

Relación entre Fracciones de Proteínas con la Germinación, Vigor y Sanidad en Semilla de Maíz

María Alejandra Torres-Tapia^{1*}, Mario Ernesto Vázquez-Badillo¹, Víctor Manuel Zamora-Villa², Rosalinda Mendoza-Villarreal³.

¹Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas, ²Departamento de Fitomejoramiento, ³Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C.P.-25315. *Autor responsable. Tel. (844) 411-0377. E-mail: atorres_tapia@hotmail.com

Recibido: Octubre, 2004. Aceptado: Mayo, 2006.

Abstract. Relation among protein fractions with germination, vigor and health in maize seed. The concentrations of zein, glutelin, albumen and globulin in whole seed, embryo and endosperm of nine maize genotypes were determined, with the purpose of studying the relations between the types, and the concentrations of proteins, with germination, vigor and health of the seed, before and after putting them under artificial aging. A completely randomized design with four repetitions was applied. The fractions of proteins were quantified by Lowry's method of (1951). The relation between variables was studied by means of the analysis of main components. The results showed that all the genotypes, but G4, presented an infection by *Fusarium moniliforme*, which was positively related to the concentration of albumen, globulin and zein in whole seed, as well as with the abnormal appearance of plantules. Germination and vigor were positively related to the concentration of glutelin in the embryo, endosperm and whole grain. The vigor, determined by means of length of plumule and dry weight, was positively related to the concentrations of glutelin in endosperm and zein in the embryo. The conclusion is that the presence of *F. moniliforme* in the seed, in most of the evaluated genotypes, affected its physiological quality, and the proliferation of the pathogen was positively related to the concentrations of albumen and globulin. Genotypes G1 and G3 showed the highest values of infection by *F. moniliforme*, which caused both a loss in germination and in vigor. The greater similarity in the evaluated characteristics was the one between the Genotypes G7 and G9 with relation to the G2, used like witness.

Key words: Genotype, *Fusarium moniliforme*, albumen, globulin, zein, glutelin.

Resumen. Se determinaron las concentraciones de zeína, glutelina, albúmina y globulina en semilla entera, embrión y endospermo de nueve genotipos de maíz, con el fin de estudiar las relaciones entre los tipos y las concentraciones de proteínas con la germinación, vigor y sanidad de la semilla, antes y después de someterlas a envejecimiento artificial. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Las fracciones de proteínas se cuantificaron con el método de Lowry (1951). La relación entre variables se estudió mediante el análisis de componentes principales. Los resultados mostraron que, excepto el G4, todos los genotipos presentaron infección por *Fusarium moniliforme*, la cual se relacionó positivamente con la concentración de albúmina, globulina y zeína en semilla entera, así como con la aparición de plántulas anormales. La germinación y el vigor se relacionaron positivamente con la concentración de glutelina en el embrión, endospermo y grano entero. El vigor, determinado mediante longitud de plúmula y peso seco, se relacionó positivamente con las concentraciones de glutelina en el endospermo y zeína en el embrión. Se concluyó que la presencia de *F. moniliforme* en la semilla, en la mayoría de los genotipos evaluados, afectó su calidad fisiológica, y la proliferación del patógeno se relacionó positivamente con las concentraciones de albúmina y globulina. Que los Genotipos G1 y G3 mostraron los valores más altos de infección por *F. moniliforme*, lo cual provocó una pérdida en la germinación y vigor. La mayor similitud en las características evaluadas se tuvo entre los Genotipos G7 y G9 con relación al Genotipo G2, utilizado como testigo.

Palabras clave: maíz, *Fusarium moniliforme*, albúmina, globulina, zeína, glutelina.

Introducción

La producción de semilla de maíz en México fue del orden de 425.7 miles de toneladas (FAO, 2003), lo que indica la importancia que los productores le atribuyen en la producción de este cereal, así como a la calidad que debe tener la semilla para sembrar. Thomson (1979) y Garay (1989) coincidieron en describir la calidad a partir de cuatro componentes: genético, fisiológico, sanitario y características físicas. Adicionalmente, Hampton (2001) menciona que la calidad de semilla puede ser vista como un patrón de excelencia que va a determinar el desempeño de la semilla en la siembra o en el almacén.

Los componentes de calidad fisiológica y vigor son las primeras señales de deterioro que aparecen en las semillas, seguidas de reducción en la germinación, incremento de la cantidad de plántulas anormales y finalmente la muerte (Ferguson, 1995).

Perry (1987) describió los procesos que influyen y pueden presentar variaciones asociadas con diferencias en el vigor de la semilla, tales como los procesos bioquímicos durante la germinación, las reacciones enzimáticas, la actividad respiratoria, la tasa y uniformidad de germinación de la semilla, el crecimiento de la plántula en el campo, y la habilidad de emergencia de la plántula bajo condiciones no favorables. En el aspecto bioquímico, Forato *et al.* (2000) establecieron que una de las proteínas que ha tenido importancia en cuanto a su actividad metabólica es la zeína, la cual es una proteína de almacenaje en semillas de maíz, abundante en el endospermo, que se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso y se deposita en organelos discretos llamados cuerpos de proteínas. Esta proteína, así como la glutelina, están consideradas como estructurales, mientras que la globulina y albúmina, entre otras, se consideran tanto funcionales por su peso molecular; (Boyer, 2000), como estructurales por ser proteínas de almacén (Shutov *et al.*, 2003).

Algunas semillas mejoradas de maíz tienen un comportamiento diferencial al sembrarse en seco para luego irrigarse, por lo que ocurren bajas emergencias en campo; en cambio, cuando se siembran en tierra venida, éstas tienen una respuesta excelente, con lo que se logra establecer la población recomendada por unidad de superficie.

Este trabajo se realizó para comparar el comportamiento de nueve genotipos, en función de la cantidad de proteínas en el endospermo, embrión y semilla entera; esta última se relacionó con la germinación, el vigor y la sanidad, bajo el supuesto de que la cantidad y tipo de proteínas presentes en ella influyen en su calidad fisiológica y sanidad.

Materiales y Métodos

La caracterización de los materiales se llevó a cabo en el Laboratorio de Ensayos de Semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (CCDTS), y en el de Apoyo a la Investigación del Departamento de Ciencias Básicas, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Saltillo, Coah. México.

El material genético constó de nueve genotipos comerciales (G): ocho fueron proporcionados por la Empresa Monsanto, S.A. de C.V. y uno de otra empresa, que se usó como testigo (G2). Por confidencialidad no se mencionan sus nombres comerciales, con el fin de realizar una prueba ciega, pero todos ellos se cosecharon durante el ciclo Primavera-Verano del 2003.

Los componentes fisiológico y sanitario de la semilla se determinaron en los nueve genotipos, con un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Se evaluaron las siguientes variables:

Germinación (G)

Se realizó de acuerdo a las reglas de la International Seed Testing Association (ISTA, 1996). Se utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas por genotipo, que se incubaron en una cámara germinadora, a 25 °C con ocho horas de luz y 16 de oscuridad. El conteo de plántulas normales, anormales, y de semillas sin germinar o muertas, se realizó a los seis días, conforme al manual de la Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1992).

Envejecimiento acelerado (EA)

Se utilizó el método de AOSA (1983). Se colocaron 200 semillas por genotipo en una humedad relativa de \pm 95 %, durante 96 horas, a 42 °C. Al finalizar el período de envejecimiento, se realizó una prueba de germinación, tal como se describió anteriormente, pero con cuatro repeticiones de 50 semillas.

Longitud media de plúmula (LMP)

Se hicieron cuatro repeticiones de 25 semillas por genotipo y se utilizó la metodología descrita por Perry (1977). Adicionalmente se determinó esta variable después de someter la semilla a envejecimiento acelerado, con el fin de evaluar el vigor con más severidad.

Tasa de crecimiento de plántula (Peso seco de plántula, PSP)

Se utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas por genotipo, de acuerdo a la metodología descrita por la

AOSA (1983 y 1992). La evaluación se realizó en la semilla, antes y después de la prueba de envejecimiento acelerado.

Sanidad

Se utilizó la siembra en placas de agar- y se lavó la semilla con Tween 20, para quitar el tratamiento químico en los genotipos que lo presentaban. Se desinfectó la semilla con hipoclorito de sodio al 2 %, por 90 segundos, y se sembraron 10 semillas por caja petri con Papa-Dextrosa-Agar (PDA) y Malta-Sal-Agar (MSA); se utilizaron cuatro repeticiones por genotipo. La semilla se incubó por siete días a 27 °C, para determinar los patógenos presentes y el porcentaje de infección de cada genotipo. Para su correcta identificación, se aislaron los patógenos en medio del cultivo de harina de maíz-agar a 28 °C por siete días, se obtuvo una purificación monoconidial o cepa pura (Booth, 1971; Neergaard, 1977).

Cuantificación de proteínas

La extracción de las proteínas se realizó en semilla entera, embrión y endospermo, que previamente se trituraron y molieron en un molino marca Willey, y se cribaron con un tamiz del número 20. De cada una de las porciones se separaron las proteínas con diferentes solventes, según se describe a continuación:

Albumina. Para su extracción se utilizaron 25 y 50 ml de agua destilada a 4 °C, en muestras de 5 g de semilla entera y de embrión, así como de 10 g de endospermo; las muestras se agitaron y dejaron reposar durante cuatro horas; luego se centrifugaron a 4000 rpm y el sobrenadante de cada una se llevó a un volumen final de 100 ml, con agua destilada (Sato *et al.*, 1986; Parra, 1990).

Globulina. El residuo resultante de la centrifugación se utilizó para obtener esta proteína; para lograrlo, se le agregaron 25 y 50 ml de NaCl al 5 %, a 4 °C, en las fracciones antes mencionadas, se agitó y se dejó reposar una hora, luego se centrifugó a 4000 rpm y se llevó a 100 ml de solución con NaCl al 5 % (Sato *et al.*, 1986; Ortiz, 1992; Parra y Ortiz, 1993).

Zeína. Al residuo obtenido anteriormente se le agregaron 25 y 50 ml etanol al 70 %, a 4 °C; se agitó y dejó reposar por cuatro horas; luego se centrifugó a 4000 rpm y se llevó a 100 ml de solución con etanol al 70 % (Hojilla-Evangelista *et al.*, 2003).

Glutelina. Al residuo anterior, se le agregaron 25 y 50 ml de hidróxido de sodio al 0.2 %, a 4 °C, se agitó y se dejó

reposar una hora; en seguida se centrifugó y se llevó a 100 ml de solución con NaOH al 0.2% (Larsen, 1967). Cada una de las proteínas extraídas se cuantificó por el método de Lowry (1951). La reacción es extremadamente dependiente del pH₂, que debe mantenerse entre 10-10.5 %. Se requirieron cuatro reactivos: A: Na₂CO₃ en NaOH 0.1M, B: CuSO₄.5H₂O al 0.5 % en tartrato de sodio y potasio al 1 %, C: 50 volúmenes de reactivo A más un volumen de reactivo B, y D: reactivo de Folin-Ciocalteu/H₂O, 1:2 en v/v. Se realizó la curva estándar con una solución de seroalbúmina a 1 mg/ml, leyendo a 600 nm de absorbancia. Se evaluaron tres repeticiones de cada genotipo con sus respectivas fracciones (Lowry *et al.*, 1951).

Para cada variable se realizó un análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar y prueba de medias (DMS al 0.05 de probabilidad), de acuerdo con Steel y Torrie (1980). Con el fin de reducir la dimensionalidad de los datos, establecer las relaciones entre las variables y agrupar genotipos semejantes, se realizó un análisis de componentes principales (ACP), tal como lo describen Manly (1986) y Johnson y Wichern (1988).

Resultados y Discusión

Germinación (G)

El análisis de varianza detectó diferencias (P< 0.01) entre genotipos, donde el G2 (testigo), G4, G5, G6, G7, G8 y G9 mostraron valores superiores al 95 % de germinación, mientras que el G3 mostró la menor capacidad de germinación con 90 %; todos ellos superiores a lo que establecen las Normas de Certificación publicadas por SNICS (1980). En plántulas anormales (PA) también se reportó alta significancia entre genotipos, de tal forma que G2, G4, G5, G7 y G8 presentaron menor porcentaje de plantas anormales (0 a 2.0 %), lo que reafirma su alta calidad, mientras que el G1 y el G3 mostraron los mayores valores de plantas anormales (8.0%). En lo referente a semillas sin germinar se detectó significancia, pues obtuvo mayor valor de semillas muertas el G7 (3.0 %), seguido por el G3 (2.0 %) y el G1 (1.0 %); el resto de los genotipos no presentaron semillas muertas o sin germinar (Cuadro 1).

Vigor mediante la prueba de envejecimiento acelerado (EA)

Se registraron diferencias (P<0.01) entre los genotipos, pues se observaron valores superiores al 93 % en los genotipos: G2, G8, G4, G5, G6 y G7, mientras que el G1 presentó el valor más bajo con 67 % de vigor (Cuadro 1).

Cuadro 1. Comparación de medias en la germinación, vigor y sanidad de los genotipos evaluados.

Genot	Germinación Estándar				Vigor				Sanidad		
	PN	PA	SM	LMP	PS	EAPN	EAPA	EASM	EALP	EAPS	<i>Fusarium Moniliforme</i>
G1	91.0bc	8.0 a	1.0 bc	9.97d	47.35e	67.0 c	10.0 a	23.0a	4.35b	31.24e	62.50a
G2	99.0 a	1.0 b	0.0 c	11.03c	69.09c	99.0 a	0.0c	1.0c	8.31a	45.41cd	52.50ab
G3	90.0c	8.0a	2.0ab	11.24bc	54.39d	88.0b	2.0bc	10.0b	8.62a	41.40d	62.50a
G4	100a	0.0b	0.0c	12.04ab	43.18e	94.0ab	6.0ab	0.0c	5.10b	18.49f	0.0e
G5	98.0a	2.0b	0.0c	10.68cd	67.98c	94.0ab	4.0bc	2.0c	5.48b	44.38cd	50.0abc
G6	97.0a	3.0ab	0.0c	12.50a	75.97ab	94.0ab	6.0ab	0.0c	8.96a	56.55ab	25.0cde
G7	97.0a	0.0b	3.0 a	12.35 a	84.04a	97.0ab	2.0bc	1.0c	8.67a	63.88a	55.0ab
G8	100a	0.0b	0.0c	11.03 c	69.03c	98.0a	2.0bc	0.0c	9.02a	39.17d	12.5de
G9	96.0a	4.0ab	0.0c	12.02a	72.97bc	91.0ab	4.0bc	5.0bc	8.49a	50.67bc	35.0bcd
Valor DMS	5.36	5.53	1.77	0.93	6.61	9.14	5.24	6.61	1.42	7.66	26.19

Medias sugeridas por la misma letra, no son significativamente diferentes (DMS 0.05%).

PN = Plántula normal; PA = Plántula anormal; SM = Semilla muerta o sin germinar; LMP = Vigor de crecimiento de plántula (Longitud media de plúmula); PS = Vigor en peso seco total de plántula normal (Tasa de crecimiento de plántula); EAPN = Plántula normal después del envejecimiento acelerado; EAPA = Plántula anormal después del envejecimiento; EASM = Semilla sin germinar después del envejecimiento; EALP = Vigor de crecimiento de plántula después del envejecimiento (Longitud media de plúmula); EAPS = Peso seco total de plántula normal después del envejecimiento (Tasa de crecimiento de plántula).

El porcentaje de plántulas anormales en esta prueba mostró alta significancia, donde el testigo (G2) no presentó anomalías, seguido de G3, G4, G7, G8 y G9 con menos del 4.0 %; en contraparte, G1 con 10% de plantas anormales mostró el menor vigor. El G2 (testigo), G4, G5, G6, G7 y G8 no presentaron semillas sin germinar y, nuevamente, el G1 presentó el menor vigor al obtener un 23.0% de semillas sin germinar, por lo que resultó estadísticamente diferente a los demás.

Vigor mediante longitud media de plúmula (LMP)

Existieron diferencias ($P < 0.01$) entre los genotipos, donde G6, G7, G9 y G4 mostraron valores superiores a los 12.0 cm por lo que indicaron alto vigor, mientras que G1 con 9.97 cm se clasificó de bajo vigor.

En cuanto a la longitud de plúmula después de un envejecimiento acelerado (LMPEA), se detectó alta significancia entre los genotipos, mientras que en la comparación de medias (Cuadro 1), se mostró que los genotipos G2, G3, G6, G7, G8 y G9 presentaron mayor vigor por los altos valores de longitud de plúmula, a diferencia de los genotipos G1, G4 y G5, que presentaron bajos valores de longitud; al parecer estos genotipos fueron afectados por las altas temperaturas y la humedad de la prueba de envejecimiento.

Peso seco de plántula

Se detectó alta significancia entre los genotipos, y la comparación de medias mostró que el G7 (con 84.04 mg/plántula), seguido por el G6 (con 75.97 mg/plántula) obtuvieron valores superiores de peso seco, lo que se interpreta como alto vigor, mientras que el G1 y el G4 obtuvieron pesos bajos (47.35 y 43.18 mg/plántula), lo que indica bajo vigor (Cuadro 1).

Después de un envejecimiento acelerado, también se encontró una alta significancia entre genotipos, donde G7 y G6 se mantuvieron como los mejores al tener valores altos de peso seco, con 63.88 y 56.55 mg/plántula; por su parte, el G4 (18.49 mg/plántula) resultó ser el de menor vigor.

Sanidad

Existieron diferencias ($P < 0.01$) entre los genotipos, y la comparación de medias destacó que el G4 no presentó ninguna infección, mientras que los genotipos G1 y G3 con 62.5 % de infección, seguidos por G2, G5 y G7 con un promedio de 52.5 %, tuvieron valores altos en este renglón, en tanto el G9 presentó un 12.5 % de infección por *Fusarium moniliforme* (Cuadro 1). El hecho de que la mayoría de los genotipos presentaron infección, y de que algunos genotipos no se vieron afectados en sus

porcentajes de germinación y vigor se debió, posiblemente, a que éstos contienen otras características de resistencia a este patógeno, como lo mencionan Guo *et al.* (1997).

La identificación del patógeno se realizó después de la purificación monoconidial, gracias a la cual se encontraron abundantes microconidios unicelulares, cuya longitud fue de 6-125 micras (μ) y 2.43-3 μ de ancho. Los microconidios se encontraron en cadena y cabezuela, en el medio de cultivo. El hongo produjo pocos conidios cuando sólo tenía siete días de edad, la célula apical del microconidio terminó en forma reducida y redondeada, y la parte basal en forma de pie. La ramificación de las fiálides fue lateral, en forma verticilada. Sus dimensiones fueron de 20 x 3 μ . Las fiálides se adelgazaron en la parte terminal donde hubo la producción de conidios.

La presencia de clamidosporas no fue tan evidente en el cultivo, ya que se pudieron confundir con el micelio cuando está germinando; las clamidosporas se producen en forma terminal, intercaladas y en cadena, cuando el micelio está formándose durante su fase sexual. Estas características identifican al *Fusarium moniliforme* según Booth (1971), y todas las semillas las presentaron, por lo que la variabilidad fue evidente entre los diferentes genotipos, ya que se observó una amplia gama de colores entre los aislamientos.

Cuantificación de proteínas por el método de Lowry

Albúmina. Se presentó alta significancia en las tres formas de evaluación (semilla entera, endospermo y embrión); la diferencia de cantidades de la fracción de albúmina pudo estar determinado por el genotipo, ya que en la comparación de medias (Cuadro 2), el genotipo G9 mostró las más altas concentraciones en la semilla entera- y el endospermo (0.777 y 0.133 mg/ml), mientras que los genotipos G6 y G8 presentaron las más bajas concentraciones en la semilla entera (< 0.735 mg/ml) y en el endospermo (< 0.081 mg/ml), y además este último genotipo mostró una baja concentración en embrión, con 0.456 mg/ml. En cuanto al testigo, éste mostró menor cantidad en la semilla entera (0.774 mg/ml), pero mayor en el endospermo (0.108 mg/ml); mientras que en embrión, los que obtuvieron mayores concentraciones fueron G3 y G7 (0.738 y 0.820 mg/ml), lo cual coincide con algunos autores respecto a que la mayor cantidad de albúmina y globulina (proteínas estructurales-funcionales), se encuentra en la primera etapa del desarrollo de la semilla en embrión y menos cantidad en el endospermo, en la capa de aleurona (Monjardino *et al.*, 2005).

Globulina. Se observó una alta significancia entre los

Cuadro 2. Comparación de medias en las fracciones de proteínas en semilla entera, endospermo y embrión de los genotipos evaluados.

Fracc.	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9
Entera									
Alb	0.773ab	0.744bcde	0.773ab	0.756abcd	0.727de	0.712e	0.767abc	0.735cde	0.777a
Glo	0.752bc	0.718d	0.769ab	0.735cd	0.723d	0.735cd	0.778a	0.737cd	0.789a
Zei	0.201b	0.118b	0.104c	0.143c	0.019d	0.040d	0.269a	0.204b	0.257a
Glu	0.404c	0.273d	0.304d	0.403c	0.317d	0.434bc	0.383c	0.531a	0.467b
Endospermo									
Alb	0.0912b	0.108ab	0.080bc	0.080bc	0.085b	0.081bc	0.105b	0.054c	0.133a
Glo	0.102c	0.187a	0.122c	0.105c	0.17ab	0.150b	0.150b	0.113c	0.174ab
Zei	0.122d	0.596a	0.439b	0.443b	0.413b	0.443b	0.380c	0.356c	0.417b
Glu	0.454bc	0.508b	0.286d	0.414bc	0.424bc	0.467b	0.364cd	0.458bc	0.829a
Embrión									
Alb	0.571cde	0.658bc	0.728ab	0.629cbd	0.533de	0.668bc	0.820a	0.456e	0.596cd
Glo	0.845a	0.912a	0.910a	0.872a	0.856a	0.918a	0.914a	0.844a	0.839a
Zei	0.224d	0.295a	0.253bcd	0.290ab	0.248cd	0.261Abad	0.292ab	0.228cd	0.269abc
Glu	0.085b	0.122ab	0.062b	0.072b	0.034b	0.115Ab	0.056b	0.269a	0.125ab

Medias sugeridas por la misma letra no son significativamente diferentes (DMS 0.05%).

Fracc = Fracción de proteína; Endos = Endospermo; Alb = albúmina; Glo = Globulina; Zei = Zeína; Glu = Glutelina.

genotipos en semilla entera y en el endospermo, mientras que en embrión no se detectaron diferencias; se mostraron cantidades similares de globulina en el embrión de los genotipos evaluados, mientras que en el endospermo y, por consecuencia, en la semilla entera, fueron diferentes, lo que confirma lo descrito por Monjardino *et al.* (2005) en este sentido; así mismo, los genotipos que mostraron mayor concentración en embrión fueron G6, G7 y G2 con valores arriba de 0.912 mg/ml; sin embargo, en endospermo, el que resultó tener más alta concentración fue el G2 (0.187 mg/ml) seguido de G9 y G5 (0.174 y 0.171 mg/ml), aunque en semilla entera, la mayor concentración de esta proteína la presentó G9, con 0.789 mg/ml (Cuadro 2). Estas diferencias tal vez se debieron a las características genéticas de cada material, ya que esta proteína tiene habilidades tanto funcionales como estructurales, pues se sintetiza durante la maduración de la semilla y se degrada en la de germinación, así como en el crecimiento de la plántula (Shutov *et al.*, 2003).

Zeína. Se reportó una alta significancia entre los genotipos para la evaluación de la semilla entera y en el endospermo, mientras que en las concentraciones en embrión no hubo diferencias. Lo anterior confirma lo descrito por Bin Mohammad y Esen, (1990) y Forato *et al.* (2000), quienes mencionan que la fracción de zeína se encuentra principalmente en el endospermo, pues es una proteína estructural, integral y transmembranal que determina la permeabilidad de las membranas en este caso, las cantidades de zeína fueron diferentes en el endospermo y, obviamente, en la semilla entera de cada genotipo evaluado; sin embargo, la cantidad de zeína en el embrión fue estadísticamente igual, lo cual es lógico por ser una proteína que se encuentra en el endospermo y proporciona al embrión la fuente de nitrógeno, azufre y carbono (De Barros y Larkins, 1990). En la comparación de medias en semilla entera (Cuadro 2), el G8 resultó tener la mayor concentración con 0.531 mg/ml, mientras que los genotipos G2, G3 y G5 presentaron bajas concentraciones (0.273, 0.304 y 0.317 mg/ml, respectivamente). En lo que se refiere al endospermo, el G2 fue el de mayor contenido con 0.596 mg/ml, mientras que los más bajos fueron G7- y G8 con 0.380 y 0.356 mg/ml, respectivamente.

Glutelina. Al igual que en las dos proteínas anteriores, hubo diferencias ($P < 0.01$) entre los genotipos en la evaluación de semilla entera y endospermo, mientras que en la evaluación de embrión no hubo diferencias, lo que reafirma lo descrito por Monjardino *et al.* (2005), quienes señalan que tanto la zeína como la glutelina son proteínas estructurales y de reserva, que constituyen aproximadamente del 50 al 60 % del contenido de proteínas

en el endospermo de la semilla en su madurez fisiológica. Se encontró que G8 y G9 presentaron las más altas concentraciones de glutelina en embrión (0.269 y 0.125 mg/ml), al igual que el G2, con 0.122 mg/ml según se muestra en el Cuadro 2. Por otro lado, los genotipos que registraron concentraciones bajas en endospermo fueron G3 y G7, con 0.286 y 0.364 mg/ml, mientras que G7 presentó la concentración más alta en semilla entera con 0.531 mg/ml.

Relación entre variables

El análisis de componentes principales explicó un 70.1 % de la variación total con tres componentes principales o factores: el primer factor contuvo un 32.0 % de la varianza total y explicó, principalmente, la relación que existe entre la capacidad de germinación, el vigor y la concentración de zeína en el endospermo, que se relacionan positivamente entre sí y con el primer factor, por lo cual se puede considerar éste como un componente o factor fisiológico, ya que se menciona que la fracción de proteínas estructurales son las responsables de la calidad fisiológica (Dunwell *et al.*, 2000); el segundo factor explicó un 22.9 % de la varianza total y estuvo determinado por las semillas sin germinar y la infección de *Fusarium moniliforme*, donde éstas se relacionaron negativamente con la concentración de albúmina en el embrión, por ser este factor un componente químico-sanitario; el resto de la varianza explicada (15.2 %) lo retuvo el tercer factor, que señala principalmente la relación positiva entre las concentraciones de zeína y glutelina en endospermo (proteínas estructurales), así como esta última en semilla entera, tal como se aprecia en el Cuadro 3.

Lo anteriormente expresado se puede apreciar en la Figura 1, en la cual se establecen las relaciones ya mencionadas. Para facilitar la comprensión, se establecieron cuadrantes mediante líneas que atraviesan cada factor en su punto cero; de esta manera, en el cuadrante superior derecho se deduce que existe una relación estrecha entre la germinación (CGPN) y el vigor (EAPN) con las concentraciones de zeína en endospermo (ZEINENDO), lo que confirma lo descrito por Carvalho & Nakagawa (1988) y Dunwell *et al.* (2000), quienes mencionan que la composición química de la semilla influye directamente en el vigor y en el potencial de almacenamiento de las mismas, sobre todo las proteínas estructurales; así mismo, con las concentraciones de glutelina en las tres formas, como se determinó en el endospermo (GLUTENDO), embrión (GLUTEMB), y semilla entera (GLUTSE), da por resultado la existencia de una relación positiva entre ellas; negativa con el porcentaje de infección en la semilla (*Fusarium*),

concentraciones de globulina, albúmina y zeína en semilla entera (GLOSE, ALBSE y ZEINSE, respectivamente), semillas muertas en germinación estándar (CGSM) y envejecimiento acelerado (EASM), así como en plántulas anormales en germinación estándar (CGPA).

Así se explica que la capacidad de germinación y el vigor (longitud media de plúmula) están directamente relacionadas con las concentraciones de globulina en endospermo y embrión, así como la zeína con el embrión, principalmente.

La concentración de las proteínas funcionales en semilla entera y embrión están estrechamente relacionadas con la infección de *Fusarium*, lo cual coincide con Hashem & Zohri (2003), ya que dicho patógeno produce enzimas capaces de degradar proteínas para su metabolismo. En este trabajo se percibió que a mayor concentración de albúmina y globulina en la semilla entera, existe mayor incidencia del patógeno, lo que coincide con Carrillo (2003), quien menciona que las micotoxinas producidas por estos patógenos también actúan sobre las membranas celulares, inhiben el ADN y la síntesis de ARN, y alteran el metabolismo de los lípidos y proteínas. También se aprecia en la Figura 1, que la relación positiva existente entre el vigor (el

envejecimiento acelerado (VEAPS) y el peso seco (VPS)) con las concentraciones de albúmina (ALBENDO) y zeína (ZEINENDO) en el endospermo, y de esta última con globulina (GLOEMB), ambas en el embrión, las cuales están relacionadas negativamente con la incidencia del *Fusarium*.

Los resultados del análisis de componentes principales se establecen las relaciones entre los genotipos. En la Figura 2 se aprecia que el genotipo G2 fue muy similar, en su expresión general, a los genotipos G7 y G9, así como el G6, ya que se caracterizan por presentar mayor vigor (peso seco y envejecimiento acelerado), y una alta concentración de proteínas, según se describe en el cuadrante inferior derecho de la Figura 1. Por su parte, el genotipo G8 se caracterizó por tener excelente capacidad de germinación, alta longitud de plúmula, pero bajo peso seco. El genotipo que presentó mayor deterioro por infección del patógeno y reducción de sus concentraciones de proteínas funcionales fue el G3, lo cual redundó en una baja capacidad de germinación y de pruebas de vigor, al igual que el G1, aunque éste presentó mayor cantidad de plántulas anormales y semillas muertas en el envejecimiento acelerado, así como diferentes concentraciones de proteínas.

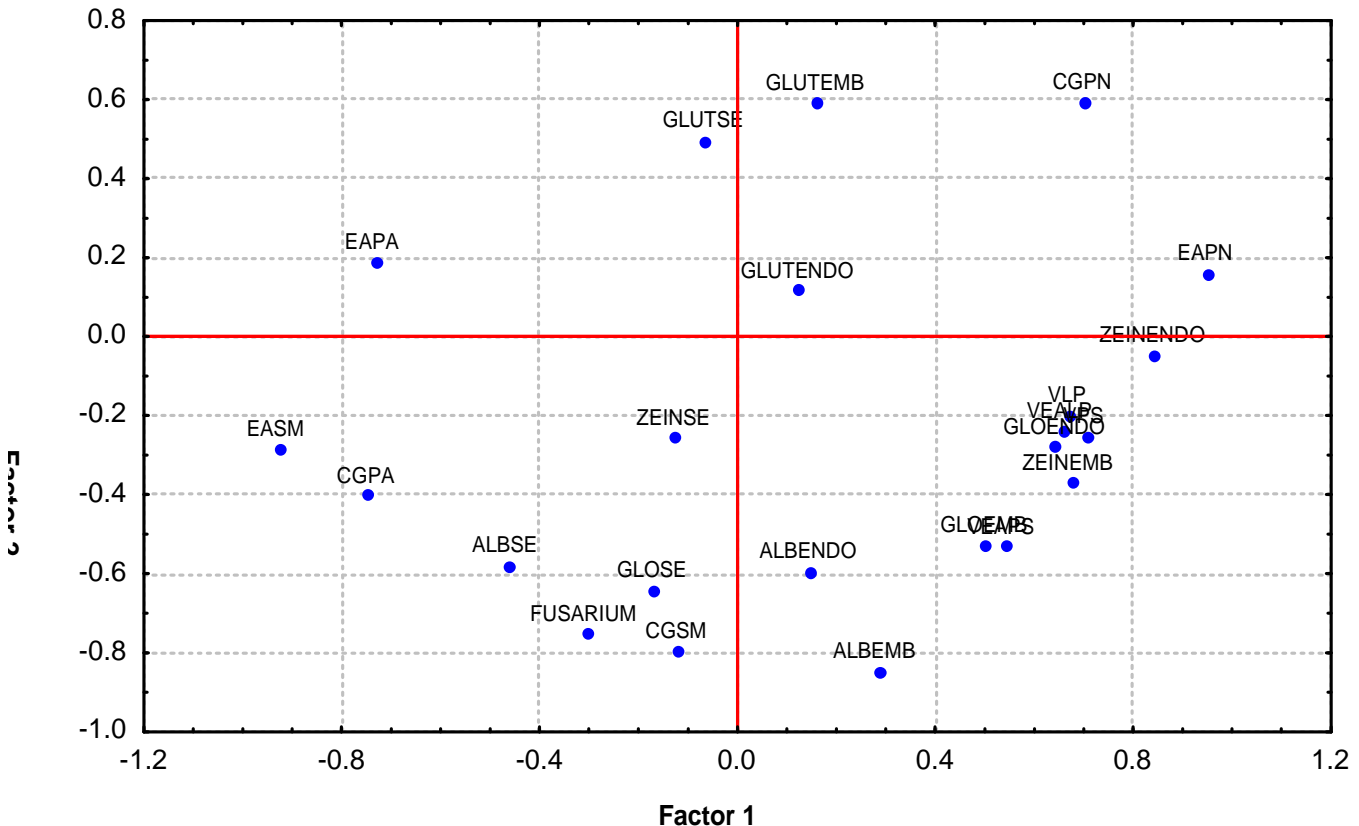


Figura 1. Relación entre variables estudiadas con base en el primer factor (fisiológico) y en el segundo (químico-sanitario).

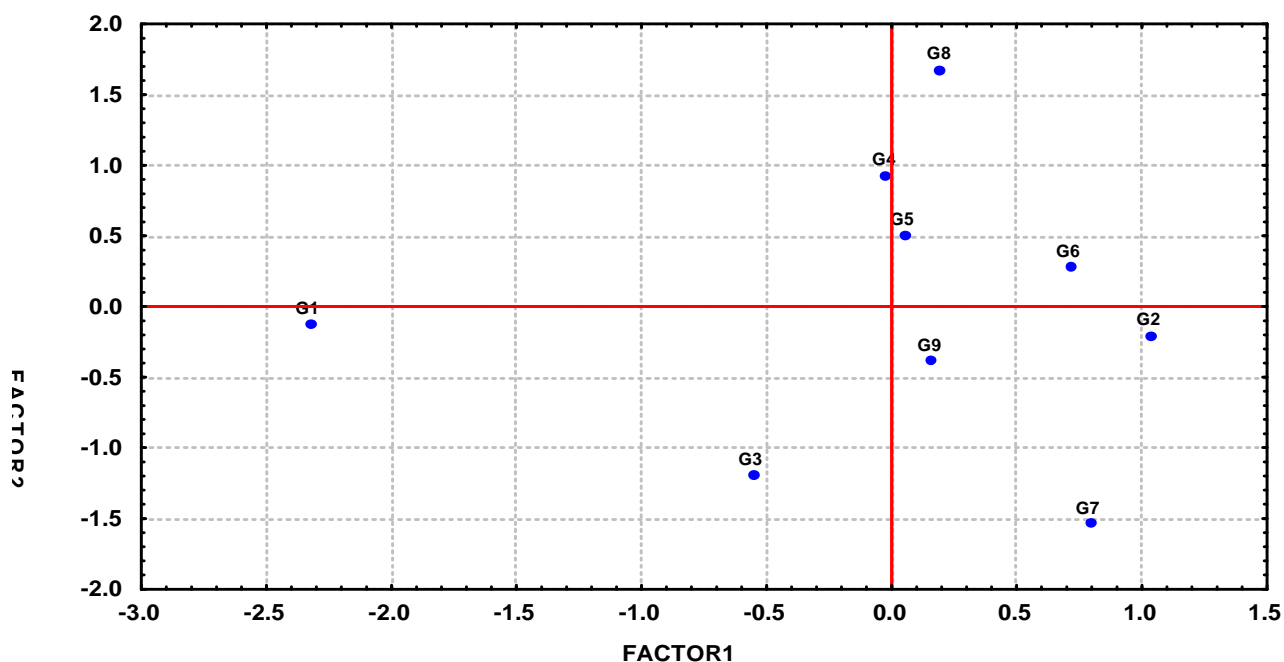


Figura 2. Relación entre genotipos estudiados con base en el primer factor (fisiológico) y en el segundo (químico-sanitario).

Cuadro 3. Coeficientes de correlación de variables con los factores, eigenvalores y varianza explicada para los nueve genotipos de maíz.

Variable	Factor 1	Factor 2	Factor 3
CGPN	0.698	0.596	0.057
CGPA	-0.748*	-0.399	-0.063
CGSM	-0.122	-0.793*	-0.004
EAPN	0.951*	0.162	-0.038
EAPA	-0.733*	0.191	0.040
EASM	-0.928*	-0.283	0.032
VLP	0.669	-0.197	0.255
VEALP	0.658	-0.238	0.328
VPS	0.704*	-0.250	0.339
VEAPS	0.540	-0.530	0.252
FUSARIUM	-0.307	-0.750*	-0.215
ALBSE	-0.463	-0.577	0.388
ALBENDO	0.148	-0.593	0.388
ALBEMB	0.285	-0.845*	-0.173
GLOSE	-0.170	-0.639	0.660
GLOENDO	0.641	-0.276	0.015
GLOEMB	0.502	-0.527	-0.494
ZEINSE	-0.125	-0.255	0.807*
ZEINENDO	0.841*	-0.429	-0.286
ZEINEMB	0.673	-0.367	-0.109
GLUTSE	-0.066	0.499	0.759*
GLUTENDO	0.122	0.119	0.715*
GLUTEMB	0.161	0.593	0.496
Varianza	32.00	22.88	15.21

Conclusiones

La presencia de *Fusarium moniliforme* en la semilla de la mayoría de los genotipos evaluados afectó radicalmente su calidad fisiológica, así mismo, la proliferación del patógeno se relacionó positivamente con las concentraciones de albúmina y globulina, proteínas de tipo funcional, las cuales son importantes en el proceso de la germinación. Los genotipos G1 y G3 mostraron los valores más altos de infección por *Fusarium moniliforme*, lo cual provocó una pérdida en la capacidad de germinación y vigor, con un incremento de semillas muertas y plántulas anormales después del envejecimiento acelerado. La mayor similitud en las características evaluadas se tuvo entre los genotipos G7 y G9 con relación al genotipo G2, que se utilizó como testigo.

Literatura Citada

AOSA (Association of Official Seed Analysts). 1992. Seedling evaluation handbook. Contribution No. 35. The Handbook of official Seed. USA. pp: 76- 80

AOSA (Association of Official Seed Analysts). 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32. The Handbook of official Seed. USA. 88 p.

Bin Mohammad K. and Esen A. 1990. Zein degradation in the endosperm of maize seeds during germination. Amer. J. Bot. 77 (8): 973-980.

Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute (Ed.). Kew, Surrey England. 237

- Boyer R. 2000. Conceptos en Bioquímica. International Thomson (Eds.), D.F. México pp: 92-97, 257-265.
- Carrillo R. J. 2003. Micotoxinas. El veneno más potente de la naturaleza. Revista on Line Tattersall. (Ed.). 181 mayo-junio.
- Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. 1988. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 3 Ed. Campinas: Fundação Cragill. 424 p.
- De Barros E. G. y Larkins B.A. 1990. Purification and characterization of zein-degrading proteases from endosperm of germinating maize seeds. *Plant Physiol.* 94: 297-303
- Dunwell JM, Khuri S, Gane PJ. 2000. Microbial relatives of the seed storage proteins of higher plants: conservation of structure and diversification of function during evolution of the cupin superfamily. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64:153-179.
- FAO. 2003. <http://faostat.fao.org/default.jsp/language=ES>.
- Forato L. A., L.A. Colnago, R.C. Garratt and M.A. Lopes. 2000. Identification of free fatty acids in maize protein bodies and purified \pm -zeins by ¹³C and ¹H nuclear magnetic resonance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/ Protein Structure and Molecular Enzymology.* 1543 (1): 106-114.
- Garay, A. E. 1989. La calidad de la semilla y sus componentes. pp: 2-11. *In: Memorias del primer curso avanzado sobre sistemas de semillas para pequeños agricultores. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia.*
- Guo, B. Z., Chen, Z.-Y., Brown, R. L., Lax, A. R., Cleveland, T. E., Russin, J. S., Mehta, A. D., Selitrennikoff, C. P., and Widstrom, N. W. 1997. Germination induces accumulation of specific proteins and antifungal activities in corn kernels. *Phytopathology* 87:1174-1178.
- Hampton, J.G. 2001. ¿Qué significa calidad de semillas? *Seed News. Septiembre/octubre, 5 (5): 1-2*
- Hashem, M.; Zohri, A. A. 2003. Morphological, phytopathological, toxicological, enzymological characteristics and molecular variation of some strains of *Fusarium graminearum* and *F. equiseti*. *African Journal of Mycology and Biotechnology* 11 (1): 1-20.
- Hojilla- Evangelista, P. Mila, Johnson and A. Lawrence. 2003. Optimizing extraction of zein and glutelin-rich fraction during sequential extraction processing of corn. *Cereal Chemistry* 80 (4): 481-484.
- Johnson, R.A. and D.W. Wichern. 1988. Applied multivariate statistical analysis. 2nd edition. Editorial Prentice Hall. New Jersey. USA. 607 p.
- ISTA (International Seed Testing Association). 1996. *International Rules for Seed Testing. Rules 1996.* *Seed Sci. Technol.* 13 (2): 299-355.
- Larsen, A. 1967. Electrophoretic differences in seed proteins among varieties of soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop. Sci.* 7: 311-313.
- Lowry, O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol Chem.* 193: 265-275.
- Manly, B.F.J. 1986. *Multivariate statistical methods: First edition* Chapman and Hall (Eds.). London. 160p.
- Monjardino P., A.G. Smith and R. J. Jones. 2005. Heat stress effects on protein accumulation of maize endosperm. *Crop Sci.* 45 (4): 1203-1211.
- Neergaard, P. 1977. *Seed Pathology, Vol. I and Vol. II.* John Wiley & Sons, New York.
- Ortiz, L. 1992. Extracción y caracterización de las prolaminas del grano de seis cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Arch. Latinoamer. Nutr.* 42 (1): 46-51.
- Parra, P. 1990. Caracterización de híbridos venezolanos de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), Prosevenca 5, Criollo 1, Chaguaramas 3 y sus parentales, mediante la aplicación de electroforesis discontinua en gel de poliacrilamida y sus estudios morfológicos. Tesis de maestría. Facultad de Agronomía, Maracay Universidad Central. de Venezuela. 89 p.
- Parra, P. y Ortiz L. 1993. Montaje de un método electroforético para la identificación de cultivares de maíz. *Rev. Fac. Agron. Maracay. Universidad Central de Venezuela.* 19 (3): 213-226.
- Perry, D. A. 1977. A vigor test for seeds of barley (*Hordeum vulgare*) based on measurement of plumule growth. *Seed Science and Technology* 5: 709-719.
- Perry, D. A. 1987. Introduction: methodology and application of vigour tests: Growth and evaluation tests: Topographical Tetrazolium test. *International Seed Testing Association (ISTA). Handbook of vigour tests methods.* 2nd edition, Zurich, Switzerland. p.72
- SAS Institute Inc. 1989. *SAS/STAT User's guide. Version 6. Fourth Edition.* SAS Institute. Cary, NC. USA.
- Sato, K., Yamagishi T. and Yamauchi F. 1986. Quantitative analysis of soybean proteins by densitometry on gel electrophoresis. *Cereal Chem.* 63 (6): 493-496.
- SNICS (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas). 1980. *Normas para la certificación de semillas.* Secretaria de Agricultura y Ganadería, Dirección General de Agricultura. México. pp: 66-67.
- Shutov A.D., H. Bäumlein, F.R. Blattner and K. Müntz.

2003. Storage and mobilization as antagonistic functional constraints on seed storage globulin evolution. *Journal of Experimental Botany* 54 (388): 1645-1654.
- Steel, G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill (Ed.), New York. USA.
- Thomson, J. R. 1979. An introduction to seed technology. Thomson Litho Ltd. (Ed.), Great Britain. pp: 1-15.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA) 1992. Seedling evaluation handbook. Contribution No. 35 The Handbook of official Seed. United Status of America. 76- 80 p.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA) 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32 The Handbook of official Seed. United Stateus of America. 88p.
- Bin Mohammad K. and Esen A. 1990. Zein degradation in the endosperm of maize seeds during germination. *Amer. J. Bot.* 77(8): 973-980.
- Booth C. 1971. The genus *Fusarium* kew surrey England. Commonwealth Micological Institute. 237 p.
- Boyer R. 2000. Conceptos en Bioquímica. International Thomson Editores, S.A. de C.V., México pp. 92-97, 257-265.
-