evidencia que

las técnicas de secado y almacenamiento de las semillas certificadas de uso comercial son más eficientes que las utilizadas por los propios productores para secar y almacenar semillas por métodos tradicionales. Por otra parte, los cultivares con semillas más pesados fueron Merideño (2002) y Merideño (2003), mientras que Cariaco Jusepín (2000) presentó las semillas más livianas.

Tabla 3

Promedio de los porcentajes de germinación ocho días después de la siembra, contenido de humedad y peso de semilla y valores de conductividad eléctrica y pH de 12 lotes de semillas de maíz (*Zea mays* L.).

Lotes	Pruebas						
	Germinación Standard (%)	Envejecimiento Acelerado (%)	Contenido de Humedad (%)	Conductividad eléctrica (20 h) (mS)	pH (20 h)	Peso de 25 semillas (g)	
Sefloarca 91 (2002)†	100 a ‡	46 de	13.51 a	0.17 cd	5.15 cd	2.70 c	
Cariaco Jusepín (2003)	99 a	80 ab	13.25 ab	0.02 e	5.39 b	2.13 e	
Cariaco San Antonio (2002)	99 a	69 abc	13.03 abc	0.15 d	5.55 a	2.25 de	
Merideño (2002)	99 a	75 ab	12.77 abc	0.17 cd	5.09 de	3.43 a	
Pioneer 3018 (2002)	99 a	84 a	11.94 abcd	0.12 de	5.07 de	2.43 d	
Pioneer 3031 (2003)	99 a	60 bcd	11.76 abcd	0.30 ab	5.15 cd	3.00 b	
Himeca 95 (2003)	98 a	40 de	10.79 bcde	0.32 a	5.25 c	2.73 c	
Himeca 95 (2002)	97 ab	49 cde	10.54 cde	0.17 cd	5.07 de	2.25 de	
Merideño (2003)	92 bc	88 a	10.13 de	0.10 de	5.02 e	3.33 a	
Pioneer 3031 (2002)	92 bc	39 de	10.04 de	0.15 d	4.90 f	2.98 b	
Sefloarca 91 (2003)	90 c	35 e	9.90 de	0.27 abc	5.65 a	2.68 c	
Cariaco Jusepín (2000)	87 c	73 ab	9.13 e	0.20 bcd	5.65 a	1.68 f	
MDS ($p \leq 0.05$)	5.85 %	20.96 %	2.51 %	0.111 mS	0.11	0.22	
CV (%)	4.28	26.14	15.33	42.43	1.51	5.68	

MDS: Mínima Diferencia Significativa, CV = Coeficiente de variación

† Número entre paréntesis indica año de adquisición de las semillas

‡ Letras iguales indican promedios estadísticamente iguales.

En la Tabla 3 se aprecia que en la prueba de germinación estándar, aunque hubo diferencias estadísticamente significativas entre los lotes, la mayoría se comportaron de forma relativamente homogénea, presentando entre 97 y 100% de germinación. Merideño (2003), Pioneer 3031 (2002), Sefloarca 91 (2003) y Cariaco Jusepín (2000) fueron los de menor porcentaje de germinación (92, 92, 90 y 87%, respectivamente).

El uso de la cámara de envejecimiento acelerado muestra que los lotes de semillas artesanales (Cariaco y Merideño), independientemente del año de adquisición, exhibieron porcentajes de germinación mayores a los lotes de semillas híbridas de casas comerciales con excepción del lote Pioneer 3018 (2002), el cual se comportó estadísticamente similar a los artesanales (Tabla 3). Varios factores podrían influir en estos resultados, como el porcentaje de humedad inicial y la forma y el tamaño de la semilla, en este ensayo los cultivares artesanales presentaron menores pesos de semillas a excepción de Merideño (2003) y Merideño (2002) sugiriendo que semillas más pequeñas serían menos afectadas por el envejecimiento acelerado.

Resultados similares fueron indicados por Arango Perearnau *et al.* (2006) quienes evaluaron tres lotes de semillas de soya de distinta calidad fisiológica (alta, media y baja) y aspecto visual del cultivar Tijereta 2049 y encontraron que en semillas de calidad media, aquellas de menor peso (12.92 g/100 semillas) tuvieron un mayor porcentaje de germinación después del envejecimiento acelerado en comparación con semillas sin envejecer, por el contrario, semillas más pesadas (17.66 y 15.78 g/100 semillas) sometidas a envejecimiento acelerado tuvieron un menor porcentaje de germinación en comparación con aquellas semillas sin envejecer. Aunque McDonald (2002) indicó que dentro de lotes de semillas el tamaño de éstas varía, lo que puede afectar el resultado de la prueba de envejecimiento acelerado. Las semillas

pequeñas, al tener mayor relación superficie:volumen, durante el envejecimiento absorben agua a una tasa mayor que las semillas más grandes, esto hace, según Jianhua y McDonald (1996) que las semillas pequeñas logren un contenido de humedad máximo con menos tiempo de envejecimiento, lo que a juicio de Panobianco y Marcos-Filho (2001) de resultando en un deterioro severo y en una drástica reducción en la germinación después del tratamiento, lo que impediría una calificación adecuada.

Todos los tratamientos expresaron disminución en la germinación en semillas envejecidas artificialmente en relación con semillas sin envejecer (condiciones normales). Entre los más afectados destacan: Sefloarca 91 (2002) de 100 a 46%, Sefloarca 91 (2003) de 90 a 35%, Himeca 95 (2003) de 98 a 40% e Himeca 95 (2002) de 97 a 49%. Mientras que Cariaco Jusepín (2003) fue el menos afectado (de 99 a 80%) (Tabla 3). En la prueba de envejecimiento acelerado, las semillas son sometidas a condiciones de alta temperatura y humedad relativa cercana al 100%, por un período de tiempo, antes de realizar con ellas una prueba de germinación estándar (Copeland y McDonald, 2001). Esto acelera el envejecimiento de las semillas y, por lo tanto, se espera que acentúe la diferencia en la germinación de semillas sin envejecer en comparación con semillas envejecidas artificialmente. Salisbury y Ross (1992) indicaron que cuando las condiciones que rodean a la semilla son de alta temperatura (superior a 35 °C), normalmente se puede producir deshidratación y rupturas severas en las células cuando las semillas vuelven a ser hidratadas. Numerosas investigaciones han reportado el efecto detrimental del envejecimiento acelerado sobre la germinación de semillas de maíz y otros cultivos.

Resultados similares fueron reportados por otros investigadores en maíz y otros cultivos. Méndez-Natera y Vergara (2000)

evaluaron el efecto de cinco periodos de colocación en cámara de envejecimiento acelerado sobre la germinación de las semillas de tres híbridos de maíz (Cargill 633, Himeca 2003 y Pioneer 3031) y encontraron que no hubo germinación a las 72 y 96 horas de colocación, por otra parte, el híbrido Cargill 633 tuvo porcentajes de germinación de 96, 86 y 32% a los 0, 24 y 48 horas en cámara, mientras que en Himeca 2003, la germinación pasó de 100% a 0 horas a 58% a las 24 horas y en Pioneer 3031 de 83% a 0 horas a 19% a las 24 horas. A las 48 horas, la germinación fue muy baja en estos dos últimos híbridos (< 8 %). Fessel *et al.* (2006) compararon la germinación de semillas tratadas químicamente o no, sin envejecer con aquellas envejecidas artificialmente de los híbridos de maíz D657 y D769 y encontraron que la germinación se redujo de 2 a 6% en las semillas envejecidas.

Por otra parte, efectos detrimentales sobre la germinación fueron indicados por Rincón y Molina (1990) quienes colocaron semillas de maíz de la variedad de polinización libre Huamantla con 91% de germinación a 42 ± 1 °C durante 96 horas y encontraron una reducción en la germinación desde 1 a 82 % dependiendo del tratamiento. Alves *et al.* (2004) encontraron que el porcentaje de germinación de semillas del híbrido de maíz BR 3123 se redujo a partir de las 96 horas de envejecimiento acelerado (42 °C y 100 % de humedad relativa). Ferreira y De Sa (2010) sometieron semillas de dos híbridos de maíz (XB 8010 y XB 8030) a 42 °C durante 96 horas y encontraron que esta prueba de deterioro controlado causó una fuerte caída de la germinación de las semillas a lo largo de las etapas del proceso de beneficio de la semilla. Pontes *et al.* (2006) encontraron que semillas de *Caesalpinia peltophoroides* sometidas a envejecimiento acelerado por 48 y 72 horas presentaron una reducción del porcentaje de germinación con relación a la de 24 horas. Kapoor *et al.* (2011)

expusieron semillas de cinco variedades de arroz a una temperatura de 45 °C y una humedad relativa de 100% durante 0, 24, 48, 72 y 96 horas y encontraron que en semillas no envejecidas (0 horas), todas las variedades mostraron porcentajes de germinación mayores al 80%, mientras que los tratamientos de envejecimiento acelerado resultaron en una disminución significativa del porcentaje de germinación con el paso del tiempo de envejecimiento acelerado en todas las cinco variedades de arroz.

Kaewnaee *et al.* (2011) indicaron que en las diferencias en el patrón del porcentaje de lavado de K^+ , Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} de semillas remojadas se ha propuesto que el daño de la membrana celular en diferentes calidades de semillas impactó en la baja capacidad de transporte de proteínas en la membrana celular para controlar el transporte de electrolitos. Aunque el lixiviado de electrolitos es aparentemente una medida de la pérdida de semipermeabilidad de la membrana plasmática, la cual podría ser posible que la transición de fase de los ácidos grasos de la membrana de fluido cristalino-líquido a un estado gel-sólido es el evento primario que afecta a la proteína de transporte, después del evento principal, los lípidos de la membrana más degradadas de la bicapa de fosfolípidos por las enzimas tales como lipídoperoxygenasa o la reacción secuencial de la peroxidación lipídica de ROS y causa una pérdida en la integridad de la membrana. Sin embargo, los resultados de estos autores apoyan la posibilidad de que un lixiviado de electrolitos de la semilla remojada causa el deterioro de la proteína de transporte en la membrana. Kaewnaee *et al.* (2008) reportaron que el deterioro de las membranas que probablemente envuelve la peroxidación lipídica y se asocia con estreses oxidativos de radicales libres, conduce a la lixiviación de la membrana. El lavado de iones, aminoácidos y azúcares es un signo claro de deterioro de la membrana que resulta en una permea-

bilidad grandemente incrementada. Este radical libre induce la peroxidación no enzimática que tiene el potencial de dañar la membrana. También es la principal causa de la pérdida de electrolitos y la disminución de la germinación de las semillas.

Con respecto a la prueba de pH, en términos generales, en ambos períodos de remojo el comportamiento de los lotes fue análogo. El rango de pH obtenido en el presente trabajo fue muy estrecho, entre 4.9 y 5.6, mientras Peske y Amaral (1986) citan una variación entre 4.01 y 6.32 para soya. Es probable que la poca variación en el pH no permitiera establecer una clara correlación con las variables de viabilidad y vigor. Existe también la posibilidad que los lotes de semillas evaluados tuvieran una calidad similar y el pH de sus exudados no permitió diferenciarlas. Es conocido que el pH en el interior de las células es mantenido en un rango muy pequeño, debido a que cambios del mismo, originan cambios en la estructura de las proteínas y en la actividad enzimática, y los cambios del pH pueden ser causa del deterioro de las semillas.

En las mediciones de conductividad eléctrica se estimó diferencias entre los lotes. Se observó correspondencia entre valores altos de CE y los porcentajes de germinación más bajos en el ensayo en condiciones de envejecimiento para los lotes de Sefloarca 91 (2003), Himeca 95 (2002 y 2003) y Pioneer 3031 (2002 y 2003). Se apreció que los cultivares adquiridos durante el año 2003 en los comercios agrícolas arrojaron mayores valores de conductividad eléctrica que los almacenados en nevera (5 ± 1 °C) desde el año 2002 en el laboratorio de Producción de Semillas. Es probable que las condiciones de almacenamiento en dichos establecimientos promovieran el deterioro de las semillas, por cuanto la conductividad eléctrica de las semillas que han estado remojadas es un indicador bien

conocido de la viabilidad y del vigor de la semilla (Powell, 1986). El resultado de la prueba de conductividad, por lo tanto, indica que cuando un lote de semillas con baja germinación produce grandes cantidades de electrolitos después del remojo, el vigor es bajo y la emergencia será probablemente pobre (Powell, 1988). De acuerdo con Chanhan *et al.* (1984) y Bewley (1986) un aumento de los lixiviados de los compuestos citoplasmáticos, cuando las semillas son colocadas en agua, puede ser atribuido a alteraciones de las configuraciones de las membranas celulares, debido a que el deterioro provoca daños en los mecanismos de reparación, de esta manera el deterioro de semillas puede ser medido a través de la cantidad de los compuestos lixiviados.

El efecto de la cámara de envejecimiento se evidencia en la disminución de la altura, peso seco del vástago y de la radícula, sin embargo, se destaca que, en ambas condiciones Merideño (2003) y Cariaco Jusepín (2000) mantienen valores similares de altura (Tabla 4) y peso seco del vástago (Tabla 5).

En cuanto al peso seco de la radícula sólo de plántulas normales, Merideño (2003), Cariaco Jusepín (2000) y Merideño (2002) reflejan el menor efecto detrimental de la CEA (Tabla 6). En relación al cultivar Merideño (2003) se observa que tuvo menos altura de plántula cuando se compara con el valor obtenido a partir de semillas sin envejecer (Tabla 5), pero tuvo un mayor peso seco de vástago en plántulas provenientes de semillas envejecidas (Tabla 6), sin embargo, la producción de hojas fue similar en ambas condiciones (2.1 hojas/plántula [Tabla 5]), esto se debió a que hubo un engrosamiento del tallo en plántulas provenientes de semillas envejecidas en comparación con aquellas de semillas sin envejecer (2.41 y 1.98 mm, respectivamente [Tabla 6]). Resultados similares reportaron Mohammadi *et al.* (2011) y Nick *et al.*

(2011) quienes estudiaron las características de la germinación y crecimiento de plántulas de semillas deterioradas de soya y algodón, respectivamente, incubadas a 34 y 40 °C durante diversos periodos de tiempo y encontraron que el envejeci-

miento de las semillas resultó en una disminución del porcentaje y la tasa de germinación y esto fue consecuencia de la disminución en el peso de las reservas movilizadas de la semilla.

Tabla 4

Promedio de altura (cm) del vástago ocho días después de la siembra de 12 lotes de semillas de maíz (*Zea mays* L.) colocadas y no colocadas (Lab. Normal) en la cámara de envejecimiento acelerado (CEA).

Lotes	Altura (cm) del vástago (Lab. Normal)		Altura (cm) del vástago (CEA)	
Pioneer 3031 (2003) †	16.89	a ‡	11.84	ab
Pioneer 3018 (2002)	15.74	ab	11.11	ab
Pioneer 3031 (2002)	14.83	b	7.90	c
Sefloarca 91 (2002)	14.77	bc	11.02	ab
Himeca 95 (2003)	14.48	bcd	11.52	ab
Cariaco Jusepín (2003)	13.82	bcde	9.85	bc
Merideño (2003)	13.80	cdef	13.15	a
Merideño (2002)	13.53	cdef	11.03	ab
Sefloarca 91 (2003)	13.52	defg	10.28	abc
Cariaco San Antonio (2002)	13.45	defg	9.79	bc
Himeca 95 (2002)	13.15	efg	10.77	abc
Cariaco Jusepín (2000)	12.48	fg	12.46	ab
MDS ($p \leq 0.05$)	1.28		2.91	
CV (%)	6.28		18.59	

MDS: Mínima Diferencia Significativa, CV = Coeficiente de variación

† Número entre paréntesis indica año de adquisición de las semillas

‡ Letras iguales indican promedios estadísticamente iguales.

Tabla 5

Promedio para peso (g) seco del vástago ocho días después de la siembra de 12 lotes de semillas de maíz (*Zea mays* L.) colocadas y no colocadas (Lab. Normal) en la cámara de envejecimiento acelerado (CEA).

Lotes	Peso (g) seco del vástago (Lab.Normal)		Peso (g) seco del vástago (CEA)		Número de hojas (Lab.Normal)		Número de hojas (CEA)	
Merideño (2003)†	1.02	a ‡	1.12	a	2.1	abc	2.1	a
Sefloarca 91 (2002)	1.02	a	0.42	cde	2.1	abc	1.7	bc
Pioneer 3018 (2002)	1.00	a	0.55	cd	2.0	b-e	1.6	b-e
Pioneer 3031 (2003)	1.00	a	0.50	cde	2.2	a	1.8	bc
Merideño (2002)	0.97	a	0.75	b	2.2	ab	1.9	ab
Himeca 95 (2003)	0.85	b	0.32	ef	2.1	a-d	1.9	ab
Cariaco Jusepín (2003)	0.82	b	0.57	bc	1.9	de	1.5	cde
Pioneer 3031 (2002)	0.80	bcd	0.20	f	2.0	bcd	1.3	de
Sefloarca 91 (2003)	0.72	cd	0.32	ef	2.0	cde	1.5	b-e
Cariaco San Antonio (2002)	0.70	d	0.47	cde	1.9	de	1.3	e
Himeca 95 (2002)	0.70	d	0.37	def	2.0	b-e	1.6	bcd
Cariaco Jusepín (2000)	0.50	e	0.45	cde	1.8	e	1.7	bcd
MDS ($p \leq 0,05$)	0.107 g		1.195 g					
CV (%)	8.88		26.79					

MDS: Mínima Diferencia Significativa, CV = Coeficiente de variación

† Número entre paréntesis indica año de adquisición de las semillas

‡ Letras iguales indican promedios estadísticamente iguales

Tabla 6

Promedio para peso (g) seco de la radícula ocho días después de la siembra de 12 lotes de semillas de maíz (*Zea mays* L.) colocadas y no colocadas (Lab. Normal) en la cámara de envejecimiento acelerado (CEA).

Lotes	Peso (g) seco de la radícula (Lab.Normal)		Peso (g) seco de la radícula (CEA)		Diámetro (mm) del tallo (Lab.Normal)		Diámetro del tallo (mm) (CEA)	
Merideño (2003) †	1.00	a ‡	1.00	a	1.98	abc	2.42	a
Sefloarca 91 (2002)	1.00	a	0.30	cd	1.99	abc	1.95	b
Himeca 95 (2003)	0.95	a	0.28	cd	1.90	abc	1.77	bcd
Merideño (2002)	0.90	ab	0.63	b	1.81	c	2.25	a
Pioneer 3031 (2003)	0.90	ab	0.33	cd	2.12	a	1.81	bcd
Sefloarca 91 (2003)	0.77	bc	0.25	cd	2.09	ab	1.91	b
Cariaco Jusepín (2003)	0.75	cd	0.45	bc	1.92	abc	1.83	bcd
Cariaco San Antonio (2002)	0.75	cd	0.40	c	1.80	c	1.85	bc
Pioneer 3018 (2002)	0.75	cd	0.43	bc	1.87	bc	1.85	bc
Himeca 95 (2002)	0.72	cd	0.28	cd	1.78	c	1.83	bcd
Pioneer 3031 (2002)	0.62	d	0.18	d	1.88	bc	1.66	d
Cariaco Jusepín (2000)	0.45	e	0.43	bc	1.96	abc	1.70	cd
MDS (p ≤ 0,05)	0.131 g		0.2096 g					
C. V. (%)	11.41		35.49					

MDS: Mínima Diferencia Significativa, C. V. = Coeficiente de variación

† Número entre paréntesis indica año de adquisición de las semillas

‡ Letras iguales indican promedios estadísticamente iguales.

La reducción de la altura de plántula, peso seco del vástago y de la radícula en plántulas provenientes de semillas envejecidas, puede ser explicada por el hecho de que según Besnier (1989) el envejecimiento puede producir daño en la cromatina, lo que se traduce en un aumento en la aparición de malformaciones en las plántulas, mientras que Taiz y Zeiger (2002) indicaron que el efecto deletéreo del envejecimiento acelerado se debe a que las altas temperaturas disminuyen la fuerza de los puentes de hidrógeno y de las interacciones electrostáticas que existen entre las proteínas y la membrana celular; además, aumentan la fluidez de los lípidos que la constituyen, produciendo un cambio en la composición y estructura de ella, causando fugas de iones e inhibición de procesos fisiológicos como la fotosíntesis y la respiración. Según Copeland y McDonald (2001) la pérdida en la calidad interna de las semillas por efecto del envejecimiento acelerado se expresa en una menor tasa de germinación, un aumento en la producción de plántulas anormales y, por lo tanto, una pérdida en la uniformidad de los lotes de semillas.

Méndez-Natera y Vergara (2000) para determinar el mejor tiempo de exposición en CEA que permitiera diferenciar la calidad de semilla de los híbridos Cargill 633, Himeca 2003 y Pioneer 3031, evaluaron el efecto de cinco periodos de almacenamiento en CEA sobre los caracteres de las plántulas y encontraron que el peso de la biomasa aérea de Cargill 633 no fue afectado por el envejecimiento acelerado, mientras que en Himeca 2003 se redujo de 0.052 g a 24 horas a 0.024 g a 48 horas y en Pioneer 1031 de 0.038 9 a 24 horas a 0.0 g a 48 h, en los tres cultivares el peso de la radícula fue: 0.043; 0.031 y 0.011 g a 0, 24 y 48 h respectivamente, el efecto del envejecimiento acelerado sobre la altura de la plántula se observó a las 48 horas (de 18.92 cm a 24 h a 10.10 cm a 48 h). Resultados diferentes fueron indicados por Villaroel y Méndez-Natera (2007) quienes evaluaron nueve lotes de diferentes cultivares de maíz sometiendo las semillas a la cámara de envejecimiento acelerado durante 24 y 48 horas a 45 °C y 100% de humedad relativa y encontraron que el envejecimiento no afectó los caracteres de las plántulas, a excepción del

número de hojas a los 8 días después de la siembra.

Se encontró solamente una relación significativa positiva entre el porcentaje de germinación en semillas sin envejecer con el peso seco del vástago bajo esta misma condición. Por el contrario, el porcentaje de germinación de semillas envejecidas se correlacionó significativa y positivamente con el peso seco del vástago y de la radícula bajo esta misma condición y con el contenido de humedad inicial de las semillas y negativa con los valores de conductividad eléctrica (Tabla 7) indicando que hubo una asociación negativa entre conductividad y la germinación de semillas de bajo vigor inducido por el envejecimiento acelerado. Matthews y Powell (2006) indicaron que cuando los tecnólogos de semillas discuten las causas del lixiviado provenientes de semillas de bajo vigor, ellos casi siempre comienzan con una referencia al deterioro de las membranas, resultante ya sea del envejecimiento artificial o natural pero los análisis bioquímicos y la hipótesis acerca del deterioro de la semilla sugieren que la actividad afectada de la membrana es un factor conducente al lixiviado. Powell (2006) indicó que la prueba de conductividad eléctrica mide el lixiviado de solutos provenientes de la semilla, la cual es una de las consecuencias de las dos principales causas de diferencias de vigor en todas las especies de leguminosas de grano, las cuales son el envejecimiento de las semillas y el daño por imbibición. Es de hacer notar que la prueba de conductividad eléctrica no está normada para maíz, pero se han realizado numerosas investigaciones en este cultivo y en otros. Ouyang *et al.* (2002) encontraron que la conductividad se incrementó significativamente por el envejecimiento en semillas de maíz. Matthews y Powell (2006) señalaron que la conductividad se incrementará a medida que la germinación en el laboratorio falle, en adición, a la capacidad reducida de las

semillas germinables de retener los contenidos celulares. Estos resultados concuerdan con los reportados por Wagner *et al.* (2004) quienes indicaron que la prueba de conductividad en masa realizada en guisantes se introdujo en las Reglas ISTA en enero del 2002, estos autores con el objetivo de incrementar la utilidad de la prueba, trataron de extenderlo a otras especies entre las más cultivadas en la producción Francesa: trigo, maíz, colza, girasol y alfalfa. Los autores indicaron que tres metodologías pueden ser sugeridas para colza, trigo y maíz, las cuales fueron precisas y repetibles y pueden clasificar los lotes de semillas más ajustadamente que la prueba de germinación y que mucho más trabajo debe ser realizado para el girasol y alfalfa. La metodología para la colza fue posteriormente validada por Wagner y Ducournau (2007) realizando una serie de pruebas comparativas entre seis laboratorios donde las pruebas de conductividad se realizaron en seis muestras en tres tiempos separados y concluyeron que el método propuesto para medir la conductividad de la semilla de colza dio datos repetibles dentro de los laboratorios y estos consistentemente identificaron los mismos lotes de semillas como poseedores de alto o bajo vigor. Por otra parte, Mohammadi *et al.* (2011) en semillas de soya deterioradas artificialmente encontraron que la reducción de la germinación de las semillas pudo haber sido el resultado de un aumento del lixiviado de solutos siguiendo a la imbibición la cual usualmente se acompaña con la salida inevitable de algunos materiales necesarios para la germinación y el crecimiento normal de las plántulas.

Resultados similares fueron reportados por Singh *et al.* (2003) quienes trabajaron con cinco cultivares de *Vigna mungo* y cinco de *Vigna radiata* envejeciendo semillas durante 24, 48 y 72 horas, el porcentaje de germinación exhibió una correlación significativa negativa con la conductividad eléctrica.

Tabla 7

Coefficientes de correlación lineal simple (r) entre pares de caracteres de 12 lotes de semillas de maíz (*Zea mays* L.).

	Germ8dLN	Germ8dLC	Humedad	CE_20H	pH_20H	Alt8ddsLN	Alt8ddsLC	PsvastLN	PsraizLN	PsvastLC
Germ8dLN	1									
Germ8dLC	0.112	1								
Humedad	-0.098	0.602(*)	1							
CE_20H	-0.155	-0.688(*)	-0.332	1						
pH_20H	-0.341	-0.032	0.473	0.169	1					
Alt8ddsLN	0.469	-0.077	-0.305	0.199	-0.490	1				
Alt8ddsLC	-0.125	0.437	0.081	0.055	0.076	-0.035	1			
PsvastLN	0.577(*)	0.213	-0.211	-0.097	-0.669(*)	0.678(*)	0.198	1		
PsraizLN	0.555	-0.022	-0.219	0.178	-0.396	0.391	0.319	0.819(**)	1	
PsvastLC	0.041	0.785(**)	0.410	-0.401	-0.215	-0.092	0.616(*)	0.476	0.437	1
PsraizLC	-0.085	0.773(**)	0.438	-0.415	-0.167	-0.210	0.603(*)	0.365	0.348	0.984(**)

n = 12. *: Correlación significativa ($p \leq 0.05$); **: Correlación altamente significativa ($p \leq 0.01$). Coeficientes sin los símbolos anteriores son no significativos ($p > 0.05$).

Germ = Porcentaje de germinación, Humedad = Humedad de la semilla, CE = Conductividad eléctrica a 20 horas de remojo, Alt = Altura de plántula, Psvast = Peso seco de vástago, Psraiz = Peso seco de raíces, LN = Semillas sin envejecer y LC = Semillas envejecidas artificialmente.

Por otra parte, Il-Doo *et al.* (2005) estudiaron el efecto del contenido de agua de la semilla en la germinación de tres especies de *Zizania* (*Z. aquatica*, *Z. latifolia* y *Z. palustris*, esta última conocida como arroz silvestre) y encontraron que el contenido de humedad de la semilla mostró una correlación positiva con la tasa y velocidad de germinación.

La comparación de los porcentajes de humedad con la conductividad eléctrica durante 20 horas de remojo expresa cierta relación entre altos porcentajes de humedad y bajos valores de conductividad eléctrica, aunque esta relación fue no significativa (Tabla 7). Al respecto, Hampton *et al.* (1992) reportan que porcentajes de humedad iniciales bajos (< 10%) incrementan significativamente la conductividad en semillas de frijol chino y soya debido a los daños por imbibición, pero en carotas hubo más bien un descenso de la conductividad debido a la dureza de las semillas. En semillas de soya el contenido de humedad entre 10 y 22% no afectó la conductividad. Hubo una relación positiva significativa entre el porcentaje de germinación de semillas sometidas a envejecimiento acelerado y la

humedad de las mismas, pero no entre el porcentaje de germinación de semillas sin envejecer y la humedad (Tabla 7).

La prueba de germinación estándar, considerada la prueba universal para la calidad de las semillas, evalúa el máximo potencial de un lote particular de semillas bajo condiciones ideales (ISTA, 1993). Sin embargo, esta prueba es conducida bajo condiciones ideales y no necesariamente refleja la emergencia de plántulas de ese lote de semillas bajo condiciones de campo. Shah *et al.* (2002) compararon el comportamiento de varias pruebas de vigor de semillas para evaluar el vigor de cultivares subtropicales de maíz y encontraron que la prueba de germinación estándar mostró una alta correlación (0.75) con la emergencia en campo de los híbridos sub tropicales de maíz.

No se encontró relación directa entre los parámetros altura del vástago, peso seco del vástago y peso seco de la radícula, tanto en condiciones normales como de envejecimiento, y los valores de CE y de pH del agua de remojo, a excepción del peso seco del vástago bajo condiciones normales y el pH del agua (Tabla 7).

4. Conclusiones

Los cultivares de maíz que presentaron altos porcentajes de germinación en el laboratorio, previo envejecimiento de las semillas, presentaron bajos valores de conductividad eléctrica, por lo tanto, la prueba de conductividad eléctrica podría ser buen indicativo del comportamiento de semillas de maíz en condiciones extremas o desfavorables, esta relación no se observó en semillas sin envejecer. Por otra parte, el pH no estuvo relacionado con la germinación en semillas envejecidas y sin envejecer, pero si tuvo una fuerte asociación con el peso seco del vástago proveniente de semillas no envejecidas, sugiriendo que el pH podría ser usado para evaluar el vigor de semillas en condiciones favorables. Tanto la germinación evaluada a los 8 días después de la siembra de semillas envejecidas y no envejecidas estuvieron asociadas positivamente con el peso seco del vástago y de la raíz de semillas envejecidas y sin envejecer, respectivamente. En general, el año de adquisición de las semillas no fue indicativo del deterioro de la calidad de la misma.

Referencias

- Alves, E.; Cavariani, C.; Rocha Corrêa, M.; Gonçalves Souza, F. L.; Mattosinho Corrêa, T.; Nakagawa, J. 2004. Efeito dos períodos de envelhecimento na lixiviação de íons e de proteínas solúveis em sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes* 26 (2): 119-125.
- Amaral, A.; Peske, E. S. T. 1984. pH do exudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. *Revista Brasileira de Sementes* 06 (3): 85-92.
- Arango Perearnau, M. R.; Gallo, C.; Craviotto, R. M. 2006. Evaluación de calidad de semillas de soja de diferentes calibres. *In* III Congreso de Soja del MERCOSUR. 27 al 30 de junio de 2006, Rosario, Argentina. Sección Mecanización y Postcosecha. p 150-153.
- Basra, S. M. A.; Ashraf, M.; Iqbal, N.; Khaliq, A.; Ahmad, R. 2004. Physiological and biochemical aspects of pre-sowing heat stress on cottonseed. *Seed Sci. and Technol.* 32: 837-846.
- Besnier, F. 1989. *Semillas: Biología y Tecnología*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España.
- Bewley, J. D. 1986. Membrane changes in seeds as related to germination and the turbidities resulting from deterioration in storage. *In*: McDonald, M. B. and Nelson, C.J. (Ed). *Physiology of seed deterioration*. Wisconsin: 1986. p. 27-45.
- Castañeda Saucedo, M. C.; Córdova Téllez, L.; González Hernández, V. A.; Delgado Alvarado, A.; Santacruz Varela A.; García de los Santos, G. 2006. Respuestas fisiológicas, rendimiento y calidad de semilla en frijol sometido a estrés hídrico. *Interciencia* 31 (6): 461-466.
- Changrong, Y.; Sripichitt, P.; Juntakool, S.; Hongtrakul, V.; Sripichitt, A. 2007. Modifying controlled deterioration for evaluating field weathering resistance of soybean. *Kasetsart J. Nat. Sci.* 41: 232-241.
- Chanhan, K. P.; Purkar, J. K.; Banerjee, S. K. 1984. Ageing induced changes in seeds. *Seed Research* 12 (1): 56-68.
- Chávez Cabrera, A.; Peske, E. S. T. 2002. Testes do pH do exsudato para sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes* 24 (1): 134-140.
- Colmenares, O. 1988. Test de envejecimiento rápido en el almacenamiento de semillas. *Fonaiap Divulga* 6 (30): 9-11.
- Copeland, L. O.; McDonlad, M. B. 2001. *Principles of Seed Science and Technology*. 4th edition. Kluwer Academic Publishers. U. S. A.
- Cordova Tellez, L.; Burriss, J. S. 2002. Embryo drying rates during the acquisition of desiccation tolerance in maize seed. *Crop Science*. 42: 1989-1995.
- Correa-Santana, D.; Vieira, M D G. G. C.; Moreira de Carvalho, M.L. Silva se Oliveira, E. M. 1998. Teste do pH do exsudato-fenolfaleína para rápida definição sobre o destino de lotes de sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes* 20 (1) 160-166.
- Fernandes, E. J.; Sader, R.; Carvalho, E. N. M. 1987. Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) estimada pelo ph do exudato. *Revista Brasileira de Sementes* 9 (3): 69-75.
- Ferreira, R. L.; de Sá, M. E. 2010. Contribuição de etapas do beneficiamento na qualidade fisiológica de sementes de dois híbridos de milho. *Revista Brasileira de Sementes* 32 (4): 99-110.
- Fessel, S. A.; Vieira, R. D.; Pessoa da Cruz, M. C.; de Paula, R. C.; Panobianco, M. 2006. Electrical conductivity testing of corn seeds as influenced by temperature and period of storage. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41 (10): 1551-1559.
- Furbeck, S. M.; Bourland, F. M.; Watson Jr, C. E. 1993. Inheritance of resistance to seed deterioration in cotton. *Euphytica* 69: 203 – 209.
- Garcia, L. C.; Nogueira, A. C.; Abreu, D. C. A. 2004. Influência do envelhecimento acelerado no vigor de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan – Mimosaceae. *Ciência Florestal* (Santa Maria) 14 (1): 85-90.
- Gotardo, M.; Vieira, R. D.; Pereira, L. M. A. 2001. Teste de condutividade electrica em sementes de milho. *Revista Ceres* 48 (277): 333-340.
- Hampton, J. G.; Johnstone, K.; Eua-Umpon, V. 1992. Bulk conductivity test variables for mungbean, soybean and French bean lots. *Seed Science and Technology* 20: 677-686.

- Hoffman, E.; Castiglioni, E. 2006. Evaluación del efecto del insecticida Imidacloprid sobre factores asociados a la implantación y crecimiento inicial de girasol, maíz y sorgo. http://www.calister.com.uy/uploads/files/Imidacloprid___Implantacion_de_Maiz_Girasol_y_Sorgo_2.pdf
- Il-Doo, J.; Joong, Y. S.; Yuko, M.; Mari, I. I. 2005. Changes in the water content and germination rate during seed desiccation and their inter-specific differences among *Zizania* species. *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University* 50 (2): 573-583.
- International Rules for Seed Testing (ISTA). 1993. International rules for seed testing. Rules 1993. *Seed Science and Technology* 21 supl.: 1-301.
- Jianhua, Z.; McDonald, M. B. 1996. The Saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. *Seed Science and Technology* 25: 123-131.
- Kaewnaree, P.; Vichitphan, S.; Klanrit, P.; Siric, B.; Vichitphan, K. 2011. Effect of accelerated aging process on seed quality and biochemical changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* Linn.) seeds. *Biotechnology*, 10: 175-182.
- Kaewnaree, P.; Vichitphan, S.; Klanrit, P.; Siric, B.; Vichitphan, K. 2008. Electrolyte leakage and fatty acid changing association in accelerated aging sweet pepper seed. *J. Biotechnol.*, 136: 149-149.
- Kapoor, N.; Arya, A.; Siddiqui, M. A.; Kumar, H.; Amir, A. 2011. Physiological and biochemical changes during seed deterioration in aged seeds of rice (*Oryza sativa* L.). *American Journal of Plant Physiology* 6 (1): 28-35.
- Lahuta, L. B.; Górecki, R. J.; Zalewski, K.; Hedley, C. L. 2007. Sorbitol accumulation during natural and accelerated ageing of pea (*Pisum sativum* L.) seeds. *Acta Physiol Plant* 29: 527-534.
- Martins, C. C.; Martinelli Seneme, A.; Castro, M. M.; Nakagawa, J.; Cavariani, C. 2002. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck). *Rev. Bras. Sementes* 24 (2): 96-101.
- Matthews, S.; Powell, A. 2006. Electrical conductivity vigour test: Physiological basis and use. *Seed Testing International* 131: 32-35.
- McDonald, M. B. 2002. Standardization of Seed Vigor Test. p 200 – 208. In: McDonald, M. B. y S. Contreras (Ed.). *Seeds: Trade, Production and Technology. Proceedings Internacional Seed Seminar. Colección de Extensión. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile.* 15-16 Octubre. Santiago. Chile.
- McDonald, M. B. 1998. Seed quality assessment. *Seed Science Research*. 8: 265-275.
- Méndez-Natera, J.; Vergara, M. 2000. Deterioro de la calidad de la semilla de tres híbridos de maíz (*Zea mays* L.) en función de diferentes períodos de almacenamiento en cámara de envejecimiento acelerado. V Jornadas Científicas del Maíz. Guanare, Nov. 2000. http://www.ceniap.gov.ve/pbd/Congresos/jornadas_de_maiz/5_jornadas/envejecimiento.htm.
- Mohammadi, H.; Soltani, A.; Sadeghipour, H. R.; Zeinali, E. 2011. Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. *International Journal of Plant Production* 5 (1): 65-70.
- Mora Aguilar, R.; Quintero de la Cruz, J. A.; Martínez Solís, J.; Rodríguez Pérez, J. E. 2006. Pruebas de calidad fisiológica de semilla de cebolla y su relación con el establecimiento en almácigo. In LII Reunión Anual de la Sociedad Interamericana de Horticultura Tropical. del 24 al 30 de septiembre, Mayagüez, Puerto Rico. p. 77-78.
- Neya, O. 2006. Conservation of tree seeds from tropical dry-lands. Ph. D. Thesis, Wageningen University, The Netherlands. 157 pp.
- Nik, S. M. M.; Tilebeni, H. G.; Zeinali, E.; Tavassoli, A. 2011. Effects of seed ageing on heterotrophic seedling growth in cotton. *American-Eurasian J. Agric. And Environ. Sci.* 10(4): 653-657.
- Ouyang, X.; van Voorthuysen, T.; Toorop, P. E.; Hilhorst, H. W. M. 2002. Seed vigor, aging, and osmopriming affect anion and sugar leakage during imbibition of maize (*Zea mays* L.) caryopses. *International Journal of Plant Sciences* 163(1): 107-112.
- Panobianco, M.; Marcos Filho, J. 2001. Evaluation of the physiological potencial of tomato seeds by germination and vigor test. *Seed Technology* 23(2): 151-161
- Peske, S. T.; Amaral, A. 1986. Prediction of germination of soybean seeds by measurement of pH of seed exudates. *Seed Science and Technology* 14: 151-156.
- Pontes, C.A.; Borges Corte, V.; De Lima, E.; Borges, E. E.; Gomes Da Silva, A.; De Cássia Gonçalves Borges, R. 2006. Influência da temperatura de armazenamento na qualidade das sementes de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Sibipiruna). *Árvore* 30: 43-48.
- Powell, A. A. 1986. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. *Journal of Seed Technology* 10: 81-100.
- Powell, A. A. 1988. Seed vigour and field establishment. *Advances in Research and Technology of Seeds*. 11: 29-61.
- Powell, A. A. 2006. Conductivity testing for *Phaseolus vulgaris*. *Seed Testing International* 132: 35-36.
- República de Venezuela. Gaceta Oficial. Año CXIII. Mes VII. Caracas: 25.04.1986. N° 33.456. Resolución por la cual se dictan "Normas generales sobre semillas".
- Rincón, F.; Molina, J. 1990. Efecto del método de envejecimiento artificial sobre la germinación de semillas de maíz. *Agronomía Mesoamericana*: 51-53.
- Rodrigues Maia, A.; Lopes, J. C.; de Oliveira Teixeira, C. 2007. Efeito do envelhecimento acelerado na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de trigo. *Ciênc. Agrotec.* 31 (3): 678-684.
- Salazar, P.; Trejo, A.; Hernández, L. M. 2006. Pruebas de envejecimiento acelerado en semillas de maíz (*Zea mays* L.) de diferentes bases genéticas. *Rev. Unell. Cienc. Tec.* 24: 63-69.
- Salisbury, F. B.; Ross, C. W. 1992. *Plant Physiology*. 4th edition. Wadsworth Publishing Company. U.S.A.

- Santos, S. R. G. dos.; de Paula, R. C. 2007. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de lotes de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Sowns (Branquilha) – Euphorbiaceae. Rev. Inst. Flor. (São Paulo) 19 (1): 1-12.
- Shah, F.; Watson, C.; Cabrera, E. 2002. Seed vigour testing of subtropical corn hybrids. Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station. Research Report 23(2): 6pp.
- Silva, N. O. 2006. Controle genético de características associadas à qualidade de sementes de milho. Tese Doutorado. Universidade Federal de Lavras. Lavras, Minas Gerais, Brasil. 92 pp.
- Singh, B.; Singh, C. B.; Gupta, P. C. 2003. Influence of seed ageing in *Vigna* species. Farm Science Journal 12 (1): 4-7.
- Taiz, L.; Zeiger, E. 2002. Plant physiology. 3th Edition. Sinauer Associates Inc. Publishers. Sunderland. U.S.A.
- Tajbakhsh, M. 2000. Relationships between electrical conductivity of imbibed seeds leachate and subsequent seedling growth (Viability and vigour) in Omid wheat. J. Agr. Set. Tech., 2: 67-71.
- Villarroel, N.; Méndez-Natera, J. 2007. Efecto del envejecimiento acelerado sobre el crecimiento de plántulas de nueve lotes de semillas de diferentes cultivares de maíz (*Zea mays* L.). LVII Convención Anual de la AsoVAC. Acta Científica Venezolana Volumen 58 (Sup. 1): 38. (Documento en CD-ROM).
- Viloria, H.; Méndez Natera, J. 2007. Determinación del período de remojo adecuado para las mediciones de pH y de conductividad eléctrica en semillas de maíz (*Zea mays*). Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas 41 (2): 227-243.
- Wagner M. H.; Préveaux, A.; Moizan, E.; Ducournau, S. 2004. Vigour testing: towards an extended use of the conductivity test. 27th I.S.T.A. Seed Symposium, Budapest, Hungary, 17-19 May. p. 16.
- Wagner, M. H.; Ducournau, S. 2007. Conductivity testing for oilseed rape seeds. Seed Testing International 133: 40-41.
- Wanli, Z.; Leihong, L. I.; Gultieri de Andrade Perez, S. C. J. 2001. Pré-condicionamento e seus efeitos em sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.). Revista Brasileira de Sementes 23 (1): 146-153.
- Welbaum, G. E.; Bradford, K. J. 1990. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). IV. Characteristics of the perisperm during seed development. Plant Physiol. 92: 1038-1045.
- Wilson, J. R. D. 1992. A unified approach to interpretation of single seed conductivity data. Seed Science and Technology 20: 155-163.
- Woodstock, L.W., Feeley, J. 1965. Early seedling growth and initial respiration 7 rates as potential indicators of seed vigour in corn. Proc. Int. Seed Test. Ass., 55: 131-139.