

COMPARACIÓN DE LÍNEAS DE CEBADA Y OTRAS ESPECIES DE CEREALES MEDIANTE ATRIBUTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DE SEMILLAS

María Alejandra Torres Tapia

es Profesora-investigadora de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila

Víctor Manuel Zamora Villa

Profesor-investigador de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila

Modesto Colín Rico

Profesor-investigador de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila

Graciela Flores Suárez

Egresada de la Carrera Ingeniero Agrónomo en Producción de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo Coahuila

All content in this magazine is licensed under a Creative Commons Attribution License. Attribution-Non-Commercial-Non-Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).



Resumen: En la oferta y demanda de variedades entre cereales de grano pequeño es necesario contar con atributos, que permitan calificar semilla de alta calidad para tener éxito en la producción de forraje. Se compararon líneas de cebada y otros cereales, mediante pruebas de laboratorio aportando información sobre los atributos fisiológicos y bioquímicos de las semillas. Las líneas G1, G13, G16, Cerro prieto y AN-366 (trigo) resultaron con mayores valores de germinación, G16 y G1, Cerro prieto y Cuauhtémoc (avena) de vigor (envejecimiento acelerado), así como G4 y GABYAN95 con alto peso seco de plántula y contenido de proteínas (albúminas), asimismo, G16 y G18 en glutelinas y gliadinas; mientras que avena en glutelinas, pero con bajas gliadinas y albúminas. Concluyendo que existe una relación positiva entre albúminas y peso de plántula, a mayor contenido de proteínas estructurales (albúminas) mayor vigor (peso seco), sobresaliendo G4 y GABYAN95 con alta calidad de semillas.

Palabras clave: Cebada forrajera, calidad de semilla, germinación, vigor, albúminas

INTRODUCCIÓN

Los cereales son una de las principales fuentes directa e indirecta en la alimentación humanidad, directa cuando el grano es utilizado para la elaboración de alimentos, y la segunda cuando es usado como la materia prima en la producción de alimento para ganado, en tal caso, como semilla que a su vez puede ser utilizada para dos sistemas de producción para grano o para forraje. Sea uno u otro sistema, en la oferta y demanda de variedades de los cereales de grano pequeño, tienen que competir entre ellos en el mercado agrícola y disponer de nuevas y mejores variedades comerciales, por lo que es necesario que posean atributos, que permitan calificar como semilla de alta calidad para

tener éxito en la producción de forraje. El concepto agronómico de calidad es múltiple por englobar un conjunto de atributos físicos, fisiológicos, genéticos y sanitarios (Milošević *et al.*, 2010), que en la comercialización de semillas son indispensables tener altos porcentajes en los atributos fisiológicos, sobre todo de germinación (SNICS, 2019). Existen otros, como el vigor que a través del envejecimiento acelerado de semilla, basado en su deterioro artificial (Vashisth, 2009; Durán *et al.*, 2011) con exposición a varias temperaturas y humedades relativas (González, 2014), colaboran en la caracterización o selección de materiales genéticos en base su respuesta de tolerancia a las condiciones adversas diseñadas en el deterioro (Mohammadi & Soltani, 2011).

El fitomejorador tiene diversas metodologías para la selección de materiales genéticos, que la mayoría son prolongadas y de alta inversión en el establecimiento, manejo y cantidad de semillas en campo, por lo que hace tediosa la pronta decisión de oferta de nuevas variedades en el mercado. Considerando, que la semilla está compuesta de proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y sales minerales; componentes químicos, que tienen un papel importante en sus procesos metabólicos, fisiológicos así como anatómicos, y por su contenido pueden llegar a generar resistencia, tolerancia, longevidad, adaptabilidad en un lote de semillas; si se pudieran evaluar de manera indirecta a través de pruebas de calidad, ayudaría en la selección de materiales, como se inquiere en las cebadas forrajeras. Poco se conoce sobre el papel que tienen las proteínas albúminas, glutelinas y gliadinas en la calidad fisiológica de la semilla de esta especie; sería interesante beneficiarse con nuevas metodologías en la obtención de calificaciones más precisas y rápidas para selección de genotipos de mejor calidad de la semilla (García, 2003). Por ello se planteó

el objetivo de comparar genotipos de cebada y otras especies de cereales (avena, trigo, triticale) a través de parámetros de vigor por el envejecimiento acelerado, tipo y cantidad de proteínas presente en la semilla.

DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO

UBICACIÓN DEL ESTUDIO Y MATERIAL GENÉTICO

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos, de Departamento de Fitomejoramiento en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coahuila, México. Se evaluó la semilla de veinte nuevas líneas de cebada forrajera imberbe, generadas de la cruce cv. Esperanza y cv. GABYAN95, producida en Zaragoza Coahuila en el ciclo otoño-invierno del 2017-2018, por el Programa de Cereales de Grano Pequeño del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, se consideraron como testigos: una avena

comercial cv. Cuauhtémoc, dos cebadas comerciales cv. Cerro Prieto y cv. GABYAN95, una línea de trigo experimental AN-266 y el triticale cv. Eronga-83, identificadas en el Cuadro 3.1 siguiente.

METODOLOGÍA

El estudio se llevó a cabo en dos partes: 1) El deterioro artificial de la semilla mediante Envejecimiento Acelerado (EA) y evaluación de la capacidad de germinación; y 2) El estudio de proteínas presentes en la semilla. En la parte 1, Se realizó mediante la metodología propuesta por Association Official Seed Analysts (AOSA, 1992). Evaluando cuatro repeticiones de 25 semillas por genotipo, colocadas en la cámara de envejecimiento Modelo VWR Scientific para su deterioro artificial o envejecimiento acelerado se basa en someter la semilla a una temperatura de $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 72 horas con una humedad relativa de 95 %; al término, se determinó la capacidad de germinación y vigor conforme

Identificación	Genotipo	Identificación	Genotipo
G1	CANI-1	G11	CANI-83
G2	CANI-9	G12	CANI-85
G3	CANI-15	G13	CANI-99
G4	CANI-63	G14	CANI-103
G5	CANI-69	G15	CANI-104
G6	CANI-70	G16	CANI-108
G7	CANI-77	G17	CANI-126
G8	CANI-80	G18	CANI-128
G9	CANI-81	G19	CANI-130
G10	CANI-82	G20	CANI-131
Testigos			
(G21) Avena cv. Cuauhtémoc			
(G22) Cebada cv. Cerro Prieto			
(G23) Cebada cv. GABYAN95			
(G24) Trigo línea experimental AN-366			
(G25) Triticale cv. Eronga-83			

Cuadro 3.1 Identificación de genotipos estudiados

a las reglas de la International Seed Testing Association (ISTA, 2009), en una cámara de germinación Modelo Biotronette mark III de alta capacidad a una temperatura de 25 ± 1 °C, con 8 h luz y 16 h oscuridad por 7 días, al término se evaluaron las variables: Plántulas Normales (PN en porcentaje), Plántulas Anormales (PA en porcentaje) y Semillas Sin Germinar (SSG en porcentaje); en el vigor, Longitud de Plúmula (LMP en cm pl^{-1}) y Peso Seco de plántula (PS en mg pl^{-1}).

En la parte 2, Se llevó a cabo mediante la extracción de las proteínas Albúminas, Gliadinas y Glutelinas, partiendo de 1 g de muestra de semilla molida de cada genotipo, y evaluando tres repeticiones por muestra. Para la extracción de Albúminas se utilizó agua destilada por 4 horas a 4°C, para las Gliadinas, una solución A (25 mL Etanol al 70 %, 50 mg Pironina Y/G en 100 mL de agua destilada) por 24 horas, y para las Glutelinas una solución B (27 g Urea, 3.0 mL Mercaptoetanol y 10 g de Sulfato dodecil de sodio, en un volumen de 100 mL de agua destilada) por 24 horas. Una vez extraídas se realizó la cuantificación de proteínas mediante el método de Bradford (1976), se basa en la unión de un colorante, Comassie Blue G-250 a las proteínas extraídas. El colorante es una solución ácida azul. Las proteínas se unen a la forma azul para formar un complejo proteína-colorante con un coeficiente de extinción mayor que el colorante libre. Este método es sensible (1-15 μg) simple, rápido, barato y requiere pocas sustancias interfieren en su determinación, entre las sustancias que interfieren están los detergentes y las soluciones básicas. Una vez dada la reacción, se utilizó un espectrofotómetro Modelo Serie BioMate 3 a 595 nm.

Los datos fueron analizados mediante un diseño completamente al azar utilizando el paquete SAS Versión 9.0 (2002), con cuatro repeticiones en las variables de la

capacidad de germinación y vigor; y en la cuantificación de cada proteína se realizaron en tres repeticiones. Se realizaron pruebas de comparación de medias con DMS y se calcularon las correlaciones entre pares de variables mediante la ecuación de Pearson con la finalidad de identificar la relación que pudiera existir entre las variables estudiadas.

RESUMEN DE RESULTADOS

Los resultados del análisis de varianza encontró diferencias altamente significativas en la capacidad de germinación de las semilla envejecidas, indicando que al menos uno de los genotipos resultó son mayor porcentaje de plántulas normales o de semillas sin germinar, así como un alto vigor en la longitud media plúmula y peso seco de la plántula. Teniendo los promedios de 60.9, 3.2 y 35.57 % en las plántulas normales, anormales y semilla sin germinar, respectivamente, y en el vigor, la longitud media de plúmula tuvo 6.39 cm pl^{-1} y en el peso seco de plántula de 14.04 mg pl^{-1} . Así mismo, el análisis indicó diferencias significativas ($\alpha \leq 0.01\%$) en las proteínas albúminas, gliadinas y glutelinas presentes en la semilla de los genotipos estudiados, con los promedios de 601.07, 543.3 y 831.71 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

En la prueba de comparación de medias entre genotipos, en las plántulas normales, se encontraron nuevo grupos estadísticos, donde el primer grupo se conformó por ocho genotipos con germinaciones desde 70.6 a 85.3 %, entre ellos los testigos cebada cv. Cerro prieto (G22) con el mayor valor (85.3%), avena (G21) con 80.0%, así como las líneas de cebada G16 y G1 con 78.66%, seguidos en el mismo grupo estadístico, los testigos triticale (G25) con 77.33% y trigo (G24) con menor valor de 72.0% (Figura 1a). Cabe señalar que el testigo de cebada cv. GABYAN95 (G23), se ubicó en un tercer grupo con una germinación de 58.66%, propiciando un mal funcionamiento

Fuentes de variación	gL	PN (%)	PA (%)	SSG (%)	LMP (cm/pl)	PS (mg/pl)	ALB (µg/mL)	GLI (µg/mL)	GLU (µg/mL)
Genotipos	24	624.32**	12.88 ^{NS}	716.76**	8.98**	15.85**	26404.97**	38947.90**	127568.83**
Error experimental	50	145.49	13.01	158.08	1.86	10.15	3271.42	7264.52	20536.57
Media		60.9	3.2	35.57	6.39	14.04	601.07	543.3	831.71
C.V.		19.8	112.7	35.5	21.3	22.7	0.5	15.7	17.2
Desviación Estándar		12.1	3.6	12.6	1.4	3.2	57.2	85.23	143.3
R ²		0.67	0.32	0.69	0.7	0.42	0.79	0.72	0.74

* Altamente significativo; % CV= Porcentaje del Coeficiente de Variación; R²= Coeficiente de determinación; gL= Grados de Libertad; PN= Plántulas Normales; PA= Plántula Anormales; SSG= Semilla sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; PS= Peso Seco; ALB= Albumina; GLI= Gliadina; GLU= Glutelina

Cuadro 1 Cuadrados medios y nivel de significancia de las variables estudiadas después del envejecimiento acelerado y la cuantificación de proteínas de genotipos de cereales de grano pequeño

en el metabolismo de germinación de este genotipo (Marcos-Filho *et al.*, 2015; González *et al.*, 2014), generando una disminución de las plántulas normales y aumento de las semillas sin germinar. A pesar de ello, las líneas juntos con Cerro prieto y avena, tuvieron una mayor capacidad de tolerancia a condiciones adversas de temperatura y humedad como afirman (Matthewes *et al.*, 2012), después del EA similares al 70 %, y se clasificaron con una calidad de alto nivel de vigor (Mendoza *et al.*, 2011).

En las plántulas anormales tuvieron tres grupos estadístico, en el primer grupo se formó por 11 genotipos con valor de 4.0 a 9.33%, donde avena (G21) obtuvo el mayor valor (6.66%). En las semillas sin germinar, se encontraron diez grupos estadísticos, donde las líneas G1 y G16, así como los testigos avena (G21) y cebada Cerro prieto (G22) resultaron con los porcentajes más bajos de 10 a 28 %; mientras la línea G9 presentó el mayor porcentaje (65.33%), seguida por las líneas G11, G19 y G18 (con 62.67, 57.33 y 56.0%, respectivamente); así mismo, el testigo GABYAN95 (G23) formó parte del tercer grupo estadístico con 40.0 %, estos altos valores de plántulas anormales y semillas sin

germinar, son la confirmación del efecto del deterioro de la semilla (Marcos-Filho *et al.*, 2015; González *et al.*, 2014), clasificados como materiales genéticos de baja calidad fisiológica como menciona Moreno (1996).

En el vigor, en la clasificación de plántula longitud media de plúmula, se obtuvieron ocho grupos estadísticos, destacando en el primer grupo al testigo cv. Cerro prieto (G22) con el valor más alto (9.49 cm pl⁻¹⁹, seguido por las líneas G1 y G3 (con 9.18 y 9.6 cm/pl, respectivamente) y los testigos trigo (G24), triticale (G25) y avena (G21) con valores de 8.26, 8.10 y 7.4 cm/pl. Y en el peso seco de plántulas se encontraron cinco grupos estadísticos, donde la línea G4 y el testigo GABYAN95 (G23) obtuvieron los mayores valores de 18.54 y 17.6 mg/pl, respectivamente (figura 1 b). Sin embargo, las líneas G9 y G2, también resultaron con altos pesos de 16.42 y 15.74 mg/pl, cada uno. Mientras que la avena (G21) obtuvo el valor más bajo (6.72 mg/pl) clasificada de bajo vigor en acumulación de materia seca (Figura 1 b). La aplicación de pruebas de vigor en la semillas de los genotipos, permitió complementar la información sobre el potencial fisiológico y posible selección de genotipos (Marcos-Filho

et al., 2015). Encontrando que las nuevas líneas de cebada se clasificaron de alto vigor por presentar valores altos en las pruebas de clasificación de plántulas, teniendo potencial en la acumulación de biomasa y altura de la planta en campo (Marcos-Filho *et al.*, 2015).

La prueba de comparación de medias entre genotipos para la proteína albúmina (Figura 3a), registró 12 grupos estadísticos, formando el primer grupo estadístico las líneas G4 y G9 con los mayores valores (719.23 y 702.67 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente), los testigos GABYAN95 (G23), triticale (G25) y Cerro prieto (G22) con valores de 684.17 a 700.73 $\mu\text{g}/\text{mL}$, junto con ocho genotipos más; mientras que avena resultó en el último grupo con la más baja concentración de 329.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

El contenido de proteína gliadina, se encontraron nueve grupos estadísticos, en el primer grupo estadístico destacó la línea G16 con el mayor valor (731.93 $\mu\text{g mL}^{-1}$), seguida por las líneas G20, G18 y G13 con valores 679.83, 672.33 y 657.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente, así como por los testigos triticale (G25) y Cerro prieto (G22) con contenidos de 612.47 y 596.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Figura 3b). Encontrar altos contenidos de gliadinas en las semillas de los cereales de grano, permite reconocer su actividad de tipo estructural o de reserva sobre todo en el endospermo (Shewry & Halford, 2004) y posiblemente su relación con la viscosidad de la materia seca, al presentar la línea G16 el mayor contenido de gliadinas, también resultó con la mayor acumulación de peso seco en la plántula. Con respecto, al testigo de cebada cv. GABYAN95 (G23) resultó con una concentración menor (585.13 $\mu\text{g}/\text{mL}$) formando el segundo grupo, y en el último grupo se encontró la línea G7 en la última posición con la más baja concentración (277.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

La prueba de comparación de medias para la proteína glutelina, indicó 13 grupos estadísticos (Figura 4), teniendo en el primer

grupo la línea G16 con la mayor concentración (1,235.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$), lo que pudiera indicar que es un genotipo de alta calidad, debido al mayor vigor en el porcentaje de plántulas normales después del envejecimiento acelerado, coincidiendo con la relación de respuesta entre el mayor contenido de glutelina con el vigor en maíz (Torres, 2004); dentro del mismo grupo estadístico le siguieron el testigo avena (G21) con 1,192.0 $\mu\text{g}/\text{L}$ y las líneas G18 y G4 con 1,077.7 y 1,020.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$, cada una (Figura 4). Mientras que las líneas G14, G10 y G15, junto con los testigos cv. GABYAN95 (G23) y trigo (G24) formaron el último grupo estadístico con los valores más bajos desde 414.6 a 573.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

En el análisis de correlaciones entre las variables estudiadas, se encontró que las plántulas normales tuvieron una relación significativa ($p < 0.05\%$) y positiva con las plántulas anormales ($r = 0.41$) y negativa con las semillas sin germinar ($r = -0.98$), como señala el Cuadro 2; lo que sugiere que al someter la semilla a un deterioro artificial, se obtendrán porcentajes altos de plántulas normales, pero habrá un incremento en el número de anomalías y disminución en las semillas sin germinar. Así mismo, las plantas anormales y semillas sin germinar tuvieron una relación significativa ($p < 0.05\%$) y negativa ($r = -0.54$), reflejando que a mayor porcentaje de plántulas anormales existirá menor porcentaje de semillas sin germinar.

En el Cuadro 2, se muestra el resultado de la correlación entre las plántulas anormales y el peso seco de plántulas con significativa ($p < 0.05\%$) negativa ($r = -0.52$), siendo que a mayor valor de plántulas anormales, decrecerá el peso seco de las plántulas; mientras que entre las semillas sin germinar y longitud media de plúmula tuvieron una negativa ($r = -0.85$), donde al incrementarse el porcentaje de semillas sin germinar disminuirá la longitud de las plántulas. En cambio, las plántulas

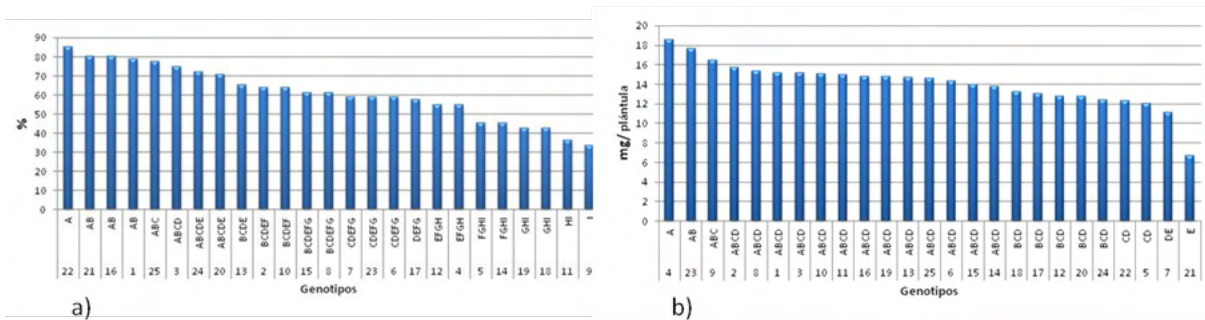


Figura 1 Comparación de medias entre genotipos de cereales de grano pequeño en la germinación (a) plántulas normales y el vigor (b) peso seco de plántula después un envejecimiento acelerado

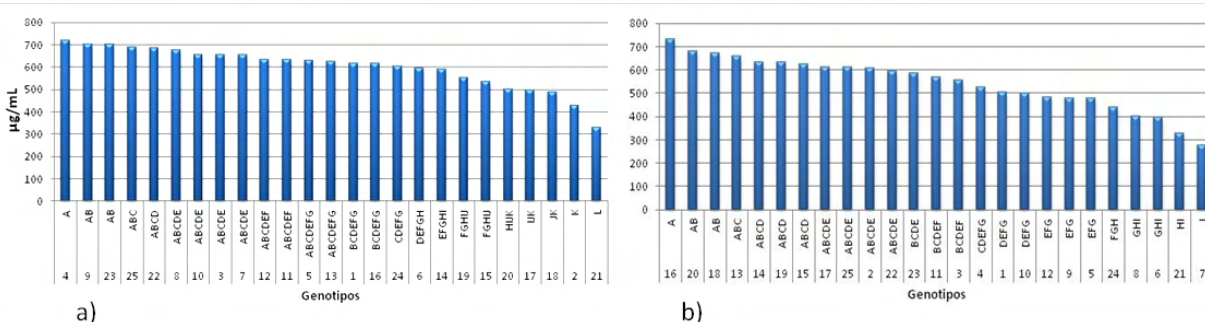


Figura 3 Comparación de medias entre genotipos de cereales de grano pequeño en los contenidos de proteína a) albúmina; b) gliadina.

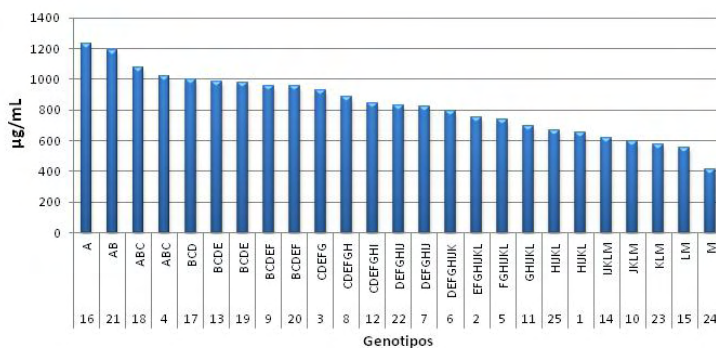


Figura 4 Comparación de medias entre genotipos de cereales de grano pequeño en el contenido de proteína glutelina.

	DE	PN	PA	SSG	LMP	PS	GLU	GLI	ALB
PN	14.42	1.00	0.414	-0.985	0.888	-0.266	0.072	-0.0003	-0.107
PA	2.07		1.00	-0.540	0.295	-0.525	-0.015	-0.224	-0.295
SSG	15.45			1.00	-0.856	0.328	-0.075	0.033	0.132
LMP	1.73				1.00	-0.020	-0.017	0.087	-0.013
PS	2.29					1.00	-0.364	0.369	0.590
GLU	209.43						1.00	0.141	-0.408
GLI	113.94							1.00	-0.063
ALB	93.61								1.00

DE= Desviación estándar; GLU=Glutelina; GLI=Gliadina; ALB= Albúmina PN= Plántulas Normales; PA= Plántula Anormales; SSG= Semilla sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; PS= Peso Seco

Cuadro 2 Correlaciones y desviación estándar entre las variables evaluadas en el estudio de 25 genotipos de cereales de granos pequeño

normales y la longitud media de plúmula presentaron una asociación significativa ($p < 0.05\%$) y positiva ($r = 0.89$); lo que permite identificar a los genotipos que tuvieron mayor valor de plántulas normales tendrán la mayor longitud de la plántula, clasificándolos de alto vigor (Marcos-Filho *et al.*, 2015).

Con respecto a la asociación entre las pruebas fisiológicas y el contenido de proteínas, se encontró que la albúmina tiene una relación significativa ($p < 0.05\%$) y positiva con el peso seco de la plántula de $r = 0.59$ (Cuadro 2). Mientras que las glutelinas y las albúminas tuvieron una relación negativa ($r = -0.408$); lo que puede indicar que al tener mayor contenido de albúmina existirá una disminución de glutelinas en la semilla de los cereales de grano pequeño.

CONCLUSIONES

El deterioro artificial a través de envejecimiento acelerado tiene diferentes efectos en la germinación y vigor de las semillas de cereales de grano pequeño, destacando las líneas de cebada G16, G15 y G1, y la cebada cv. Cerro prieto y la avena cv. Cuauhtémoc, por tener alto vigor en

porcentaje de plántulas normales y longitud media de plúmula. Así mismo, las cebadas cv. GABYAN95 y la línea G16, con alto vigor en el peso seco de plántula. Existen diferencias en el contenido de proteínas presentes en las semillas de cereales de grano pequeño, donde destacan las líneas de cebada G16 y G18 con alta contenido de glutelinas y gliadinas, pero bajo contenido de albúminas; mientras que la avena cv. Cuauhtémoc presentó alto contenido de glutelinas, pero bajo contenido de gliadinas y albúminas comparada con el resto de los genotipos estudiados. En los genotipos evaluados existe una relación entre las variables de vigor evaluadas, al presentarse mayor porcentaje de plántulas normales, se tendrá un mayor peso seco y longitud media de plúmula, además de disminuir las semillas sin germinar, comportamientos dados en las líneas G1, G13 y G16, así como en la cebada cv. Cerro prieto y en la línea experimental AN-366 de trigo. Existe una relación positiva entre el contenido de albúminas en las semillas y el peso seco de las plántulas, probablemente debido a que las albúminas son proteínas estructurales, sobresaliendo las líneas G4 y G9, además de la cebada cv. GABYAN95.

REFERENCIAS

- AOSA, Association Official Seed Analysts. Seed Vigour Testing handbook. Association Official Seed Analysts Contribution No. 32 to the handbook of seed testing. US. 6(2): 1-126, 1992.
- Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72: 248-254, 1976.
- Durán, H.D., Gutiérrez, H.G. F., Arellano, V.J.L., García, R.E., y Virgen, V.J. Caracterización molecular y germinación de semillas de maíces criollos azules con envejecimiento acelerado. *Agronomía Mesoamericana*, Vol. 22(1), 11-20, 2011.
- García, R.J.J., Gámez, V.F.P., Arreola, T.J.M., Zamora, D.M., y Solano, H.S. Producción de semilla de cebada maltera en surcos a doble hilera: calibración de sembradoras. INIFAP-CEBAJ. Celaya, Guanajuato. Folleto Técnico No 4. pp. 7 – 10, 2003.
- González, F. Accelerated aging on the quality of maize seeds for alternative sprouted fodder production. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, Vol.8, p. 1487-1493, 2014.
- González, R.F, León, D.G., Borges, G.L., Pinzón, L.L., Magaña, M.M., Sangines, G.R. y Urrestarazu, G.M. Envejecimiento acelerado sobre la calidad de maíz para producir germinados para forraje alternativo. *Rev. Mex. Cien. Agric.* 8(3):1487-1493, 2014 <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263131168014>.
- International Seed Testing Association (ISTA). International rules for seed testing Edition 2009. The International Seed Testing Association, Zürichstr. 50 CH-8303 Bassersdorf, Switzerland. ISBN-13 978-3-906549-53-8, 2009.
- Marcos Filho Julio. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agricola*, 72(4), 363-374, <http://dx.doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>, 2015.
- Matthews, S., Noli, E., Demir, I., Khajehhosseini, M. & Wagner, M.H. Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. *Seed Science Res.* 22:69, 2012.
- Mendoza, E.M., Cortez, B.E., Rivera, R.J.G., Rangel, L.J.A., Andrio, E.E. y Cervantes, O.F. Época y densidad de siembra en la producción y calidad de semilla de triticale (X *Triticosecale Wittmarck*). *Revista Agronomía Mesoamericana*. 22 (2): 309-316. 2011. http://www.mag.go.cr/rev_meso/v22n2_309.pdf. ISSN: 1021-7444.
- Milošević, M.; Vujaković, M. and Karagić, D. Vigour tests as indicators of seed viability. *GENETIKA*, Vol. 42, No. 1, 103-118, 2010. doi: 10.2298/GENSR1001103M.
- Mohammadi, H., & Soltani, A. Effects of seed aging on subsequent seed reserve utilization and seedling growth in soybean. *International Journal of Plant Production*, Vol. 5(1), pp 65-70, 2011.
- Moreno, M.E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Tercera edición. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria, México, D.F. ISBN 968-36-5778-8. 393 p. 1996.
- SAS Institute Inc. Base SAS® 9.1.3 Procedures Guide. Second Edition, Vol. 4. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 398 p. 2009.
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). Regla para la calificación de semillas, Cereales. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural. Consulta en internet 20 de octubre del 2019. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/172406/Cereales.pdf>
- Shewry, P. R., & Halford, N. G. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 53, 974-958, 2004.
- Torres T, M. A. Identificación y cuantificación de proteínas en semillas de maíz relacionadas en germinación y vigor. Tesis de maestría, Universidad Autónoma Agraria Anotnio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila 134 p. 2004.
- Vashisth, A., & Nagarajan, S. Germination Characteristics of Seeds of Maize (*Zea mays* L.) Exposed to Magnetic Fields under Accelerated Ageing Condition. *Journal of Agricultural Physics* , 9, pp 50-58, 2009.