

COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS AGRÍCOLAS



CAMPUS MONTECILLO
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

DECREMENTO DE LA CALIDAD FISIOLÓGICA
DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN SEMILLAS DE
MAÍZ, FRIJOL Y CANOLA

EDGAR BRENES ALCÁNTARA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2007

La presente tesis titulada “**Decremento de la Calidad Fisiológica Durante el Almacenamiento en Semillas de Maíz, Frijol y Canola**” realizada por el alumno Edgar Brenes Alcántara, bajo la dirección del **Consejo Particular** indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

PRODUCCIÓN DE SEMILLAS

CONSEJO PARTICULAR

Consejero:

Dr. Leobigildo Córdova Téllez

Asesor:

M. C. Juan Celestino Molina Moreno

Asesor:

Dr. Amalio Santacruz Varela

Asesor:

Dr. Tarsicio Corona Torres

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios por haberme puesto en este camino, por cuidarme y estar a mi lado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado durante mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados en especial al Programa de Producción de Semillas por darme la oportunidad de formarme a nivel Maestría y permitirme el uso de materiales y equipos durante la presente investigación.

A los miembros de mi consejo particular, Dr. Leobigildo Córdova Téllez, M. C. Juan Celestino Molina Moreno, Dr. Tarsicio Corona Torres y Dr. Amalio Santacruz Varela por la revisión, correcciones y sugerencias hechas al presente trabajo.

Al Dr. Jesús Axayacatl Cuevas Sánchez, curador del Banco Nacional de Germoplasma Vegetal de la Universidad Autónoma Chapingo, por las facilidades prestadas para el almacenamiento de la semilla utilizada en la presente investigación.

Al Dr. Abel Muñoz Orozco por facilitarme parte del material bibliográfico que da sustento a la presente investigación.

A la Dra. Teresa Colinas León por las facilidades brindadas para el uso del Cromatógrafo del Laboratorio de Usos Múltiples del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

Al M. C. Julio Arturo Estrada Gómez por proporcionarme la semilla de frijol usada en la presente investigación.

Al Ing. José Luís López Martínez por proporcionarme la semilla de canola usada en esta investigación, su gran amistad y motivación.

A la M. C. Adriana Ramos Ortega, por su colaboración en la fase experimental de esta investigación.

Al M. C. José Marín Sánchez por su amistad, apoyo y por proporcionarme los reactivos utilizados en la prueba de viabilidad de semillas.

Al Ing. Eduardo Rodolfo Ocampo Aguilar por su apoyo y asesoría en el análisis estadístico de los resultados obtenidos en esta investigación.

Al M. C. Nelzon Ayala Guerrero por su asesoría en el uso del programa Sigma Plot.

A la M. C. Nerida Lozano Ramírez por facilitarme el agua deionizada usada en la prueba de conductividad eléctrica.

Al M. C. Adrián Hernández Livera y Sr. Juan Herrera por las facilidades y asesorías otorgadas en la conducción de las pruebas de calidad fisiológica realizadas en el Laboratorio de Análisis de Semillas del Colegio de Postgraduados.

DEDICATORIA

A mis Padres Rafael Brenes y Lombard y Rubí Alcántara de Brenes con todo cariño y respeto por su ejemplo, por mantener esa unión familiar, esfuerzo y motivación para conseguir este logro.

A mis hermanos Rafael y Ruby por su apoyo y que la unión perdure por siempre.

A mi *abue* Emma Lombard de Brenes por enseñarme el camino de la agronomía, por ser mi primera maestra, por su cariño, etc., gracias abue.

A mi abuelito Ignacio Alcántara Pérez por su cariño y ayuda, gracias abuelito.

A mis tíos Rosa María, José Luís, Silvia y Víctor,

A mis amigos Luís Miguel Orosco P., Eduardo Rodolfo Ocampo A., José Rudier López, Nelzon Ayala G., Alejandro Adrián Zavala G., Edwin Arteaga A., Juan Pérez S., Salvador Peláez J., José Luís López Martínez, Wilfrido Neri Romero, Iveth Neri Romero, José de Jesús Juárez L., Marisammy Castillo Hernández, José Marín Sánchez, Zeferino Fernández V., Teresa Rivero B., Juan Manuel Pichardo G., Adriana Ramos O., Jesús Frías P., Vidal Fernández C., Nériida Lozano R., Ma. Guadalupe Valadez B.

A María Florencia Rodríguez García, por todos los momentos compartidos.

ÍNDICE

	Pag.
ÍNDICE DE CUADROS.	ix
ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE.	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.	x
RESUMEN.	xii
SUMMARY.	xiii
I. INTRODUCCIÓN.	1
1.1 Objetivos.	2
1.2 Hipótesis.	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.	3
2.1 Factores que afectan la conservación de las semillas.	3
2.1.1 Contenido de humedad.	3
2.1.2 Temperatura.	4
2.1.3 Humedad relativa.	6
2.2 Manifestaciones del deterioro de semillas.	6
2.2.1 Germinación, emergencia y rendimiento.	7
2.2.2 Cambios genéticos.	7
2.2.3 Cambios bioquímicos y fisiológicos.	9

2.2.3.1 Alteraciones en las membranas.	10
2.2.3.2 Cambios en respiración.	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS.	13
3.1 Material genético.	13
3.2 Ambientes de almacenamiento.	13
3.3 Establecimiento del experimento y diseño experimental.	14
3.4 Variables evaluadas.	14
3.4.1 Contenido de humedad.	14
3.4.2 Prueba de viabilidad.	15
3.4.3 Prueba de germinación.	15
3.4.4 Prueba de envejecimiento acelerado.	15
3.4.5 Velocidad de germinación.	16
3.4.6 Conductividad eléctrica.	16
3.4.7 Emisión de CO ₂ y etileno.	16
3.5 Análisis estadístico.	17
IV. RESULTADOS.	18
4.1 Efecto de factores simples.	18
4.1.1 Periodos de almacenamiento.	18
4.1.2 Ambientes de almacenamiento.	19
4.1.3 Especies.	21
4.2 Efecto de interacciones simples.	22
4.2.1 Especie x ambiente de almacenamiento.	22
4.2.2 Especie x periodo de almacenamiento.	27
4.2.3 Ambiente x periodo de almacenamiento.	32

4.3 Efecto de la interacción triple.	37
4.3.1 Especie x ambiente x periodo de almacenamiento.	37
V. DISCUSIÓN.	52
VI. CONCLUSIONES.	62
VII. LITERATURA CITADA.	63
VIII. APÉNDICE.	73

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pag.
1	Condiciones de temperatura y humedad relativa de los ambientes de almacenamiento evaluados.	13
2	Promedio para las variables indicadas resultantes de la interacción de ambientes de almacenamiento x especies a través de periodos de almacenamiento.	19
3	Promedio para las variables indicadas resultado de la interacción de especies x periodos de almacenamiento a través de ambientes.	20
4	Promedio de las variables indicadas resultado de ambientes x periodos de almacenamiento a través de especies.	22

ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro		Pag.
A1	Cuadrados medios correspondientes al análisis de varianza.	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pag.
1	Contenido de humedad (A), viabilidad (B), germinación (C) y plántulas anormales (D) por especie y ambiente de almacenamiento.	24
2	Vigor de semillas. Germinación en la prueba de envejecimiento acelerado (A), velocidad de germinación (B) y conductividad eléctrica (C) de semillas por especie y ambiente de almacenamiento.	25
3	Emisiones de CO ₂ (A) y etileno (B) en semillas por especie y ambiente de almacenamiento.	26
4	Contenido de humedad (A), viabilidad (B), germinación (C) y plántulas anormales (D) por especie y periodo de almacenamiento.	29
5	Vigor de semillas. Germinación en la prueba de envejecimiento acelerado (A), velocidad de germinación (B) y conductividad eléctrica (C) en semillas por especie y periodo de almacenamiento.	30
6	Emisión de CO ₂ (A) y etileno (B) en semillas por especie y periodo de almacenamiento.	31
7	Contenido de humedad (A), viabilidad (B), germinación (C) y plántulas anormales (D) por ambiente y periodo de almacenamiento.	34
8	Vigor de semillas. Germinación en la prueba de envejecimiento acelerado (A), velocidad de germinación (B) y conductividad eléctrica (C) de semillas por ambiente y periodo de almacenamiento.	35
9	Emisión de CO ₂ (A) y etileno (B) en semillas por ambiente y periodo de almacenamiento.	36

10	Contenido de humedad de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	43
11	Viabilidad de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	44
12	Germinación de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	45
13	Plántulas anormales por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	46
14	Germinación de semillas por especie en la prueba de envejecimiento acelerado en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	47
15	Velocidad de germinación de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	48
16	Conductividad eléctrica de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	49
17	Emisión de CO ₂ en semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	50
18	Emisión de etileno en semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.	51

RESUMEN

La humedad relativa y la temperatura del almacén, así como el contenido de humedad de la semilla, provocan deterioro de la misma, pero se desconoce la tasa a la cual ocurre en especies con diferente composición química. En el presente estudio se evaluó el efecto interactivo de diferentes ambientes de almacenamiento en la calidad fisiológica en semillas de maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y canola (*Brassica campestris* L.). Se generaron ambientes de almacenamiento usando frascos de plástico de 14 x 14 x 24 cm a los que se les agregó en la base una solución saturada de sal para modificar la humedad relativa en su interior, luego se colocaron en cámaras de germinación para obtener los ambientes: 1) 18 °C y 72 % HR, 2) 22 °C y 81 % HR y 3) 30 °C, 90 % HR. Como testigo se usó el banco de germoplasma (-4 °C, 20 % HR) de la Universidad Autónoma Chapingo. La evaluación de la calidad fisiológica de las semillas se realizó antes del inicio de los tratamientos y después a los 30, 60 y 90 días de almacenamiento mediante las pruebas de germinación, viabilidad, envejecimiento acelerado, conductividad eléctrica, velocidad de germinación, respiración y emisión de etileno. Los factores evaluados, ambientes y periodos de almacenamiento y especies, así como sus interacciones ejercieron un efecto significativo en la mayoría de las variables; las variables respiración y emisión de etileno fueron las que no resultaron significativas en algunos factores y sus interacciones. En los ambientes (2 y 3) cálidos y húmedos la humedad de las semillas se incrementó conforme el tiempo de almacenamiento se hizo más prolongado, teniendo a los 90 días humedades superiores a 18 y 25 % para maíz y frijol, respectivamente, mientras que canola no rebasó 15 % casi durante todo el periodo de almacenamiento, excepto en los últimos 30 días en el ambiente 3, que se incrementó hasta alcanzar cerca de 30 %. Estos incrementos en la humedad se asociaron con reducciones en germinación conforme el tiempo de almacenamiento se prolongó, con mayores tasas a favor de frijol, seguido de maíz y canola, hasta alcanzar el 100 %; en contraste en los ambientes secos y frescos (1 y banco) la humedad se redujo ligeramente y la germinación de las tres especies se mantuvo superior al mínimo requerido por la norma oficial para la certificación de semillas, excepto maíz a los 90 días en el ambiente 1. Las reducciones en vigor (envejecimiento acelerado) siguieron la misma tendencia que la germinación pero a tasas más elevadas. La conductividad eléctrica se incrementó, con mayores tasas a medida que el tiempo se prolongó a favor de canola, seguido de maíz y

frijol. La respiración evaluada a las 24 h del proceso de imbibición-germinación se redujo ligeramente en las tres especies en los ambientes más cálidos y húmedos. Se concluye que en ambientes cálidos y húmedos (2 y 3), se incrementa la humedad de las semillas y se reduce la germinación y el vigor a tasas superiores a favor de frijol, seguido de maíz y canola. Además, se incrementa la conductividad y se reduce la respiración. En las condiciones del banco y ambiente uno, la germinación de las tres especies se mantuvo superior al mínimo requerido por la norma oficial para certificación de semillas, excepto maíz a los 90 días.

SUMMARY

The relative humidity and temperature of the warehouse, along with the seed moisture content, produce seed deterioration, but the deterioration rate in species with different chemical composition is unknown. In the present study the interactive effect of different periods and storage conditions on the physiologic quality of corn seed (*Zea mays* L.) variety Santos Altamirano, dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) variety Oti and canola (*Brassica campestris* L.) variety Hyola-401, was evaluated. The storage environments were obtained using plastic containers (14 x 14 x 24 cm) to which a saturated salt solution was added on the bottom to modified the relative humidity and then placed in a germination chamber to obtained the environments: 1) 18 °C and 72 % RH, 2) 22 °C and 81 % RH, and 3) 30 °C and 90 % RH. As a negative control the germoplasma gene bank (-4 °C, 20% RH) of the Chapingo University was used. The physiological quality was evaluated before storage and then after 30, 60, and 90 days of storage, the effect of seed deterioration was evaluated through changes in moisture content, germination and vigor (accelerated aging, speed of germination), electric conductivity, respiration, and ethylene emission. Under the warm and humid storage environments (2 and 3) the seeds moisture content increased as the storage period was longer, reaching after 90 days, moisture contents above 18 and 25 % for corn and dry bean seeds, but canola did not achieve 15 % almost during the whole storage period, except during the last 30 days under the environment 3, where it increased up to 30 %. These changes were associated with reductions in germination (with higher rates for dry beans than corn and canola) until a 100 % was reached; in contrast, under the dry and cold (1 and gene bank) storage environments, the moisture content was slightly decreased and the germination of the three species was kept above the minimum required for seed certification, except for corn after 90 days under the storage environment 1. The seed vigor (accelerated aging) loss followed a similar trend than the observed for germination, but at highest rates. The electrical conductivity increased, with higher rates as the storage period was longer for canola than dry beans and corn. The respiration rate evaluated after 24 h of the imbibition-germination process decreases slightly for the three species under the warm and humid conditions. It is concluded that under war and humid storage conditions (2 and 3), the moisture content increases and the germination and vigor decrease but at higher rates for dry beans than canola and corn seed. In addition, the conductivity increases and the respiration decrease. Under the gene bank and environment 1, the germination of the three species was kept above the minimum

required for seed certification, except for corn after 90 days under the environment
1.

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos de la industria semillera es ofrecer al productor la máxima calidad genética, física, fisiológica y sanitaria posible (Mora, 1991; Márquez, 1990). Los tres últimos atributos están influenciados por el ambiente de producción y las condiciones ambientales prevalecientes al momento de la cosecha y de almacenamiento. Después de la madurez fisiológica, etapa en que se logra la máxima acumulación de materia seca y que en general coincide con el mayor vigor y viabilidad, es decir, la máxima calidad fisiológica de la semilla (Harrington, 1972; Copeland y McDonald, 1995; Probert y Hay, 2000), se inicia el proceso de deterioro (Vieira *et al.*, 1994). Este se define como una serie de eventos degenerativos e irreversibles, que ocasionan reducciones en la germinación y vigor (Anderson, 1973) y que culmina con la muerte de la semilla (Córdoba, 1991).

La velocidad con que ocurre el deterioro, después de la cosecha, dependerá en gran medida de la temperatura y humedad relativa del almacén (Hor, 1977; Hall, 1980; Roberts, 1981), así como de las actividades previas como el ambiente de producción, grado de madurez al momento de la cosecha y manejo durante y después de la cosecha. La longevidad en el almacén está determinada por el genotipo, la edad de la semilla, las condiciones ambientales y el nivel de deterioro al momento de entrar al almacén (Delouche y Baskin, 1973).

Durante el deterioro ocurre pérdida de integridad de las membranas celulares y defectos en los procesos respiratorios de síntesis de energía y biosíntesis (Delouche y Baskin, 1973). Dichos cambios se ven reflejados por una reducción en la capacidad germinativa, viabilidad y vigor. Copeland y McDonald (1995) mencionan que el deterioro de la semilla está asociado con mutaciones que afectan las funciones celulares de los tejidos. Abdul-Baki y Anderson (1972) observaron anomalías cromosómicas, expresadas como fragmentos de anillos

en ápices de raíces de cebada, frijol y chícharo durante la anafase de la primera mitosis, lo cual fue resultado del rompimiento de cromosomas, más que de cromátidas. Estas aberraciones son más comunes en las células meristemáticas de la raíz que en las de la parte aérea (Abdul-Baki y Anderson, 1972; Bakheit *et al.*, 1985). Por otro lado, Rao *et al.* (1988) reportaron que el índice de acumulación de células con aberraciones cromosómicas en semillas de lechuga tiene una relación positiva con el contenido de humedad y la temperatura del almacén. Bakheit *et al.* (1985) encontraron un incremento en la tasa de mutaciones cromosómicas en semillas deterioradas al aumentar la humedad y el periodo de almacenamiento.

La humedad de la semilla y la temperatura provocan deterioro de la misma, pero se desconoce la tasa a la cual ocurre en especies con diferente composición química. En el presente estudio se evaluó el efecto interactivo de diferentes ambientes de almacenamiento en la calidad fisiológica en semillas de maíz, frijol y canola.

1.1 Objetivo

Evaluar diferentes condiciones de almacenamiento sobre la calidad fisiológica de semillas de maíz, frijol y canola.

1.2 Hipótesis

Ambientes de almacenamiento de alta humedad relativa y temperatura causarán una mayor reducción en la capacidad germinativa, viabilidad y vigor, pero de manera diferencial en las especies.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Factores que afectan la conservación de las semillas

Las semillas como todo ser vivo, se encuentran expuestas a procesos naturales de envejecimiento que las conducen a un deterioro y finalmente a la muerte. Aún bajo condiciones de almacenamiento en donde las semillas se encuentran libres del ataque de otros organismos, la viabilidad declina gradualmente y al final las semillas mueren. El periodo de viabilidad puede ser de unos cuantos días bajo condiciones adversas de almacenamiento hasta cientos de años bajo condiciones controladas (Duffus y Slaughter, 1992). Harrington (1972) señala que los factores que más afectan la longevidad de las semillas en almacén son la temperatura y el contenido de humedad; López (1994) señala además, la humedad relativa, presión de oxígeno, composición química y duración del periodo de almacenamiento. En este sentido, Rathi *et al.* (2000) indican que una atmósfera con concentraciones elevadas de CO₂ no implica una marcada reducción en la germinación y viabilidad de semillas de soya y sorgo, en comparación con las reducciones de estos atributos que ocasionan temperaturas altas de almacenamiento y un alto contenido de humedad.

Thomson (1985) señala que el deterioro está asociado con la ocurrencia de algunos cambios en la semilla como la disminución en la tasa de respiración, pérdida de la actividad enzimática, cambios en la permeabilidad de las células y aberraciones cromosómicas, que se traducen en la pérdida del vigor y la germinación y finalmente la muerte del embrión.

2.1.1 Contenido de Humedad

El contenido de humedad de la semilla es uno de los parámetros más importantes en la determinación de los límites de envejecimiento de la misma

(Vertucci y Roos, 1993). Maguire (1977) menciona que aunque la humedad y la temperatura están fuertemente interrelacionados y es difícil analizarlos por separado, el alto contenido de humedad es más crítico que la temperatura. Bass (1980) encontró que lotes de semilla en almacenamiento sellado, retienen su viabilidad hasta por cinco años a temperatura de 21 °C, siempre que su contenido de humedad no rebase el 4 ó 5 %. Aguirre y Peske (1991) encontraron que las semillas de frijol con porcentajes de germinación altos, mejoraron su potencial de almacenamiento de 1.6 a 1.7 veces por cada reducción en 1 % de su contenido de humedad, dentro del rango de 10.5 a 14.0 %.

En términos generales, con humedades superiores a 30 % la semilla puede germinar, entre 18 y 30 % el deterioro es más pronunciado, entre 8 y 5 % la actividad de los insectos es reducida y por abajo de 5 % la semilla es inmune al ataque de hongos de almacén, aunque el deterioro puede presentarse por procesos oxidativos (Bewley y Black, 1994; Perdomo y Burris, 1998). Woodward y Blankenship (1974) encontraron que el contenido óptimo de humedad para almacenar el cacahuate, generalmente, es entre 7 y 8 %, ya que a niveles superiores la semilla es más susceptible a enmohecimiento, acelerándose su deterioro y cuando es inferior a 6.5 %, la semilla tiende a resquebrajarse. Hor (1977) menciona que el cacahuate con humedad superior al 9 % pierde drásticamente su viabilidad después de cinco meses de almacenamiento. Holman y Snitzler (1961) encontraron que la semilla de soya almacenada a granel con humedad de 12 % mantuvo la viabilidad por 175 días, y con 8 a 9 % por más de 650 días, pero con 15 % no duró más de 50 días.

2.1.2 Temperatura

La temperatura de almacenamiento es el segundo factor más importante en la conservación de la longevidad de las semillas. Murariu *et al.* (1990) encontraron que la germinación en maíz disminuyó con el incremento de la temperatura de almacén, así como la actividad de la enzima catalasa y en menor grado el de la

peroxidasa, las que intervienen en la regulación del ácido indolacético (AIA), que es el promotor del alargamiento celular. Bass (1980) indica que conforme aumenta la temperatura, la viabilidad de las semillas disminuye. Lindblad y Druben (1979) proporcionan una lista de los efectos que tiene la temperatura en condiciones de almacenamiento, entre los que destacan que: 1) la temperatura baja es mejor que la alta debido a un decremento en la población de insectos; 2) la respiración de la semilla es menor a bajas temperaturas y por tanto el calor que se genera; 3) al aumentar la temperatura, los hongos, e insectos crecen más rápido y la semilla tiende a incrementar su respiración. Con contenidos altos de humedad este proceso se acelera y las áreas de calentamiento se pueden transformar en áreas de gran actividad de hongos e insectos.

Dada la importancia del contenido de humedad de la semilla y la temperatura del almacén en la longevidad de esta, Harrington (1972) estableció dos reglas que contemplan ambos factores y menciona que por cada incremento en la humedad de la semilla en 1 % (en un intervalo de 5 a 14 %) o por cada incremento en 5 °C (0 a 50 °C) la longevidad se reduce en 50 %. Bass y Stanwood (1978) encontraron que la disminución de la germinación en semillas de sorgo, estuvo directamente relacionada con el contenido de humedad y la temperatura del almacén, siendo los contenidos de humedad inferiores a 4.8 % y temperaturas entre -1 y -12 °C las condiciones más efectivas para mantener la germinación.

White y Jayas (1991) mencionan que los cereales y las semillas oleaginosas se deterioran como consecuencia del alto contenido de humedad de la semilla, humedad relativa y temperatura de almacenamiento, factores que traen como consecuencia alteraciones químicas de la semilla.

2.1.3 Humedad relativa

El contenido de humedad de la semilla mantiene un equilibrio higroscópico con la humedad relativa del aire del almacén (Humphreys y Riveros, 1986; Moreira y Nakagawa, 1988). Harrington (1972) afirma que la composición química de las semillas influye en la humedad de equilibrio bajo la misma humedad relativa. Las proteínas son más higroscópicas que la celulosa y almidón y los lípidos son hidrofóbicos. Así, a la misma humedad relativa, una semilla con alto contenido de proteína o almidón tiene una humedad superior a una semilla rica en aceite. El mismo autor señala que el contenido de humedad óptimo para el almacenamiento de semillas es inferior a 14 % para cereales y 11 % para oleaginosas. El contenido de humedad de la semilla se incrementa al incrementarse la humedad relativa y en consecuencia la longevidad de la semilla disminuye (Singh, 1987). Moreno *et al.* (1994) almacenaron 15 variedades de frijol en recipientes herméticos con humedades relativas de 75 y 85 % y encontraron que a 75 % la germinación disminuyó a 72 % a los 180 días, mientras que a 85 % la germinación fue cercana a cero a los 90 días. Duffus y Slaughter (1992) señalan que en general, mientras más bajos sean los niveles de temperatura y humedad relativa, las semillas permanecerán viables por más tiempo.

2.2 Manifestaciones del deterioro de semillas

En las semillas, durante el almacenamiento, los organelos exhiben algunos cambios para adaptarse al ambiente interno de las células. Algunos cambios bioquímicos y ultraestructurales que ocurren durante el periodo de reposo de la semilla están asociados con el deterioro. Algunos de los daños son reversibles si las semillas son hidratadas, pero daños severos son irreversibles y conducen a la reducción del vigor y a la producción de plántulas anormales (Abdul-Baki y Baker, 1973).

2.2.1 Germinación, emergencia y rendimiento

El patrón básico de la germinación está determinado genéticamente; sin embargo, la expresión eventual está influenciada por la interacción con las condiciones ambientales de producción, cosecha, procesamiento, almacenamiento y siembra (Ching, 1973). Conforme las semillas envejecen, mantienen su germinación por un tiempo, pero luego disminuye rápidamente (Abdul-Baki y Anderson, 1972). Harrington (1972) menciona que la pérdida de vigor se manifiesta por la reducción en la germinación y emergencia de las plántulas. La aparición de plántulas anormales se debe a la pérdida de funciones vitales que ocurren en el interior de las semillas (Mackay, 1972), cuyo aumento cualitativo y cuantitativo puede llegar a ser tan severo que algunas son incapaces de sobrevivir, aún bajo condiciones ideales (Harrington, 1973); aún las que sobreviven pueden presentar una reducción considerable en el rendimiento. Sullivan y Perry (1976) encontraron que el 95 % de plántulas de cacahuete que presentaron un sistema radicular anormal (ausencia de raíces primarias) manifestaron una reducción del 50 % en su rendimiento comparado con el de plántulas normales. En maíz, Gill (1969) reporta que las plantas de semillas deterioradas mostraron una reducción de 14 a 18 % en el rendimiento.

2.2.2 Cambios genéticos

Existe evidencia de que hay una estrecha correlación entre la pérdida de viabilidad de la semilla durante el almacenamiento y la acumulación de aberraciones cromosómicas (Roberts, 1978). Desde la década de los 30's se demostró que las aberraciones cromosómicas y la mutación de genes o los eventos que dan origen a éstas, son inducidos durante el almacenamiento (Rao *et al.*, 1987). Posteriormente llegó a ser evidente que el daño cromosómico está en función no sólo del tiempo sino también de la temperatura y el contenido de humedad (Copeland y McDonald, 1995). Dentro de un cierto rango de temperaturas (25 - 45 °C) y un contenido de humedad entre 12 y 18 %, el aumento

del daño cromosómico se relaciona con el porcentaje de viabilidad del lote de semilla (Dourado y Roberts, 1984).

Harrison (1966) y Villiers (1975) reportaron que el porcentaje de semillas de lechuga que presentaron células con cromosomas aberrantes correlacionó con el porcentaje de semillas viables. El último autor señala que la pérdida de daño cromosómico con altos contenidos de humedad puede ser resultado de los procesos de reparación que no son posibles en semillas secas. En este sentido, la hipótesis de que el aumento en daño cromosómico puede ser considerado solamente como una función del porcentaje de viabilidad, independientemente del contenido de humedad fue puesta en duda. Esta hipótesis fue confirmada por Sirikwanchai (1985) y Roberts (1987) quienes almacenaron semillas de cebolla y lechuga, respectivamente, a contenidos de humedad entre 12.2 y 17.4 % y no encontraron una relación entre el porcentaje de viabilidad y la frecuencia de aberraciones cromosómicas; asimismo, encontraron que a 36 % de humedad la proporción de anafases aberrantes fue significativamente baja.

Copeland y McDonald (1995) demostraron que el deterioro de la semilla está asociado con mutaciones que afectan las funciones celulares de tejidos vitales. Abdul-Baki y Anderson (1972) señalan que estas mutaciones pueden ser consideradas como una respuesta específica a las condiciones fisiológicas o metabólicas en una célula u organismo. De acuerdo con esta teoría, los agentes mutagénicos se forman dentro de una célula y bajo condiciones específicas, son capaces de inducir mutaciones que pueden matar a la célula, ocasionando un crecimiento lento o anormal de las plántulas (Harrington, 1973). Abdul-Baki y Anderson (1972) reportan que existe una alta correlación negativa entre el número de mutaciones cromosómicas que ocurren en el ápice de la raíz durante la anafase y el porcentaje de germinación. En cebada, frijol y chícharo, estas mutaciones cromosómicas incluyen puentes, fragmentos y anillos, como resultado del rompimiento de cromosomas más que de cromátidas. Estas anomalías son menos frecuentes conforme la plántula se desarrolla.

Bakheit *et al.* (1985) encontraron en trigo un aumento en la tasa de mutaciones cromosómicas en semillas deterioradas al aumentar la humedad y el periodo de almacenamiento. Estas mutaciones fueron más comunes en células meristemáticas de raíces de plántulas y menos frecuentes en células meristemáticas de los brotes y en células del polen; lo cual sugiere que estas mutaciones son reparadas durante la germinación y si llegan a persistir hasta la floración, son eliminadas mediante el aborto del polen, como se reporta en estramonio y cebada (Abdul-Baki y Anderson, 1972).

Es importante señalar que el principal problema de los cambios genéticos, ocurre durante el almacenamiento a largo plazo (30 años o más), en donde muchas semillas mueren, provocando que las pocas que sobreviven no tengan la misma composición genética promedio que el lote original al inicio del almacenamiento, dando origen a la deriva genética, indicando con esto que después de muchos años de almacenamiento se obtiene una población genéticamente diferente a la original (Harrington, 1972).

2.2.3 Cambios bioquímicos y fisiológicos

Las reservas almacenadas pueden ser alteradas químicamente por condiciones de almacenamiento desfavorables, dando lugar a la hidrólisis de los carbohidratos, lípidos y proteínas (Copeland y Nelson, 1986). Barton (1961) observó que durante el almacenamiento estas se descomponen parcialmente y que su solubilidad y digestibilidad disminuyen. Los niveles de proteína total en semillas envejecidas muestran un decremento claro conforme se incrementa el tiempo de almacenamiento (Roberts, 1979); que puede deberse al incremento de la actividad de enzimas proteolíticas, lo que conduce a la disgregación de aminoácidos de las proteínas (Chauhan *et al.*, 1984). En ese sentido, también se ha considerado que la pérdida de viabilidad en las semillas, está acompañada por una disminución progresiva en la capacidad de síntesis de proteínas y ARN

durante la imbibición en todas las células del embrión (Cheah y Osborne, 1978), lo cual hace incapaz a la célula de realizar funciones vitales (Cherry, 1984)

El almacenamiento de las semillas bajo condiciones adversas acelera el deterioro, el cual se hace evidente mediante una variedad de síntomas asociados con la pérdida de vigor durante la germinación de las mismas (Abdul-Baki y Baker, 1973; Bewley y Black, 1994). Algunos de estos síntomas están asociados con la disminución de la tolerancia a ambientes adversos durante el almacenamiento y reducción de la germinación, aumento de la sensibilidad a los tratamientos de radiación, cambios de color de la cubierta de la semilla (Abdul-Baki y Anderson, 1972) y oscurecimiento del embrión; todo ello relacionado con la pérdida de germinación y vigor (Harrington, 1973). En forma adicional, Abdul-Baki y Anderson (1972) reportan cambios en la respiración, actividad enzimática, conductividad eléctrica y en las reservas alimenticias.

2.2.3.1 Alteraciones en las membranas

Una de las implicaciones del deterioro de las semillas es la alteración o pérdida de la integridad de las membranas celulares (McDonald y Nelson, 1986; Basavarajappa *et al.* 1991). Esta idea ha sido apoyada por estudios que han mostrado que la cantidad de solutos liberados por las semillas es inversamente proporcional a la viabilidad de estas, asociado a la pérdida de integridad del plasma y el tonoplasto de las células (Bewley, 1986). Gopa y Mukherjee (1986) mencionan que la permeabilidad de la membrana, entendida como la abertura para el paso de electrolitos de ésta, es mayor en semillas envejecidas. Así, conforme progresa el deterioro, las membranas celulares pierden permeabilidad selectiva, lo que permite que los metabolitos citoplásmicos salgan a los espacios intercelulares.

La degradación de las membranas celulares ocurre por la producción de radicales libres, resultado de la peroxidación de fosfolípidos de éstas; esto puede

ser considerado como un resultado del envejecimiento más que una causa (Priestley, 1986). Basavarajappa *et al.* (1991) señalan que la pérdida de integridad de membranas es probablemente el primer cambio deteriorativo durante el envejecimiento de semillas de maíz. Ellos se basan en el hecho de que la reducción del nivel de fosfolípidos, la reducción en la actividad de la peroxidasa y el ascorbato, incrementa el nivel de ácidos grasos libres y malonaldehído, además de la formación de lípidos conjugados; la reducción en el contenido de sustancias de reserva como carbohidratos, proteínas y fosfolípidos puede ser atribuidas a la pérdida de integridad de membranas. El mecanismo que puede estar involucrado en el deterioro de la semilla es la reacción de los radicales libres, producidos como resultado de la peroxidación de lípidos, con los lípidos de las membranas, lo cual destruye la estructura celular.

2.2.3.2 Cambios en respiración

El comportamiento del proceso respiratorio depende fundamentalmente de factores como tipo de semilla, contenido de humedad, temperatura, ventilación y en general, del manejo previo al almacenamiento (Ching, 1961). En relación con la temperatura, la respiración puede considerarse nula a 0 °C y poco apreciable a 10 °C, sin embargo, se incrementa rápidamente entre 15 y 20 °C (Fenaroli, 1969). La combinación de alta temperatura y alta humedad provocan un mayor aumento en la respiración, lo cual contribuye a una rápida pérdida de la viabilidad, como se observó en soya y cacahuete (Hor, 1977). En trébol anual y en ballico perenne, la respiración aumentó conforme se incrementó la temperatura (Ching, 1961).

La respiración es una expresión conjunta de la actividad de un grupo de enzimas que reaccionan para degradar las reservas alimenticias (Copeland y McDonald, 1995), por lo que se considera un proceso de naturaleza catabólica, en donde la semilla absorbe oxígeno del ambiente y produce bióxido de carbono, derivado del rompimiento de carbohidratos (Fenaroli, 1969). Priestley (1986) menciona que los cambios en la respiración durante el almacenamiento,

ocasionan reducciones en el peso seco, debido a la reducción de las reservas nutritivas, afectando en forma negativa el comportamiento de la semilla durante la germinación, establecimiento en campo y rendimiento

La respiración es de vital importancia durante la germinación. Es de esperarse que si la respiración de la semilla fue alta durante el almacenamiento, durante la germinación no alcance niveles similares a aquellas que experimentaron baja respiración, por lo que la producción de ATP será insuficiente para abastecer los procesos metabólicos (Priestley, 1986). Maguire (1977) menciona que con la pérdida de germinación y vigor, hay una reducción de las actividades metabólicas y de la respiración. Parrish y Leopold (1978) sometieron semillas de soya a envejecimiento acelerado y encontraron una disminución del vigor, así como una reducción en la actividad respiratoria.

Abdul-Baki y Anderson (1972) reportaron una reducida tasa de consumo de oxígeno en semillas con un deterioro avanzado. La reducción de la tasa de respiración se asocia con un rompimiento de la estructura de la membrana, particularmente en la mitocondria (Copeland y McDonald, 1995). Lo anterior coincide con lo reportado por Bewley y Black (1994), quienes trabajaron con embriones no viables de centeno, arroz y maíz, y encontraron que la mitocondria estaba agrandada y su estructura membranal interna distorsionada, mientras que en embriones viables la organización mitocondrial estaba bien estructurada. Los mismos autores indican que conforme avanza la germinación, en los embriones no viables, estos organelos se encuentran desorganizados después de la imbibición y posteriormente se rompen o se destruyen.

Ferguson *et al.* (1990) observaron que las mitocondrias de los ejes embrionarios redujeron su tasa de respiración desde las etapas tempranas del deterioro, incluso antes de que fuera evidente la declinación en vigor y germinación

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material genético

Se utilizaron semillas de maíz (*Zea mays* L.) variedad Santos Altamirano con 7 ciclos de selección masal; frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) variedad OTI y canola (*Brassica campestris*) variedad Hyola-401 F1, cultivadas en el año 2004. Las semillas se cosecharon un poco después de la madurez fisiológica y se secaron al sol exponiéndolas durante el día en bolsas de papel hasta que entraron en equilibrio higroscópico con el ambiente.

3.2 Ambientes de almacenamiento

Se generaron artificialmente tres ambientes de almacenamiento (Cuadro 1), con base en la metodología utilizada por Palma (1996) y Herrera (1998); para lo cual, se usaron frascos de plástico de 14 x 14 x 24 cm a los que se les agregó en la base una solución saturada de sal común o sal granulada para modificar la humedad relativa en su interior. A 4 cm de la base se colocó una malla de alambre soportada por una base de madera, que sirvió de soporte a las semillas. Los frascos se colocaron en cámaras de germinación para obtener las temperaturas a evaluar. Como testigo se usó el banco de germoplasma de la Universidad Autónoma Chapingo.

Cuadro 1. Condiciones de temperatura y humedad relativa de los ambientes de almacenamiento evaluados.

Ambiente	Sustrato para la Humedad Relativa	Humedad Relativa (%)	Temperatura (°C)
1	Sal común (500 g frasco ⁻¹)	72	18
2	Sal granulada (125 g L ⁻¹)	81	22
3	Sal común (175 g L ⁻¹)	90	30
4	Banco de germoplasma	20	-4

3.3 Establecimiento del experimento y diseño experimental

En bolsas de tela porosa (tergalina) se colocaron muestras de 25 semillas, las que se depositaron sobre la malla de alambre en el interior de los frascos, que se sellaron herméticamente y se colocaron en las cámaras de germinación a la temperatura correspondiente (Cuadro 1). La evaluación de la calidad fisiológica de las semillas se realizó antes del inicio de los tratamientos y después a los 30, 60 y 90 días de almacenamiento mediante las pruebas que se describen en el apartado siguiente. El diseño experimental fue de Bloques Completos al Azar con arreglo factorial de tratamientos, con cuatro repeticiones. Los tratamientos utilizados fueron el resultado de la combinación de los niveles de ambientes de almacenamiento, fechas de evaluación y especies.

3.4 Variables evaluadas

Antes de iniciar los tratamientos y después de cada periodo de almacenamiento se midió el contenido de humedad, la calidad fisiológica mediante las pruebas de germinación, viabilidad, envejecimiento acelerado, conductividad eléctrica, velocidad de germinación, emisiones de CO₂ y etileno, las que se describen con mayor detalle a continuación.

3.4.1 Contenido de humedad

Se determinó por el método de la estufa, a 130 °C por 4 h para maíz y canola; y 2 h para frijol (ISTA, 2004), en tres repeticiones de diez semillas por tratamiento. Las semillas fueron pesadas antes y después de iniciado el secado y se obtuvo el contenido de humedad en base húmeda.

3.4.2 Prueba de viabilidad

Se realizó en cuatro repeticiones de 100 semillas por tratamiento utilizando una solución de cloruro de tetrazolio al 1.0 %. Las semillas fueron acondicionadas mediante imbibición por 12 h; posteriormente, se cortaron longitudinalmente para exponer los tejidos embrionarios a la solución con tetrazolio, en cajas petri. Estas se dejaron reposar por 24 h en oscuridad, al cabo de las cuales se evaluó la tinción de las semillas de acuerdo con la ISTA (2004).

3.4.3 Prueba de germinación

Se emplearon las recomendaciones de la ISTA (2004), con excepción de que se utilizaron cuatro repeticiones de 25 semillas por tratamiento, utilizando el método “entre papel” para semillas de maíz y frijol y “sobre papel” para las semillas de canola. Se utilizó una germinadora (Seedburo Equipment Company modelo 312738-3700) calibrada a 25 °C. Se evaluó el porcentaje de plántulas normales, anormales y semillas muertas de acuerdo con la ISTA (2004), realizando dos conteos, el primero al 4° día para maíz y al 5° para canola y frijol, y el segundo al 7° día para maíz y canola y al 9° para frijol.

3.4.4 Prueba de envejecimiento acelerado

Se utilizó la metodología propuesta por Delouche (1996), la cual consiste en mantener las semillas a una temperatura de 45 ± 1 °C y 100 % de humedad relativa por 72 h para las semillas de maíz y 48 h para semillas de frijol y canola, en una cámara de ambiente controlado. Se utilizaron cajas sandwicheras de 10 x 10 x 3.5 cm, a las que se les agregaron 40 mL de agua destilada y por arriba del nivel de ésta se colocó una malla de alambre para evitar el contacto directo con el agua. En cada caja se depositaron 100 semillas por tratamiento formando una sola capa. Después del período de envejecimiento, la semilla se evaluó con una prueba de germinación estándar (ISTA, 2004), excepto que se establecieron cuatro

repeticiones de 25 semillas por tratamiento y se realizó un sólo conteo al 7º día para maíz y canola y al 9º para frijol. Los resultados se reportan en porcentaje de plántulas normales.

3.4.5 Velocidad de germinación

Se utilizó el método “entre papel” de la prueba de germinación (ISTA, 2004), la duración de esta prueba fue la misma que la descrita en la prueba de germinación estándar, se contabilizó diariamente el número de semillas germinadas en términos de protrusión de radícula y los resultados se expresan como índice, el cual se obtuvo sumando el número de semillas con radícula emergida en cada conteo divididas entre el número de días después del inicio de la prueba (Maguire, 1962).

3.4.6 Conductividad eléctrica

Se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Pandey (1992); 50 semillas por tratamiento y repetición fueron pesadas para después colocarse en un vaso de vidrio con 75 mL de agua deionizada. Éste se cubrió con papel aluminio para evitar contaminación con polvo y se dejó reposar por 24 h a 20 °C; en seguida se efectuó la lectura de la conductividad eléctrica con un medidor Oakton WD-35607, la que se reporta en micro-Siemens por centímetro por gramo ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$).

3.4.7 Emisión de CO₂ y etileno

Se pusieron a imbibir semillas de las tres especies como en una prueba de germinación estándar; a las 24 h se tomaron cinco semillas de maíz y de frijol, las cuales fueron pesadas, para el caso de canola se pesó un gramo, éstas se colocaron en tubos tipo Vacutainer de 7 mL y se dejaron respirar por 3 h. Enseguida se extrajo el contenido gaseoso con una jeringa y fue inyectado en

tubos nuevos para posteriormente determinar el CO₂ y etileno, utilizando un cromatógrafo de gases (Varian Star 3400CX, USA), en el que se inyectó 1 mL del contenido gaseoso de cada tubo. Los resultados se expresan en mL kg⁻¹ h⁻¹.

3.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza considerando como efectos principales fechas de evaluación, ambientes de almacenamiento y especies; y generando las interacciones especie x ambiente; especie x periodo de almacenamiento; ambiente x periodo de almacenamiento y especie x ambiente x periodo de almacenamiento. Para las comparaciones de medias se utilizó la Diferencia Mínima Significativa Honesta generada mediante la prueba de medias de Tukey (5 %). Para esto se utilizó el paquete Statistical Analysis System (SAS) ver. 8.0 (SAS Institute, 1999).

IV. RESULTADOS

4.1 Efecto de factores simples

4.1.1 Periodos de almacenamiento

Se detectaron efectos altamente significativos para periodos de almacenamiento en todas las variables evaluadas, con excepción de las emisiones de CO₂ y etileno (Cuadro A1).

El contenido de humedad de la semilla se incrementó de manera estadísticamente significativa en 2.6 % y 4.42 % a los 60 y 90 días, respectivamente, con relación a lo obtenido previo al almacenamiento (Cuadro 2). La viabilidad, por otro lado, se vio afectada desde los primeros 30 días de almacenamiento, manifestándose una reducción promedio de 14 puntos porcentuales por cada treinta días transcurridos, alcanzando un decremento acumulado de 43 % a los 90 días. En el mismo sentido, la germinación se redujo 12, 20 y 40 % a los 30, 60 y 90 días, respectivamente; lo que se asocia, principalmente, al incremento en el porcentaje de semillas muertas (datos no mostrados), ya que el porcentaje de plántulas anormales sólo alcanzó 5 % después de los 90 días de almacenamiento.

En cuanto al vigor evaluado por medio de la prueba de envejecimiento acelerado, era de esperarse porcentajes más bajos de plántulas normales dada la naturaleza de la prueba. Así, a los 30 días se observó una reducción de 24 %, seguida de 40 y 50 % a los 60 y 90 días, respectivamente. Esto comparado con el porcentaje obtenido antes del inicio de los tratamientos (81 %). La velocidad de germinación se redujo en casi 5 semillas germinadas día⁻¹ a los 30 y 60 días de almacenamiento y en 9 a los 90 días. La conductividad eléctrica no mostró cambios significativos durante los primeros 30 días; sin embargo, a los 90 días se

incrementó de manera abrupta, alcanzando $183.7 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. No se encontraron diferencias significativas en la emisión de CO_2 y etileno; aunque la tendencia numérica en ambos fue a disminuir conforme el periodo de almacenamiento se prolongó (Cuadro 2).

Cuadro 2. Promedio para las variables indicadas resultantes de la interacción de ambientes de almacenamiento x especies a través de periodos de almacenamiento.

Periodo de Almacenamiento (días)	Contenido humedad (%)	Viabilidad (%)	Germinación		Envejec. (%)
			Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	
0	11.7 c	100 a	98 a	1 d	81 a
30	11.4 c	84 b	86 b	2 c	57 b
60	14.4 b	71 c	77 c	3 b	41 c
90	16.2 a	57 d	58 d	5 a	31 d
DMSH (0.05)	0.9	2.9	2.4	0.9	2.0

Periodo de Almacenamiento (días)	Velocidad germ. (Semillas germinadas día ⁻¹)	Conductividad eléctrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	CO_2 (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)	Etileno (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)
0	41 a	96.0 c	34.6 a	3.8 a
30	36 b	70.5 c	31.3 a	3.2 a
60	35 b	133.6 b	33.8 a	3.2 a
90	32 c	183.7 a	29.2 a	3.4 a
DMSH (0.05)	1.9	29.7	9.5	1.0

Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales al 0.05 de probabilidad.

4.1.2 Ambientes de almacenamiento

Los ambientes ejercieron efectos altamente significativos para todas las variables evaluadas (Cuadro A1).

El ambiente de almacenamiento afectó negativamente a la mayoría de las variables evaluadas a medida que aumentó la temperatura y humedad relativa (Cuadro 3). En el ambiente uno, las semillas alcanzaron un equilibrio higroscópico

de 10.2 % en contenido de humedad, pero éste se incrementó en 4.0 y 8.7 puntos porcentuales en las condiciones de los ambientes 2 y 3. En estos dos ambientes, también se redujo la viabilidad en 29 y 56 % y la germinación en 16 y 43 %, respectivamente, comparado con lo obtenido en el banco de germoplasma. Estas reducciones en germinación corresponden en mayor grado a incrementos en el porcentaje de semillas muertas más que a plántulas anormales, pues éstas apenas alcanzaron 4 %.

Cuadro 3. Promedio para las variables indicadas resultado de la interacción de especies x periodos de almacenamiento a través de ambientes.

Ambiente de almacenamiento	Contenido humedad (%)	Viabilidad (%)	Germinación		Envejec. (%)
			Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	
Banco	10.9 c	100 a	95 a	2 b	72 a
1	10.2 c	97 a	94 a	3 b	70 a
2	14.3 b	71 b	79 b	4 a	40 b
3	18.3 a	44 c	52 c	2 b	28 c
DMSH (0.05)	0.9	2.9	2.5	0.9	2.1

Ambiente de almacenamiento	Velocidad germ. (Semillas germinadas día ⁻¹)	Conductividad eléctrica (μS cm ⁻¹ g ⁻¹)	CO ₂ (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)	Etileno (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)
Banco	51.0 a	96.7 b	35.4 a	5.1 a
1	43.2 b	81.1 b	35.2 a	2.4 b
2	31.3 c	185.0 a	31.9 a	2.7 b
3	18.4 d		26.2 a	3.3 b
DMSH (0.05)	1.9	23.4	9.5	1.0

Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales al 0.05 de probabilidad. Ambientes: Banco= -4 °C, 20 % HR; 1= 18 °C, 72 % HR; 2= 22 °C, 81 % HR; 3= 30 °C, 90 % HR.

El vigor fue afectado más drásticamente en los ambientes 2 y 3, teniendo una reducción de la germinación en la prueba de envejecimiento de 32 y 44 %, respectivamente. La velocidad de germinación disminuyó 8, 20 y 33 semillas germinadas día⁻¹, respecto al banco de germoplasma, para los ambientes 1, 2 y 3. La conductividad eléctrica, no obstante, sólo presentó diferencias estadísticas para el ambiente más drástico en cuanto a temperatura y humedad relativa (ambiente

2), con $185.0 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ comparado con los ambientes banco y 1, que fue inferior a $96.7 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. Por otro lado, el efecto de ambientes no se reflejó significativamente en la emisión de CO_2 y en la de etileno sólo fue superior estadísticamente en el banco de germoplasma ($5.1 \text{ mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) comparado con el resto de los ambientes, donde fluctuó entre 2.4 y $3.3 \text{ mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ (Cuadro 3).

4.1.3 Especies

Como era de esperarse, las especies mostraron efectos altamente significativos para las variables evaluadas, con excepción de porcentaje de plántulas anormales, respondiendo en forma diferencial en las mismas (Cuadro 4). Canola registró un contenido promedio de 11.3 % de humedad, seguido por maíz con 14.1 % y frijol con 14.9 %. La viabilidad y la germinación mostraron una tendencia opuesta al contenido de humedad, es decir, a mayor humedad mayor reducción en estas variables. Canola mostró 85 % de viabilidad, mientras que para maíz y frijol esta fue de 78 y 72 %, respectivamente. En el mismo sentido, la germinación para canola fue de 82 % y para maíz y frijol de 78 y 79 %. Las tres especies produjeron estadísticamente igual número de plántulas anormales (2 a 3 %).

En cuanto al vigor, maíz presentó 57 % de germinación, mientras que canola y frijol no superaron 51 %. En velocidad de emisión de radícula canola superó a frijol y maíz en 15 y 24 semillas germinadas día^{-1} . Frijol mostró un mayor número de semillas germinadas día^{-1} que maíz, por lo tanto, la diferencia entre estos es significativa. Canola mostró la mayor conductividad eléctrica ($190.8 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), seguida por frijol con 112.1 y maíz con $59.9 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. En emisión de CO_2 resultó evidente que frijol superó a maíz en más de $10 \text{ mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ y sólo en menos de $6 \text{ mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ a canola, lo cual no resultó estadísticamente diferente. Por otro lado, en las emisiones de etileno, canola superó en más de $2 \text{ mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ a maíz y frijol (Cuadro 4).

Cuadro 4. Promedio de las variables indicadas resultado de ambientes x periodos de almacenamiento a través de especies.

Especie	Contenido humedad (%)	Viabilidad (%)	Germinación		Envejec. (%)
			Plántulas normales (%)	Plántulas anormales (%)	
Canola	11.3 c	85 a	82 a	2 a	51 b
Maíz	14.1 b	78 b	78 b	2 a	57 a
Frijol	14.9 a	72 c	79 b	3 a	50 b
DMSH (0.05)	0.7	2.3	1.9	0.7	1.6

Especie	Velocidad germ. (Semillas germinadas día ⁻¹)	Conductividad eléctrica (μS cm ⁻¹ g ⁻¹)	CO ₂ (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)	Etileno (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)
Maíz	25 c	59.9 c	27.1 b	2.8 b
Frijol	34 b	112.1 b	37.5 a	2.3 b
DMSH (0.05)	1.5	23.4	7.5	0.8

Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales al 0.05 de probabilidad.

4.2 Efecto de interacciones simples

4.2.1 Especie x ambiente de almacenamiento

Hubo efectos estadísticos altamente significativos de esta interacción en todas las variables evaluadas con excepción de emisión de etileno, donde los efectos fueron significativos al 5 % (Cuadro A1).

El equilibrio higroscópico y la calidad fisiológica de la semilla son influenciados conjuntamente por la especie y el ambiente del almacén. En las tres especies el contenido de humedad aumentó significativamente conforme el ambiente de almacenamiento fue más cálido y húmedo, aunque no en la misma proporción (Figura 1 A). Canola incrementó su humedad en 1.4 y 6.6 %, maíz en 4.3 y 5.6 % y frijol en 6.3 y 11.9 % en los ambientes 2 y 3, respectivamente, comparado con el ambiente 1. Comparativamente, entre ambientes y dentro de

ambientes canola mantuvo los contenidos de humedad más bajos, seguida por maíz y frijol. La viabilidad fue conservada al máximo en las tres especies bajo las condiciones del banco de germoplasma (Figura 1 B), pero ésta se redujo para canola en 0, 18 y 43 %, maíz en 3, 32, y 54 % y frijol en 5, 36 y 71 %, en los ambientes 1, 2 y 3; respectivamente. El porcentaje de germinación mostró la misma tendencia, con reducciones para canola de 16 y 42 %, maíz de 22 y 42 % y frijol de 10 y 47 % en los ambientes 2 y 3, respectivamente, comparado con el promedio registrado en los ambientes de banco y 1 (Figura 1 C). El número de plántulas anormales es muy bajo, en comparación con la reducción en el porcentaje de plántulas normales (Figura 1 D).

El vigor, también se vio seriamente afectado por la interacción ambiente de almacenamiento y especie. La germinación en la prueba de envejecimiento disminuyó para canola en 11, 35 y 47 %, para maíz en 3, 25 y 38 % y para frijol en 2, 40 y 52 % conforme las condiciones fueron más cálidas y húmedas, es decir, banco de germoplasma y ambientes 2 y 3, respectivamente (Figura 2 A). La velocidad de germinación en canola disminuyó en 8, 33 y 47, en maíz en 10, 20 y 26 y en frijol en 5, 6 y 26 semillas germinadas día⁻¹, en los ambientes 1, 2 y 3; respectivamente (Figura 2 B). De igual manera la conductividad eléctrica aumentó en las tres especies evaluadas, siendo más marcada en las condiciones del ambiente 2. Así, el incremento para canola fue de 40.5, para maíz de 141.6 y para frijol de 82.7 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ del ambiente del banco al ambiente 1 (Figura 2 C). La respiración fue poco afectada por los ambientes de almacenamiento, sólo frijol mostró una tendencia a reducir la emisión de CO₂ a medida que el ambiente de almacenamiento fue más cálido y húmedo (Figura 3 A). En cuanto a etileno, canola fue la única especie que presentó grandes emisiones en las condiciones del banco de germoplasma (Figura 3 B).

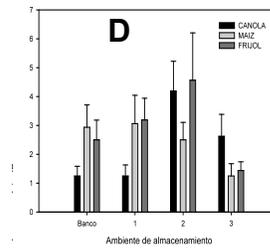
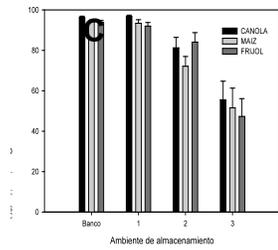
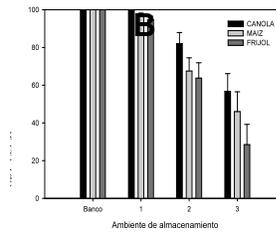
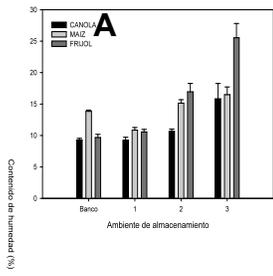


Figura 1. Contenido de humedad (A), viabilidad (B), germinación (C) y plántulas anormales (D) por especie y ambiente de almacenamiento.

Banco= -4 °C, 20 % HR; 1= 18 °C, 72 % HR; 2= 22 °C, 81 % HR; 3= 30 °C, 90 % HR.

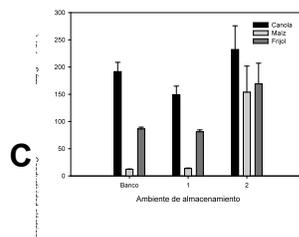
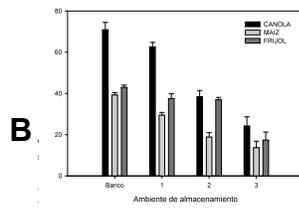
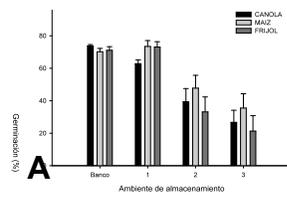


Figura 2. Vigor de semillas. Germinación en la prueba de envejecimiento acelerado (A), velocidad de germinación (B) y conductividad eléctrica (C) de semillas por especie y ambiente de almacenamiento.

Banco= -4 °C, 20 % HR; 1= 18 °C, 72 % HR; 2= 22 °C, 81 % HR; 3= 30 °C, 90 % HR.

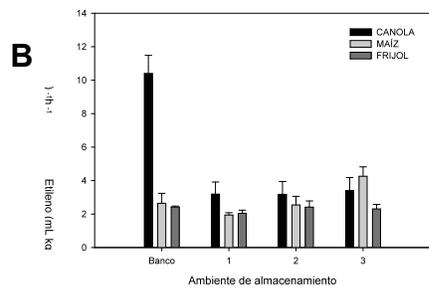
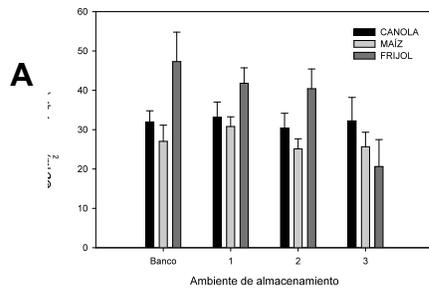


Figura 3. Emisiones de CO₂ (A) y etileno (B) en semillas por especie y ambiente de almacenamiento.

Banco= -4 °C, 20 % HR; 1= 18 °C, 72 % HR; 2= 22 °C, 81 % HR; 3= 30 °C, 90 % HR.

4.2.2 Especie x periodo de almacenamiento

Esta interacción resultó altamente significativa en todas las variables evaluadas (Cuadro A1).

El comportamiento del contenido de humedad y de la calidad fisiológica, también están en función de la especie y del periodo de almacenamiento. El contenido de humedad no varió significativamente en los primeros 30 días para las tres especies, pero se incrementó a los 60 y 90 días para canola en 1.9 y 6.2 % y maíz en 1.0 y 2.7 %, mientras que para frijol sólo se incrementó significativamente a los 60 días en 4.9 % (Figura 4 A), con relación al obtenido al inicio de los tratamientos. La viabilidad se redujo en canola en 8, 16 y 37 %, maíz en 14, 32 y 43 % y frijol en 27, 38 y 48 % a los 30, 60 y 90 días, respectivamente (Figura 4 B). La germinación siguió la misma tendencia, con reducción para canola de 7, 18 y 37 %, maíz de 12, 27 y 42 % y frijol de 17, 17 y 41 % a los 30, 60 y 90 días, respectivamente (Figura 4 C), mientras que el porcentaje de plántulas anormales se incrementó mostrando un máximo de 6 % en frijol (Figura 4 D).

El vigor de las semillas disminuyó a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento. En frijol el porcentaje de germinación se redujo en 37, 49, y 55 %, en canola 20, 34 y 43 % y maíz 16, 35 y 53 % a los 30, 60 y 90 días de almacenamiento, respectivamente. (Figura 5 A). La velocidad de germinación disminuyó en frijol y maíz en promedio 10 semillas germinadas día⁻¹, por cada 30 días de almacenamiento, mientras que canola, por el contrario, mostró incrementos de 6 y 3 semillas germinadas día⁻¹ a los 30 y 60 días, con respecto al punto de partida, pero a los 90 días disminuyó en 6 semillas germinadas día⁻¹ (Figura 5 B). La conductividad eléctrica en maíz se incrementó en 1.7, 44.6 y 148.5 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ a los 30, 60 y 90 días; en frijol se incrementó 10.5, 111.3 y 48.8 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$, por cada 30 días de almacenamiento y canola redujo su conductividad

a los 30 y 60 días en 88.9 y 26.66 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ pero a los 90 días su conductividad fue de 273.2 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ (Figura 5 C).

En cuanto a respiración, maíz y frijol presentaron una tendencia a reducir sus emisiones de CO_2 a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento. Tendencia contraria a la que presentó canola obteniendo sus valores más bajos al inicio de los tratamientos (21.8 $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$); éstas emisiones de CO_2 se incrementaron a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento hasta superar los 37 $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 6 A). Canola mostró una tendencia a reducir sus emisiones de etileno a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento. Maíz, por su parte, presentó un comportamiento errático con emisiones de etileno no mayores a los 2.5 $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a los cero y 60 días de almacenamiento y las mayores emisiones se presentaron a los 30 y 90 días de almacenamiento con valores que superaron los 3.20 $\text{mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Frijol presentó sus menores emisiones de etileno a los 30 días de almacenamiento para después mostrar una tendencia a la alza a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento (Figura 6 B).

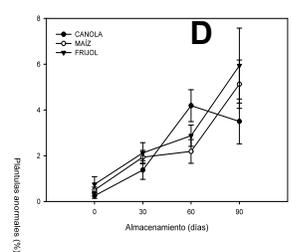
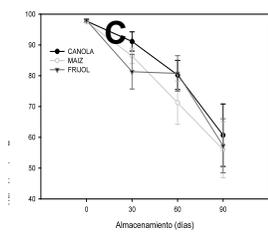
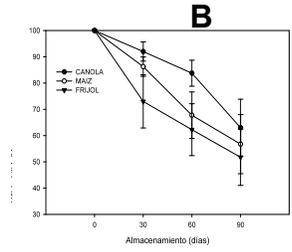
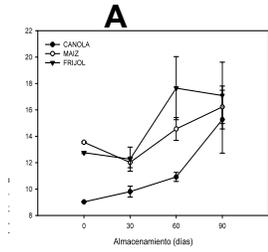


Figura 4. Contenido de humedad (A), viabilidad (B), germinación (C) y plántulas anormales (D) por especie y periodo de almacenamiento.

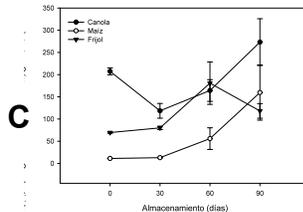
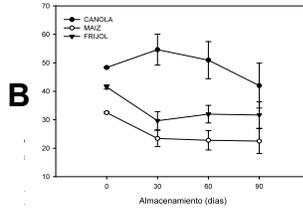
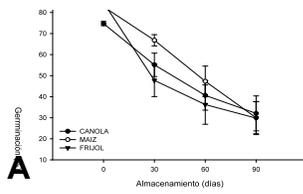


Figura 5. Vigor de semillas. Germinación en la prueba de envejecimiento acelerado (A), velocidad de germinación (B) y conductividad eléctrica (C) de semillas por especie y periodo de almacenamiento.

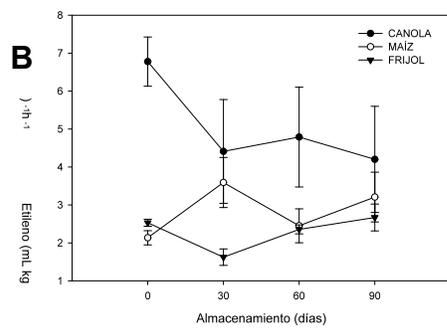
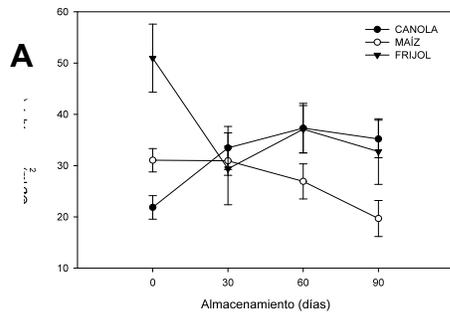


Figura 6. Emisión de CO₂ (A) y etileno (B) en semillas por especie y periodo de almacenamiento.

4.2.3 Ambiente x periodo de almacenamiento

La interacción ambiente por periodo de almacenamiento fue altamente significativa para las variables evaluadas, excepto para emisiones de CO₂, donde esta interacción no tuvo un efecto significativo (Cuadro A1).

Dentro del banco de germoplasma el contenido de humedad disminuyó ligeramente, con un acumulado de 1.6 % durante todo el periodo de almacenamiento. En el ambiente 1, la humedad se redujo 3.1 % a los 30 días, pero a los 60 y 90 días se incrementó a un nivel similar al registrado al inicio del experimento (10 %). En el ambiente 2, se encontró un incremento máximo de 5.8 % a los 60 días, mientras que en el ambiente 3 se registró un incremento de 1.6, 6.9 y 17.5 %; a los 30, 60 y 90 días (Figura 7 A). La viabilidad siguió una tendencia similar al contenido de humedad, en el sentido de que en el banco la viabilidad no manifestó reducciones; en el ambiente 1, se obtuvo una reducción acumulada a los 90 días de 7 %. En los ambientes 2 y 3 la viabilidad se redujo drásticamente a una tasa promedio de 22 y 33 % por cada 30 días de almacenamiento (Figura 7 B). De igual manera la germinación se mantuvo con porcentajes superiores a 86 % en los ambientes banco y 1, pero en los ambientes 2 y 3 disminuyó a una tasa promedio de 15 y 32 % por cada 30 días de almacenamiento (Figura 7 C). El porcentaje de plántulas anormales no superó el 10 % mostrando un valor cercano a dicho porcentaje en el ambiente 2 a los 90 días (Figura 7 D).

En lo referente al vigor, el ambiente del banco de germoplasma fue el que menor deterioro provocó a través del periodo de almacenamiento, con una reducción de 13 % durante los primeros 30 días, manteniéndose sin cambios significativos por el resto del periodo de almacenamiento. En el ambiente 1, se obtuvo una reducción total de 29 %, que ocurrió en mayor parte en los últimos 30 días del periodo de almacenamiento. En los ambientes 2 y 3, las reducciones fueron más pronunciadas, a una tasa promedio de 26 y 27 % por cada 30 días de

almacenamiento (Figura 8 A). La velocidad de germinación aumentó ligeramente en los ambientes banco y 1; mientras que en los ambientes 2 y 3 se redujo a una tasa de 5 y 13 semillas germinadas día⁻¹ por cada 30 días de almacenamiento (Figura 8 B). La integridad de las membranas celulares fue afectada diferencialmente en cada ambiente de almacenamiento. La conductividad inicial promedio fue de 96 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$, la que en las condiciones del banco de germoplasma se incrementó a 101, 121 y 69 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 30, 60 y 90 días. En el ambiente 1, el valor más alto fue de 104 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 90 días de almacenamiento, mientras que en el ambiente 2 se alcanzaron valores de 210 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 60 días y de 378 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 90 días. (Figura 8 C).

En la Figura 9 A se observa que los ambientes con mayores valores de emisión de CO₂ y con mayor estabilidad en esta son los ambientes más frescos y secos (banco de germoplasma y ambiente 1) cuyas emisiones de CO₂ oscilan entre 34.6 y 35.9 mL kg⁻¹ h⁻¹; mientras que en el ambiente 2 dicha emisión se reduce de 34.6 mL kg⁻¹ h⁻¹ (inicio de almacenamiento) a 27.1 mL kg⁻¹ h⁻¹ a los 90 días de almacenamiento. En el ambiente 3, no se apreció una tendencia clara, fluctuado entre 34.6 y 19.0 mL kg⁻¹ h⁻¹ durante el periodo de almacenamiento. Las emisiones de etileno dentro del banco de germoplasma, se incrementaron significativamente a los 30 días, para después permanecer prácticamente constantes hasta los 90 días de almacenamiento, mientras que en el resto de los ambientes existe una tendencia a disminuir la emisión de dicho gas, sobre todo en los primeros 30 días de almacenamiento (Figura 9 B).

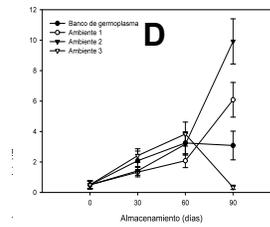
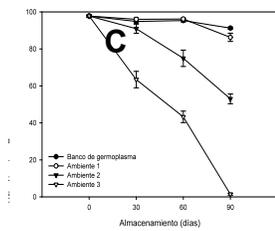
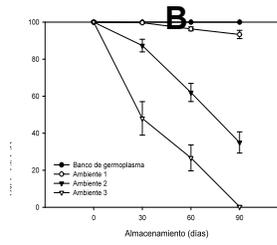
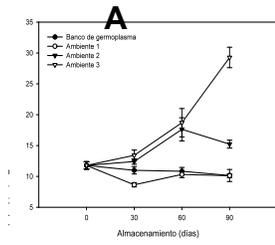


Figura 7. Contenido de humedad (A), viabilidad (B), germinación (C) y plántulas anormales (D) por ambiente y periodo de almacenamiento.

Banco= -4 °C, 20 % HR; 1= 18 °C, 72 % HR; 2= 22 °C, 81 % HR; 3= 30 °C, 90 % HR.

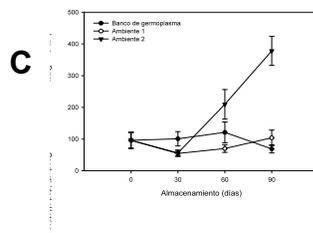
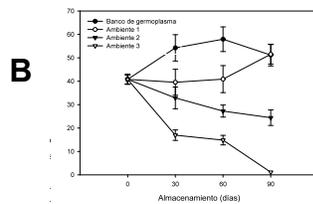
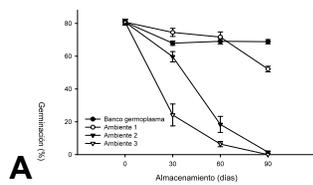


Figura 8. Vigor de semillas. Germinación en la prueba de envejecimiento acelerado (A), velocidad de germinación (B) y conductividad eléctrica (C) de semillas por ambiente y periodo de almacenamiento.

Banco= -4 °C, 20 % HR; 1= 18 °C, 72 % HR; 2= 22 °C, 81 % HR; 3= 30 °C, 90 % HR.

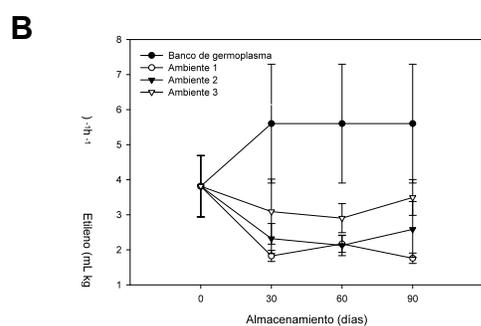
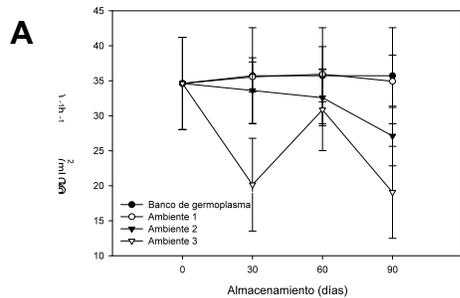


Figura 9. Emisión de CO₂ (A) y etileno (B) en semillas por ambiente y periodo de almacenamiento.

Banco= -4 °C, 20 % HR.; 1= 18 °C, 72 % HR; 2= 22 °C, 81 % HR; 3= 30 °C, 90 % HR.

4.3 Efecto de la interacción triple

4.3.1 Especie x ambiente x periodo de almacenamiento

La interacción triple fue altamente significativa para las variables evaluadas, excepto para la emisión de CO₂, donde su efecto no fue estadísticamente significativo (Cuadro A1).

El contenido de humedad de la semilla y la calidad fisiológica fueron afectados por la interacción entre especie, ambiente y periodo de almacenamiento. El contenido de humedad para canola se mantuvo inferior a 13 %, en los ambientes banco, 1 y 2 durante el periodo de almacenamiento, pero en el ambiente 3 se incrementó entre los 60 y 90 días en 22.8 puntos porcentuales. Maíz mostró una reducción acumulada de 3 % en el ambiente 1 durante los 90 días, mientras que en el ambiente 2 se incrementó en 4.3 %, con una ligera reducción a los 90 días. En el ambiente 3, después de una ligera reducción durante los primeros 30 días, se incrementó en 9.9 puntos porcentuales al final de los tratamientos. En frijol, la humedad se redujo en 4.9 % y en menos de 3 %, en los ambientes banco y 1, respectivamente, a los 90 días de almacenamiento, mientras que en el ambiente 2 se registró un incremento de 11.7 %, pero en los últimos 30 días se redujo 7.6 %; por otro lado, en el ambiente 3, el contenido de humedad se incrementó progresivamente, con un acumulado de 19.7 % a los 90 días, con respecto al obtenido al inicio del almacenamiento (Figura 10).

La viabilidad se mantuvo en 100 % para las tres especies en las condiciones del banco de germoplasma y, en el ambiente 1, sólo se observaron reducciones para maíz y frijol a los 90 días de almacenamiento, con 4 y 16 %, respectivamente. En el ambiente 2, las reducciones en viabilidad para canola se apreciaron después de 60 días, mientras que para maíz y frijol fue a partir de los 30 días, con valores acumulados a los 90 días de 48, 70 y 77 %; respectivamente.

Por otro lado, en el ambiente 3, las reducciones fueron a partir de los 30 días para las tres especies, pero de forma más drástica en maíz y frijol, en los que a partir de los 60 y 30 días la viabilidad era inferior a 20 %. No obstante, a los 90 días la viabilidad se redujo en 100 % para las tres especies (Figura 11).

La germinación siguió la misma tendencia; dentro del ambiente 1, en las tres especies, se mantuvo superior a 95 % para canola y 81 % para maíz y frijol. El efecto fue más pronunciado en los ambientes 2 y 3, con reducciones de 44 % y 100 % para canola; de 47 y 97 % para maíz y para frijol de 44 y 94 %, respectivamente (Figura 12). Las anormalidades, para canola, no rebasaron el 10 %, con los máximos valores registrados en el ambiente 2, seguido por el ambiente 3 a los 60 días (6 %), en el que se reduce a 0 % a los 90 días por la muerte total de las semillas. De manera semejante, para maíz, el máximo de anormalidades se presentó en el ambiente 1, pero no superó 10 % y fue también en el ambiente 3 donde se observó el porcentaje más bajo de anormalidades (2 %). Frijol presentó 16 % de anormalidades en el ambiente 2, registrándose la mayor cantidad entre los 60 y 90 días, para el resto de los ambientes los valores fueron inferiores a 6 % (Figura 13).

En cuanto al vigor, las condiciones del banco de germoplasma no provocaron reducciones significativas en el porcentaje de germinación de canola, pero en el ambiente 1, ya se aprecia una tendencia clara a reducirse el vigor al incrementarse el periodo de almacenamiento, con una reducción acumulada de 20 %. Estas reducciones se hacen más pronunciadas en los ambientes 2 y 3, observándose hasta de 60 % a los 30 y 60 días de almacenamiento, para posteriormente abatirse por completo el vigor. En maíz, por otro lado, las condiciones del ambiente 1, no provocaron reducciones significativas durante los primeros 60 días de almacenamiento, pero en los últimos 30 días este se abate en 33 %. En el banco de germoplasma, el vigor, indicado por la capacidad germinativa, se reduce en 16 % durante los primeros 30 días, pero dicho porcentaje se mantiene por el resto del periodo de almacenamiento. En contraste

en los ambientes 2 y 3, las reducciones fueron muy drásticas desde los primeros 30 días, logrando reducir la germinación a 0 % a los 90 días. En frijol se aprecia un comportamiento muy similar al de maíz, en los ambientes banco y ambiente 1, la diferencia más marcada radica en el menor tiempo para reducirse el vigor a 0 % en los ambientes 2 y 3, que es a los 30 y 60 días, respectivamente (Figura 14).

La velocidad de germinación, presentó un comportamiento más variable, pues en canola se incrementó en los ambientes banco y 1 en 34 y 21 semillas germinadas día⁻¹, mientras que en maíz y frijol se aprecia esa misma tendencia pero sólo en el banco de germoplasma, mientras que en el ambiente 1, tendió a disminuir en 9 y 10 en los primeros 60 días para posteriormente incrementarse hasta 4 y 8 semillas germinadas día⁻¹ respecto al valor inicial. En los ambientes 2 y 3 la velocidad de germinación disminuyó para las tres especies, alcanzando reducciones de 23, 19 y 6 semillas germinadas día⁻¹ en el ambiente 2 y de 100 para las tres especies a los 90 días en el ambiente 3 (Figura 15).

La conductividad eléctrica en la semilla de canola no mostró una tendencia clara; en el banco de germoplasma se incrementó 52.06 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ durante los primeros 60 días y se redujo hasta 108.4 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 90 días. En el ambiente 1 se redujo 113.8 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ en los primeros 60 días y a los 90 días se registró un valor casi igual al obtenido al inicio de los tratamientos. Dentro del ambiente 2 la conductividad se redujo 125.4 y 68.0 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 30 y 60 días para después incrementarse hasta alcanzar 499.7 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. La semilla de maíz dentro del banco de germoplasma y ambiente 1 no presentó cambios significativos durante todo el periodo de almacenamiento, mientras que en el ambiente 2 la conductividad se incrementó 129.2 y 438.3 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 60 y 90 días respectivamente. De igual manera la semilla de frijol no mostró cambios significativos en el banco de germoplasma y ambiente 1, mientras que en el ambiente 2 se incrementó en 279.7 y 56.7 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ a los 60 y 90 días (Figura 16).

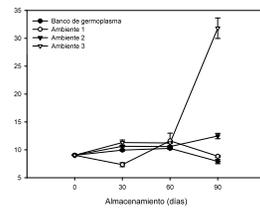
Canola al inicio de los tratamientos, presentó emisiones de CO₂ de 21.85 mL kg⁻¹ h⁻¹. Se observa en la Figura 17 que dentro del banco de germoplasma las emisiones de CO₂ se incrementaron en 13.45 mL kg⁻¹ h⁻¹ a los 30 días de almacenamiento y permanecieron constantes a través del tiempo restante. En el ambiente 1 a los 30 días se presentó un incremento de 11.7 mL kg⁻¹ h⁻¹ y ese incremento continuó hasta superar por 19.23 mL kg⁻¹ h⁻¹ al valor inicial. En el ambiente 2, a los 30 días de almacenamiento se incrementó en 20.6 mL kg⁻¹ h⁻¹ y después de esta fecha a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento, las emisiones de CO₂ disminuyeron en 22.5 mL kg⁻¹ h⁻¹ a los 90 días de almacenamiento. Dentro del ambiente 3 la emisión de CO₂ se incrementó en 18.4 y 22.6 mL kg⁻¹ h⁻¹ a los 60 y 90 días, respectivamente. Las emisiones de CO₂ de la semilla de maíz al inicio de los tratamientos fue de 31.0 mL kg⁻¹ h⁻¹. Estas emisiones disminuyeron en 5.36 mL kg⁻¹ h⁻¹ dentro del banco de germoplasma y luego permanecieron constantes a través del tiempo. En el ambiente 1 la emisión de CO₂ aumentó en 5.41 mL kg⁻¹ h⁻¹ durante los primeros 60 días de almacenamiento y disminuyó a los 90 días liberándose 7.83 mL kg⁻¹ h⁻¹ menos que al inicio del experimento. En el ambiente 2 las emisiones de este gas disminuyeron en 12.54 mL kg⁻¹ h⁻¹ durante los primeros 60 días de almacenamiento y a los 90 días tuvieron un repunte, pero fueron inferiores en 9.87 mL kg⁻¹ h⁻¹ respecto al valor registrado al inicio del almacenamiento. El máximo de CO₂ emitido dentro del ambiente 3 se registró a los 30 días de almacenamiento con valor de 35.97 mL kg⁻¹ h⁻¹ y a partir de esta fecha la cantidad de CO₂ emitida disminuyó hasta que al cabo de los 90 días de almacenamiento se liberaron 26.89 mL kg⁻¹ h⁻¹ menos que al inicio de los tratamientos. Las semillas de frijol registraron su máxima emisión de CO₂ al inicio de los tratamientos equivalentes a 50.95 mL kg⁻¹ h⁻¹. La menor reducción de éstas emisiones se tuvo en el banco de germoplasma las cuales sólo se redujeron en 4.85 mL kg⁻¹ h⁻¹. En el ambiente 1 las emisiones de éste gas disminuyeron en 15.84 mL kg⁻¹ h⁻¹ durante los primeros 60 días de almacenamiento y después de 30 días repuntaron hasta quedar 10.48 mL kg⁻¹ h⁻¹ por debajo del valor registrado al inicio del experimento. En el ambiente 2, la máxima emisión de CO₂ se encontró al inicio de los tratamientos y la mínima a los

30 días de almacenamiento siendo inferior por $22.26 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. El ambiente 3 fue el que más afectó las emisiones de CO_2 presentándose sus mínimas emisiones a los 30 y 90 días de almacenamiento con 48.88 y $46.79 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ menos que el valor registrado al inicio del almacenamiento.

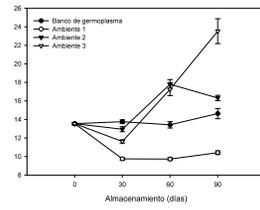
Las emisiones de etileno se muestran en la Figura 18. En semillas de canola al inicio de los tratamientos fueron de $6.77 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Estas emisiones se incrementaron en $4.83 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ dentro del banco de germoplasma, para después permanecer constantes. En el ambiente 1 las emisiones de etileno se redujeron desde los primeros 30 días de almacenamiento registrándose a los 90 días $4.72 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ menos que al inicio de los tratamientos. El ambiente 2 presentó una tendencia similar al ambiente 1, así a los 30 días las emisiones de etileno disminuyeron en $3.97 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ y a los 90 días la reducción fue de $6.17 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Dentro del ambiente 3 se tuvieron los mínimos valores de las emisiones de etileno a los 30 días de almacenamiento con $5.61 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ menos comparado con el valor inicial. Maíz registró emisiones iniciales de etileno de $2.13 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Dentro del banco de germoplasma se incrementaron ligeramente superando sólo por $0.683 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ al valor inicial. En el ambiente 1 se disminuyeron en 0.21 , 0.04 y $0.53 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a los 30, 60 y 90 días, respectivamente. En el ambiente 2 las emisiones de etileno tuvieron mayor variación a los 30 días aumentaron en $0.95 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$; a los 60, disminuyeron $0.87 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$; y a los 90 días de almacenamiento aumentaron $1.54 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, todo con respecto al valor inicial. También dentro del ambiente 3 existió mucha variación a medida que transcurrió el tiempo de almacenamiento, debido a que a los 30 y 90 días las emisiones de etileno aumentaron 4.37 y $2.57 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$; respectivamente. Las emisiones de etileno en semillas de frijol antes de ser almacenadas fueron de $2.53 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Estas emisiones dentro del banco de germoplasma se redujeron $0.15 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Dentro del ambiente 1 se redujeron $1.05 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ durante los primeros treinta días de almacenamiento, a los 60 días casi igualaron el valor inicial y a los 90 días disminuyeron $0.92 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. En el ambiente 2 las emisiones de etileno se redujeron $1.47 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ durante los

primeros 30 días de almacenamiento, pero después de ésta fecha las emisiones de etileno se incrementaron a medida que transcurrió el periodo de almacenamiento hasta que a los 90 días superaron por $0.93 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Finalmente, el ambiente 3 presentó una tendencia similar a la registrada en el ambiente 2. A los primeros 30 días de almacenamiento las emisiones de etileno se redujeron $0.97 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$; pero a los 90 días se incrementaron hasta superar por $0.68 \text{ mL kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ el valor registrado a los cero días de almacenamiento (Figura 18).

Canola



Maíz



Frijol

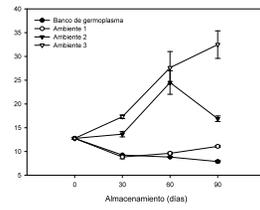
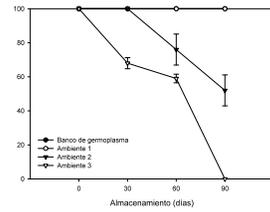


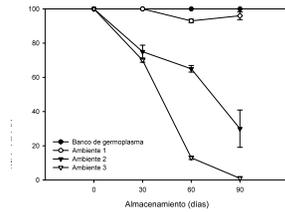
Figura 10. Contenido de humedad de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4°C, 20% HR; 1= 18°C, 72% HR; 2= 22°C, 81% HR; 3= 30°C, 90% HR.

Canola



Maíz



Frijol

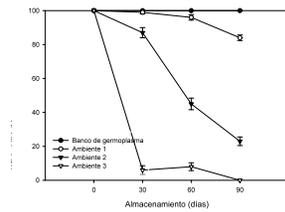
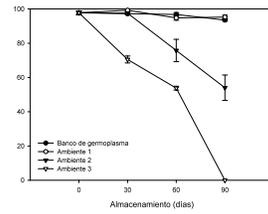


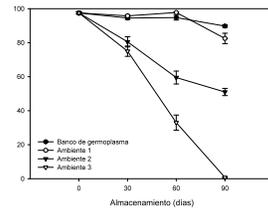
Figura 11. Viabilidad de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4°C, 20% HR; 1= 18°C, 72% HR; 2= 22°C, 81% HR; 3= 30°C, 90% HR.

Canola



Maíz



Frijol

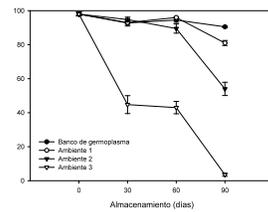
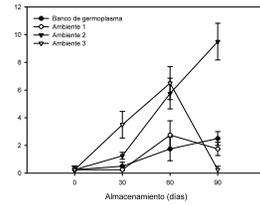


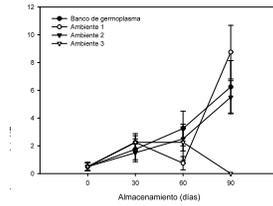
Figura 12. Germinación de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4°C, 20% HR; 1= 18°C, 72% HR; 2= 22°C, 81% HR; 3= 30°C, 90% HR.

Canola



Maíz



Frijol

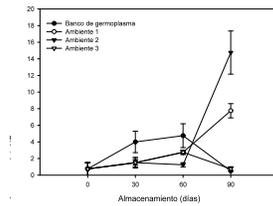


Figura 13. Plántulas anormales por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4°C, 20% HR; 1= 18°C, 72% HR; 2= 22°C, 81% HR; 3= 30°C, 90% HR.

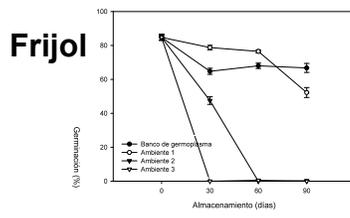
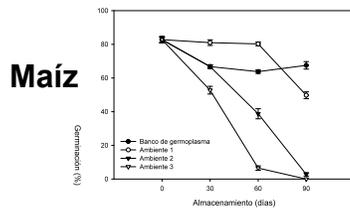
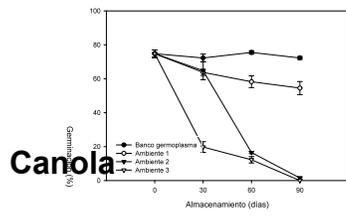
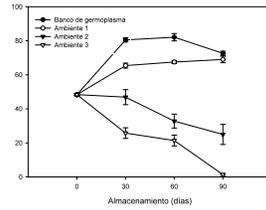


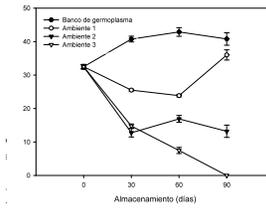
Figura 14. Germinación de semillas por especie en la prueba de envejecimiento acelerado en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4°C, 20% HR; 1= 18°C, 72% HR; 2= 22°C, 81% HR; 3= 30°C, 90% HR.

Canola



Maíz



Frijol

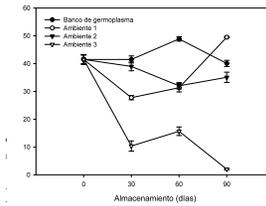


Figura 15. Velocidad de germinación de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4°C, 20% HR; 1= 18°C, 72% HR.; 2= 22°C, 81% HR; 3= 30°C, 90% HR.

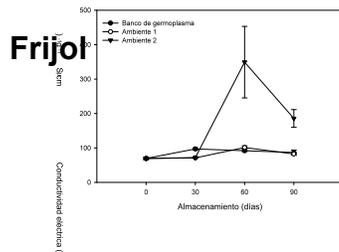
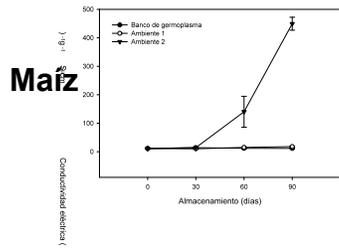
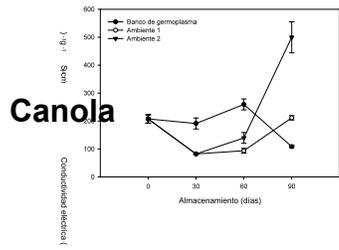


Figura 16. Conductividad eléctrica de semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4 °C, 20 % HR; 1= 18 °C, 72 % HR; 2= 22 °C, 81 % HR; 3= 30 °C, 90 % HR.

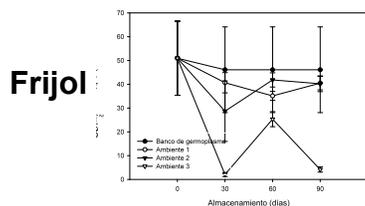
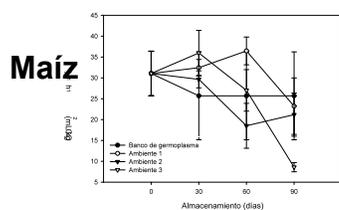
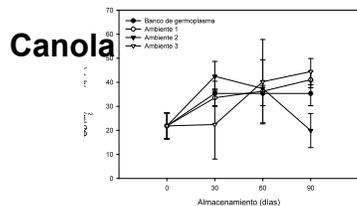


Figura 17. Emisión de CO₂ en semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4°C, 20% HR; 1= 18°C, 72% HR; 2= 22°C, 81% HR; 3= 30°C, 90% HR.

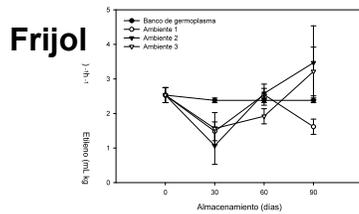
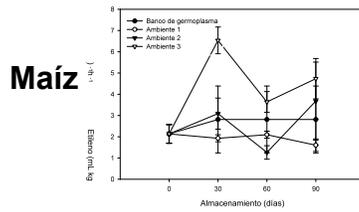
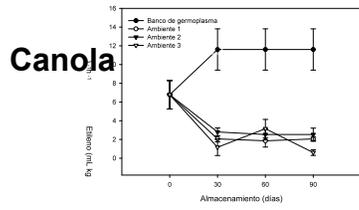


Figura 18. Emisión de etileno en semillas por especie en los diferentes ambientes y periodo de almacenamiento.

Banco= -4°C, 20% HR; 1= 18°C, 72% HR; 2= 22°C, 81% HR; 3= 30°C, 90% HR.

V. DISCUSIÓN

El equilibrio higroscópico de las semillas cambió en función de la especie, del periodo de almacenamiento y de la humedad relativa (H. R.) del almacén, tal como lo señala Harrington (1972). El contenido de humedad de equilibrio de las tres especies evaluadas se redujo sólo ligeramente en la atmósfera de 72 % de H. R., debido a que esa H. R. es similar a la de la bodega donde se secaron las muestras. En el banco de germoplasma se presentaron ligeras reducciones (inferiores a 4 %) en maíz y frijol durante los 90 días de almacenamiento, lo que se debe a un sellado deficiente de los frascos utilizados, que permitió el intercambio del aire del cuarto frío que se encontraba con 20 % de H. R. que por consiguiente causó esas reducciones.

En los ambientes con 81 y 90 % de H. R., canola fue la que mostró una menor absorción de agua del ambiente conforme el tiempo de almacenamiento se hizo más prolongado, alcanzando contenidos de humedad inferiores a 15 %, excepto en los últimos 30 días en el ambiente con 90 % de H. R., en el que se incrementó más de 20 puntos porcentuales (hasta 31.8 % de humedad). En esos ambientes, maíz mostró incrementos de 2.8 y 10 puntos porcentuales (16.3 y 23.5 % de humedad), y frijol de 19.7 y 28.3 puntos porcentuales (16.8 y 32.5 % de humedad), respectivamente. Estas diferencias en los incrementos pueden deberse a la capacidad de retención de agua de los compuestos de reserva de las semillas. Harrington (1972) señala que las proteínas son más higroscópicas, seguido de la celulosa y el almidón y, finalmente los lípidos son esencialmente hidrofóbicos. Así, a la misma humedad relativa, una semilla con alto contenido de proteína o almidón y baja en aceites tendrá mucho más contenido de humedad que una semilla rica en aceites. La composición en cuanto a proteínas, grasa y carbohidratos ($\text{g } 100^{-1}$ g de porción comestible) para maíz es de 8.9, 4.3 y 72.2, para frijol de 19.2, 1.8 y 61.5, y para canola de 20, 45 y carbohidratos no reportado (Solís, 1998; SEP, 1987).

Asimismo, los resultados obtenidos concuerdan con las observaciones de Santacruz *et al.*, (1997), quienes evaluaron semillas de frijol, maíz, ajonjolí y cacahuete en cinco ambientes diferentes, encontrando un aumento de humedad menos pronunciado en las especies oleaginosas (ajonjolí y cacahuete).

Los factores ambiente de almacenamiento, tiempo y especies mostraron un efecto interactivo en la conservación de la viabilidad de la semilla. La viabilidad de las tres especies se mantuvo en 100 % en el ambiente del banco de germoplasma (-4 °C y 70 % H. R.), mientras que en el ambiente 1 (18 °C y 72 % H. R.) se observó una reducción acumulada de 4 y 16 % para maíz y frijol. Esto podría deberse a las ligeras reducciones de humedad observadas en el banco de germoplasma y a la baja temperatura, que provocan, por un lado una reducción en la respiración y por el otro una disminución en la microflora de la semilla, que son de las principales causas del deterioro de éstas en el almacén (Ng *et al.*, 1995), manteniéndose la viabilidad por periodos más prolongados.

Las reducciones en viabilidad se hicieron más pronunciadas e iniciaron dentro de un periodo más corto de almacenamiento en los ambientes 2 y 3 (22 °C y 81 % H. R.; 30 °C y 90 % H. R.). En el ambiente 2, la pérdida de la viabilidad siguió una tendencia lineal, alcanzando, a los 90 días de almacenamiento, reducciones acumuladas de 48 % en canola, de 99 % en maíz y de 100 % en frijol, mientras que en el ambiente 3 en tan sólo 60 días de almacenamiento las reducciones fueron superiores a 87 % para maíz y frijol y de 100 % para las tres especies a los 90 días. Para maíz y frijol, esas tendencias en la pérdida de la viabilidad coinciden con los incrementos observados en el contenido de humedad, que es uno de los componentes más importantes en la conservación de la viabilidad (Harrington, 1972; Chin, 1977; Bass, 1980). Los incrementos en el contenido de humedad de las semillas ocasionan alteraciones en las membranas celulares, reducida actividad de mitocondrias, agotamiento de reservas y daños

genéticos como retraso en la replicación del ADN durante el proceso de germinación (Cruz, 2001).

Para el caso de maíz, resultados similares fueron reportados por Abba y Lovato (1999), quienes encontraron que humedades relativas entre 90 y 95 % y temperatura de 30 °C provocaron una pérdida total de la viabilidad de las semillas de maíz después de 42 días de almacenamiento, tiempo en el cual la humedad de la semilla pasó de 10.5 a 17 %. Con un ambiente de 70 % de humedad relativa y 25 °C el vigor se redujo después de 4 meses, en tanto que el ambiente con 50 % de humedad y 20 °C no afectó la viabilidad y vigor de las semillas.

Al igual que en las variables anteriores, los factores evaluados (ambientes, tiempo y especies) también ejercieron un efecto interactivo en el comportamiento de la capacidad germinativa de la semilla. Las tendencias observadas en esta variable se asemejan a las obtenidas en viabilidad, solamente que con porcentajes ligeramente inferiores en la mayoría de los casos. Esto debido a que la germinación se cuantificó desde el punto de vista de tecnología de semillas, referida a la capacidad de ésta para dar origen a una plántula con las estructuras esenciales para establecerse en el campo (ISTA, 2004), a diferencia de la viabilidad que refleja las áreas vivas de la semilla, pero que en ocasiones no llegan a estructurar una plántula con la capacidad de establecerse en campo (ISTA, 2004).

En los ambientes banco y 1, las reducciones en germinación para canola fueron del orden de 3 y 4 %; mientras que para maíz de 8 y 15 %; y frijol de 7 y 17 %, respectivamente, esto es, en ambientes más frescos y secos, la pérdida de la capacidad germinativa es menor, lo que se asocia a una reducida tasa respiratoria tanto de los tejidos de la semilla como de la microflora que ésta pueda contener. Al respecto, Mejía (1981) menciona que durante el almacenamiento, *Aspergillus* y *Penicillium*, pueden causar reducción en la germinación, oscurecimiento de la testa y calentamiento, debido a su respiración. El ataque de hongos de almacén a

las semillas conduce a un proceso que aumenta la respiración, el contenido de humedad y la temperatura, dando como resultado daños al embrión y afectando en gran medida la germinación (Santacruz, 1994).

En los ambientes más cálidos y húmedos, la pérdida de la capacidad germinativa se hizo más pronunciada, con valores acumulados a los 90 días del orden de 50 % en el ambiente 2 (22 °C y 81 % H. R.) y de 100 % en el ambiente 3 (30 °C y 90 % H. R.) para las tres especies evaluadas. En principio, este comportamiento coincide con los incrementos en humedad, que en consecuencia acelera los procesos de deterioro por incrementos en respiración. Harrington (1972) menciona que con contenidos de humedad mayores a 18 % se produce un calentamiento por la respiración de las semillas, hongos y bacterias. Asimismo, Herrera (1998) afirma que la pérdida de la germinación en ambientes con alta humedad relativa es debida al incremento de la respiración, que causa el agotamiento de las reservas de la semilla, el calentamiento y el ataque de hongos, factores que aceleran el deterioro. Los resultados también coinciden con Santacruz *et al.*, (1997), quienes encontraron que al almacenar semilla en ambientes frescos los cambios en la germinación durante 12 meses, no fueron significativos; sin embargo, en ambientes calidos y húmedos las reducciones fueron muy severas.

El número de plántulas anormales se incrementó conforme las condiciones de los ambientes de almacenamiento fueron más cálidas y húmedas; no obstante, el valor máximo observado no superó el 16 % (considerando el periodo de almacenamiento y las especies). Esto significa que la causa fundamental de la reducción de germinación observado en el presente estudio, se debió a incrementos en el número de semillas muertas. Lo que no coincide con Priestley (1986), quien menciona que en maíz, las anomalías se incrementan marcadamente a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento de la semilla. Esta discrepancia en el reducido número de plántulas anormales comparado con el de semillas muertas en el presente estudio, posiblemente esté

asociado a las condiciones tan severas de humedad y temperatura utilizadas, las que podrían propiciar un rápido desbalance en las funciones vitales de los tejidos, causando su muerte. La aparición de plántulas anormales durante la germinación se debe a la pérdida de funciones vitales que ocurren en el interior de las semillas (Mackay, 1972, Bewley y Black, 1994).

El vigor de las semillas se redujo considerablemente por el efecto interactivo de los factores ambiente, tiempo y especie. En la prueba de envejecimiento acelerado las reducciones en germinación fueron más severas conforme transcurrió el tiempo y los ambientes se tornaban más cálidos y húmedos. En el banco de germoplasma (-4 °C y 20 % H. R.) y ambiente 1 (18 °C y 72 % H. R.) canola conservó su vigor inicial, mientras que en maíz y frijol la germinación se redujo en 15 y 18 %; y 33 y 33 %; a los 90 días de almacenamiento, respectivamente. En los ambientes 2 y 3 (22 °C y 81 % H. R.; 30 °C y 90 % H. R.) las reducciones en germinación en canola y maíz alcanzaron 100 % a los 90 días, mientras que en frijol esa reducción se alcanzó tan sólo a los 60 días en el ambiente 1 y a los 30 días en el ambiente 2.

Las reducciones en vigor coinciden con los incrementos en la humedad de la semilla, que como ya se señaló, es uno de los factores que más influyen en el deterioro, asociado por incrementos en respiración y desbalance en los procesos metabólicos que aceleran el envejecimiento y muerte de la semilla. Basavarajappa *et al.* (1991) mencionan que durante el envejecimiento acelerado se presenta una reducción en el contenido total de reservas como carbohidratos y proteínas, entre otros componentes, afectando el crecimiento y desarrollo de la plántula. En el caso de maíz, la reducción del vigor se ha asociado con la disminución de sacarosa y algunos oligosacáridos como rafinosa, estaquiosa y verbascosa (Koster y Leopold, 1988; Chen y Burris, 1990).

Una causa importante de la muerte de la semilla es la pérdida gradual de reservas para el embrión. Asimismo, diversos autores mencionan que la reducción

del vigor de semillas de maíz bajo condiciones de envejecimiento acelerado podría estar relacionada con la disminución de varios azúcares en el embrión, siendo el principal carbohidrato soluble de reserva la sacarosa, generalmente asociada con pequeñas cantidades de oligosacáridos, rafinosa, estaquiosa o varbascosa (Koster y Leopold, 1988; Chen y Burris, 1990).

La mayor tasa de reducción del vigor en la semilla de frijol se asocia con los mayores incrementos en la humedad registrados. En el caso de canola, aún cuando la humedad de equilibrio fue inferior a las otras dos especies, los efectos del contenido de humedad podrían tener un efecto equivalente debido al alto contenido de aceite de reserva, el cual puede ser oxidado generando radicales libres, los que se han asociado con el deterioro de la semilla. Abdul-Baki y Anderson (1972) mencionan que uno de los cambios asociados con el deterioro de las semillas oleaginosas, es el incremento en su acidez, debido principalmente a la presencia de ácidos grasos libres, producidos por la acción de lípasas sobre los lípidos. Conforme aumentan los ácidos grasos libres hay una disminución en los lípidos totales, neutros y polares, siendo los fosfolípidos los que disminuyen más rápidamente, sobre todo cuando el deterioro es rápido por la incidencia de alta temperatura y humedad. Gopa y Murkhejee (1986), observaron un incremento en la peroxidación de lípidos en semillas envejecidas y una gran peroxidación de lípidos bajo condiciones de alta temperatura y humedad. Harrington (1973), menciona que la mayor relación del cambio de los lípidos con el deterioro de las semillas durante el almacenamiento es la autooxidación por su reacción en cadena y por la producción de radicales libres que combinados con oxígeno producen hidroperóxidos, de donde se deriva carbonil que combinado con proteínas inactivan enzimas, dañan las membranas y desnaturalizan las histonas, las cuales al combinarse con ácidos nucleicos causan mutaciones cromosómicas.

La velocidad de germinación de semillas de canola se incrementó en más de 20 semillas germinadas día⁻¹ en el banco de germoplasma y ambiente 1; lo mismo sucedió en maíz y frijol pero sólo en el banco. En contraste en los

ambientes 2 y 3 se redujo la velocidad de germinación de las tres especies, alcanzando cero a los 90 días de almacenamiento en el ambiente 3. Durante el deterioro se han reportado alteraciones en la membrana celular, que como consecuencia reduce la capacidad selectiva y se vuelve más permeable al paso de agua. Esto posiblemente explica la reducción en tiempo para hidratar los tejidos durante la imbibición, reduciéndose el tiempo a emisión de radícula. Si las alteraciones son severas, así como daños en otros organelos que causen la muerte, la imbibición seguirá ocurriendo a tasas altas pero no ocurrirá la germinación por muerte de los tejidos del embrión.

Los incrementos en velocidad de germinación y posibles alteraciones en las membranas, se sustenta con los cambios obtenidos en la pérdida de solutos medida por medio de la prueba de conductividad eléctrica, que mide de forma indirecta la integridad de las membranas. En los ambientes banco y 1 no se observó una tendencia clara en la conductividad eléctrica en canola y para maíz y frijol la tendencia fue a mantenerse sin cambios significativos. Esto podría indicar que la prueba no es muy sensible o que la semilla tiene la capacidad de reparar los posibles daños en sus membranas durante el periodo de imbibición de la prueba, si estos no son muy severos Knypl y Khan (1981), afirman que durante el secado en la maduración de las semillas y durante el deterioro, las membranas celulares pierden su integridad. Cuando las semillas son puestas a embeber, grandes cantidades de soluto salen de las células mostrando mayor deterioro de las membranas cuanto más sean estos. La reparación de las membranas es posible si existe absorción inicial de humedad por la semilla a una velocidad muy lenta, que le permita a las membranas celulares volver a la condición normal de una manera ordenada, sin los daños consecuentes. Por otro lado en el ambiente 2 se incrementó para canola a $499 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ y maíz a $400 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ y en frijol a $270 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. En el ambiente 3 los incrementos en conductividad fueron en miles que el instrumento usado para tomar las lecturas mostró error en algunos casos, razón por la cual los datos no fueron incluidos en el análisis estadístico. Esto indica que posiblemente las membranas celulares fueron severamente

dañadas y no fue posible su reparación durante el proceso de imbibición lo que coincide con las reducciones en germinación y vigor discutidas con antelación. De Souza *et al.*, (2003) mencionan que las membranas celulares son la primera estructura en exhibir las alteraciones degenerativas que caracterizan al deterioro de semillas y que la falta de integridad de las membranas puede acarrear la lixiviación de azúcares, aminoácidos, electrolitos y otras sustancias solubles en agua. Por su parte Marcos Filho *et al.* (1982) trabajando con semillas de soya encontraron correlación altamente significativa entre los valores de conductividad y la integridad de las membranas, también encontraron correlación negativa entre conductividad y pruebas de germinación, primer conteo de germinación y envejecimiento. Al respecto Parrish y Leopold (1978) afirman que el incremento de solutos con el tiempo de almacenamiento puede ser resultado de una membrana más permeable. Rangel (2004) encontró en semillas de maíz una correlación positiva entre alta conductividad eléctrica y reducciones en germinación, vigor y viabilidad.

El efecto interactivo de los factores especie, tiempo de almacenamiento y de la humedad relativa de la atmósfera del almacén se manifestó por alteraciones en las tasas de respiración a las 24 horas durante el proceso de imbibición - germinación de la semilla. En los ambientes más frescos y secos (banco y 1) la respiración tendió a mantenerse en el caso de frijol y a manifestar ligeros incrementos en maíz y canola. Lo que posiblemente se debió a las ligeras alteraciones que se manifestaron en la membrana que permitió una más rápida imbibición y por consiguiente mayor respiración en el momento en que se removieron de la etapa de germinación.

En contraste en los ambientes más calidos y húmedos (2 y 3) las tasas de respiración tendieron a disminuirse en las tres especies conforme el tiempo de almacenamiento se incrementó. Dichas reducciones coinciden con los decrementos en germinación y vigor discutidos anteriormente. Esto indica que durante el deterioro se afectan las mitocondrias, reflejándose en reducciones en

respiración y posible muerte de la semilla por reducciones considerables en la producción de energía necesaria para la elongación del eje embrionario, como lo señala Ferguson *et al.* (1990). Woodstock *et al.* (1984), midieron la respiración de embriones de semillas de soya con alto y bajo vigor después de 4 y 24 horas de imbibición y encontraron mayores tasas respiratorias en aquellos con alto vigor en ambos periodos de imbibición, lo que asocian a disminuciones en el número y eficiencia de las mitocondrias. Priestley (1986) señala que las reducciones en respiración pueden ser a consecuencia de un daño directo a las mitocondrias durante el envejecimiento o por el lento desarrollo de nuevas mitocondrias durante la germinación. Leopold y Musgrave (1980) señalan que la alteración en la oxidasa terminal de la mitocondria, la cual ocurre durante el envejecimiento de la semilla, puede conducir a un desbalance entre el ciclo del ácido glicolítico y el transporte de electrones, resultando en una acumulación de etanol y acetaldehído.

Los resultados obtenidos son respaldados por muchos autores los cuales afirman que en semillas de soya las reducidas tasas de respiración han sido asociadas con semillas deterioradas ya sea de forma natural o envejecidas artificialmente, en las cuales se han observado bajas tasas de captación de O₂ (Edje y Burris, 1970; Wahab y Burris, 1971; Leopold y Musgrave, 1980; Woodstock, et al., 1984).

Las emisiones de etileno fueron considerablemente afectadas por la interacción de los tres factores evaluados en el presente estudio. Canola mostró las tendencias más claras a través del tiempo y ambientes de almacenamiento, esta especie mostró valores más altos antes del almacenamiento, los cuales se incrementaron en el banco de germoplasma y disminuyeron conforme progresó el periodo de almacenamiento y las condiciones fueron más calidas y húmedas (ambientes 1, 2 y 3). En contraste, maíz y frijol no mostraron una clara tendencia a través del tiempo y condiciones de almacenamiento. Takayanagi y Harrington (1971) encontraron que la producción de etileno en semilla de canola alcanza un máximo entre las 30 y 36 horas de imbibición, que coincide con el inicio de la

elongación de la radícula, expansión cotiledonar y el rompimiento de la cubierta seminal. Los mismos autores encontraron que en semillas de canola envejecidas por 11 días la máxima producción ocurrió entre las 50 y 60 h, pero con valores inferiores, asociando de esta manera la producción de etileno y el vigor de las semillas.

Gorecki *et al.*, (1991) encontraron que semillas de chícharo de alto vigor despidieron las mayores cantidades de etileno durante todo el tiempo de imbibición que en semillas envejecidas, en las que se observó un retraso en el comienzo de la producción; así mismo la totalidad de etileno desprendido fue proporcional al deterioro de las semillas. La principal causa de esa baja producción se atribuye a la reducción de la actividad de conversión de ACC a etileno (Gorecki *et al.*, 1991).

Las grandes variaciones en el comportamiento de las emisiones de etileno en semillas de maíz y frijol pueden deberse a la rapidez con que imbibieron agua para el comienzo de su germinación debido a que Takayanagi y Harrington (1971) afirman que en general para semillas frescas y envejecidas el comienzo de la producción de etileno corresponde al comienzo de la germinación (emergencia de la radícula).

La producción de etileno por las semillas comienza inmediatamente después de iniciada la imbibición y se incrementa con el tiempo, pero su comportamiento difiere fuertemente entre especies. Sin embargo, la protusión radicular a través de la cubierta seminal está siempre asociada con un máximo de emisión de etileno. Una estrecha relación entre la capacidad de producir etileno y el vigor de la semilla ha sido reportado en semillas de algodón, cacahuate, y chícharos (Kigel y Galili, 1995).

VI. CONCLUSIONES

Con base en el objetivo e hipótesis planteados y con los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

1. El deterioro de las semillas de las tres especies, manifestado por la reducción en el potencial de respuesta de las variables evaluadas, avanzó conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento.
2. La tasa de deterioro se asoció a la composición química de la semilla y condiciones de almacenamiento, siendo mayor para frijol, seguido de maíz y canola.
3. Dentro de los ambientes de almacenamiento, el deterioro de las semillas fue más severo en ambientes con alta temperatura y humedad relativa, mientras que en los ambientes frescos y secos fue posible mantener el mínimo de germinación requerido para certificación de semillas.

VII. LITERATURA CITADA

- Abba, E. J., and A. Lovato. 1999. Effect of seed storage temperature and relative humidity on maize (*Zea mays* L.) seed viability and vigour. *Seed Sci. and Technol.* 27: 101-114.
- Abdul-Baki, A. A. and J. D. Anderson. 1972. Physiological and biochemical deterioration of seeds. *In*: T. T. Kozlowski (ed). *Seed Biology*. Vol II. Academic Press. New York. pp. 283-315.
- Abdul-Baki, A. A. and J. E. Baker. 1973. Are changes in cellular organelles or membranes related to vigor loss in seed?. *Seed Sci. and Technol.* 1: 89-125.
- Aguirre, R. and S. T. Peske. 1991. Seed moisture content required for short-term hermetic storage of beans. *Seed Sci. and Technol.* 19 (1): 117-122.
- Anderson, J. D. 1973. Metabolic changes associated with senescence. *Seed Sci. and Technol.* 1: 401-416.
- Bakheit, B., R. Abdou and F. H. Abdalla. 1985. Germination, seedling vigour and induction of chromosomal aberrations in wheat grains fumigated with phosphine. *Seed Sci. and Technol.* 19: 279-286.
- Barton, L. V. 1961. *Seed Preservation and Longevity*. Leonard Hill. London.
- Basavarajappa, B. S., H. S. Shetty, and H. S. Prakash. 1991. Membrane deterioration and other biochemical changes associated with accelerated aging of maize seeds. *Seed Sci. Technol.* 19: 279-286.

- Bass, L. N. 1980. Seed viability during long term storage. *Hort. Reviews* 2: 117-141.
- Bass, L. N. and P. C. Stanwood. 1978. Long-term preservation of sorghum seed as affected by seed moisture, temperature and atmospheric environment. *Crop Sci.* 18: 575-577.
- Bewley, J. D. 1986. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in storage. *In*: M. B. MacDonald Jr. y C. J. Nelson (eds.). *Physiology of Seed Deterioration*. CSSA Special Publication Number 11. Madison. pp. 27-45.
- Bewley, J. D. and M. Black. 1994. *Seed Physiology of Development and Germination*. 2nd ed. Plenum Press. New York. 367 p.
- Chauhan, J. K., J. K. Purkar, and S. K. Bunerjee. 1984. Ageing induced changes in seeds. *Seed Res.* 12(1): 53-71.
- Cheah, D. R. and D. J. Osborne. 1978. DNA lesions occur with loss of viability in embryos of ageing rye seed. *Nature.* 272: 593-597.
- Chen, Y. and J. S. Burris. 1990. Role of carbohydrates in desiccation tolerance and membrane behavior in maturing maize seed. *Crop Sci.* 30:971-975.
- Cherry, J. H. 1984. Physiology of seed deterioration: protein degradation. *Agronomy Abstracts*. 1984 Annual Meetings. American society of agronomy. Crop science society of America. Soil Science Society of America. Las Vegas, Nevada. p. 142.
- Chin H. F. 1977. Influence of seed quality on plant growth and development. *In*: H. F. Chin, I. C. Enoch and R. M. Raja Harum (eds). *Seed Technology in the*

- Tropics. Faculty of Agriculture. University Pertanian Malaysian. Serdang, Selangor, Malaysia. pp. 75-83.
- Ching, T. M. 1961. Respiration of forage seed in hermetically sealed cans. *Agron. J.* 53: 6-8.
- Ching, T. M. 1973. Biochemical aspects of seed vigor. *Seed Sci. Technol.* 1: 73-88.
- Copeland, L. O. and M. B. McDonald. 1995. *Principles of Seed Science and Technology*. 3rd ed. Chapman and Hall. New York, USA. 321 p.
- Cordoba O., H. S. 1991. Curso de vigor de semillas, calidad fisiológica de semillas. Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. s.p.
- Cruz P., A. B. 2001. Cinéticas de imbibición, respiración y distribución de biomasa en semillas de maíz tolerante y susceptible al envejecimiento. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- De Souza L., A. L.; E. Lazarini, M. E. De Sá e W. V. Valério F. 2003. Armazenamento de sementes de soja dessecadas e avaliação da qualidade fisiológica, bioquímica e sanitária. *Revista Brasileira de Sementes*. 25(2): 97-105.
- Delouche, J. C. 1996. Accelerated aging test. AOSA meeting. College of Agriculture, University of Kentucky, Lexington, KY. pp. 1-7.
- Delouche, J. C. and C. C. Baskin. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. and Technol.* 1: 427-452.

- Dourado, A. M. and E. H. Roberts. 1984. Chromosome aberrations induced during storage in barley and pea seeds. *Ann. Bot.* 54: 767-779.
- Duffus, C. y C., Slaughter. 1989. *Las Semillas y sus Usos*. AGT Editor. México. 188 p.
- Edge, O. T. and J. S. Burris. 1971. Effects of soybean seed vigor on field performance. *Agron. J.* 63: 536-538.
- Fenaroli, L. 1969. The maize-grain. Its composition, marketing characteristics, metabolism and conditions for a safe storage. *Publicazione No 21*. Istituto Sperimentale per le Cerealicoltura. Sezione di Bergamo. Estratto da *Maydica*. XIV: 99-106.
- Ferguson, J. M., D. M. Tekrony and D. B. Egli. 1990. Changes during early soybean seed and axes deterioration. I. Seed quality and mitochondrial respiration. *Crop Sci.* 30(1): 175-179.
- Gill, N. S. 1969. Deterioration of corn seed during storage. Mississippi State University. State College, Mississippi. 199 p.
- Gopa, D. and R. K. Mukherjee 1986. Deteriorative change in seed during storage and its control by hydration – dehydration pretreatments. *Seed Res.* 14(1): 49-59.
- Gorecki, R. J., H. Ashino, S. Satoh, and Y. Esashi. 1991. Ethylene production in pea and cocklebur seeds of differing vigour. *J. Exp. Bot.* 42: 407-414.
- Hall, C. W. 1980. *Drying and Storage of Agricultural Crops*. Avi. Publishing Company. Connecticut, U.S.A. 381 p.

- Harrington, J. F. 1972. Seed storage and longevity. *In*: T. T. Kozlowski (ed). Seed Biology. Vol. III. Academic Press. New York. pp. 145-240.
- Harrington, J. F. 1973. Biochemical basis of seed longevity. *Seed Sci. Technol.* 1: 453-461.
- Herrera C., C. 1998. Condiciones de almacenamiento y su relación con la calidad fisiológica en semillas de frijol producidas bajo diferentes tratamientos de fertilización foliar. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 92 p.
- Holman, L. E. and J. R. Snitzler. 1961. Transporting, handling and storing seeds. *In*: Seeds. The Yearbook of Agriculture. USDA. Washington D. C. pp 338-347.
- Hor, Y. L. 1977. Storage of field crops seed under Malaysian conditions. *In* : H. F. Chin; I. C. Enoch and R. M. Raja Harum (eds.). Seed Technology in the Tropics. Faculty of Agriculture. University Pertanian Malaysian. Serdang, Selangor, Malaysia. pp. 123-134.
- Humphreys, L. R. and F. Riveros. 1986. Tropical pasture seed production. FAO. Plant Production and Protection Paper. Rome. pp. 152-153.
- ISTA. 2004. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. Bassersdorf, CH-Switzerland.
- Khypl J. S. and A. A. Khan. 1981. Osmoconditioning of soybean seed to improve performance at suboptimal temperatures. *Agron. J.* 73(1): 112-116.

- Kigel, J. and G. Galili. 1995. Seed Development and Germination. Marcel Dekker Inc., New York, NY. 853 p.
- Koster, K. L. and A. C. Leopold. 1988. Sugars and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiol.* 88:829-832.
- Lindblad, C. y L. Druben. 1979. Almacenamiento del grano y manejo, secado, silos, control de insectos y roedores. Ed. Concepto. México. pp. 28-35.
- López S., H. 1994. Deterioro de la calidad fisiológica de diferentes semillas agrícolas en función del ambiente de almacenamiento. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Mackay, D. B. 1972. The measurement of viability. *In*: E. H. Roberts (ed). *Viability of Seeds*. Chapman and Hall LTD. London. pp. 172-208.
- McDonald, M.B. Jr y C. J. Nelson. 1986. Physiology of seed deterioration. CSSA Special Publication Number 11. Crop Science Society of America. Madison, Winsconsin, USA.
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination: Aid in Selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2: 176-177.
- Maguire J. D. 1977. Seed quality and germination. *In*: A. A. Khan (ed). *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*. North-Holland Publishing Company. Amsterdam. pp. 219-235.
- Marcos Filho, J; H. V. Amorim; M. B. Silvarolla; H. M. C. Pescarim. 1982. Relações entre germinação, vigor e permeabilidade das membranas celulares durante a maturação de sementes de soja. *IN*: EMBRAPA. Seminário nacional de

pesquisa de soja v2. Brasilia, 16/21 fev: Anais. Londrina: EMBRAPA-CNPSO. 256 p.

Márquez C., L. A. 1990. Rendimiento y calidad de la semilla de avena en relación a la fertilización, densidad de siembra y zona de producción. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Genética. Montecillo, México. 97 p.

Mejía P., J. L. 1981. Reacción de poblaciones de maíz *Zea mays* L. con alta calidad de proteína a diferentes condiciones de almacenamiento. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo. México. 58 p.

Mora A., R. 1991. Métodos para sincronizar la floración en líneas parentales de sorgos híbridos y su efecto en la calidad de semillas. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Genética. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 103 p.

Moreno, M., E; M. E. Vázquez B., R. Navarrete M. and J. Ramírez G. 1994. Seed viability of different varieties of bean stored under low and high relative humidity. *Seed Sci. Technol.* 22: 195-202.

Ng, H. F., R. V. Morey, W. F. Wilcke, R. A. Meronuck, J. P. Lang. 1995. Relationship between equilibrium relative humidity and deterioration of shelled corn. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers* 38(4):1139-1145.

Palma R., M. P. 1996. Efecto de las condiciones de almacenamiento en la calidad fisiológica de la semilla de dos especies forrajeras. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 92 p.

- Pandey, D. K. 1992. Conductivity testing of seeds. *In* H. F. Linskens and J. F. Jackson. (eds.) Seed Analysis. Molecular Methods of Plant Analysis. New Series Vol. 14 Springer-Verlag. London. pp. 273-304.
- Parrish, D. J., and A. C. Leopold. 1978. On the mechanism of ageing in soybean seeds. *Plant Physiol.* 61: 365-366.
- Perdomo, A. and J. S. Burris. 1998. Histochemical, physiological and ultrastructural changes in the maize embryo during artificial drying. *Crop Sci.* 38: 1236-1244.
- Priestley, D. A. 1986. Seed Aging. Implications for Seed Storage and Persistence in the Soil. Comstock Publishing Associates. Ithaca, New York. 304 p.
- Probert, R. J., and F. R. Hay. 2000. Keeping seeds alive. *In*: Bewley, D. J. and M. Black (eds.). Seed Technology and its Biological Basis. CRC Press LLC. Great Britain. pp: 390-393.
- Rangel F., M. A. 2004. Pérdida de tolerancia a la desecación y comportamiento de cuerpos lipídicos durante la germinación en semillas de maíz. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 65 p.
- Rao, N. K. E., H. Roberts and R. H. Ellis. 1987. Loss of viability in lettuce seeds and the accumulation of chromosome damage under different storage conditions. *Ann. Bot.* 60: 85-96.
- Rathi, S. S., N. G. Shah, S. S. Zambre, V. H. Kalbadande, and K. V. Venkatesh. 2000. Respiration, sorption and germination of seeds stored in controlled atmosphere. *Seed Sci. Technol.* 28: 341-348.
- Roberts, E. H. 1978. Mutations during seed storage. *Acta Hort.* 83: 279-282.

- Roberts, E. H. 1981 Physiology of ageing and its applications to drying and storage. *Seed Sci. Technol.* 9: 359-371.
- Santacruz V., A. 1994. Conservación de germoplasma en diferentes ambientes y tipos de envase. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México. 162 p.
- Santacruz V., A.; A. Muñoz O., F. Castillo G. y A. Larqué S. 1997. Germinación de semillas de maíz, frijol, cacahuate y ajonjolí almacenadas en diferentes ambientes y tipos de envase. *Agrociencia.* 31(2):177-185.
- SAS Institute, 1999. SAS System for Windows, version 8.00. Cary, NC, USA.
- SEP. 1987. El Maíz, Fundamento de la Cultura Popular Mexicana. García Valadés editores. México, D. F. 114 p.
- Shieh, W. J. and M. B. McDonald. 1982. The influence of seed size, shape and treatment on inbred seed corn quality. *Seed Sci. Technol.* 10: 307-313.
- Singh, A. R. 1987. Relative storability of three seed grades under different storage environments in sorghum.
- Sirikwanchai, S. 1985. The effect of moisture and oxygen on the accumulation of chromosome damage in relation to loss of viability in stored onion (*Allium cepa* L.) seed. Reading University. 190 p.
- Solís, F. 1998. La cultura del maíz. Editorial Clío. México. 96 p.

- Sullivan, G. A. and D. A. Perry. 1976. Comparative field performance of plants developing from normal and abnormal seedlings of peanuts. *Peanut Sci.* 3(1): 29-31.
- Takayanagi, K., and J. F. Harrington. 1971. Enhancement of germination rate of aged seeds by ethylene. *Plant Physiol.* 47: 521-524.
- Vertucci, C. and E. E. Roos. 1993. Theoretical basis of protocols for seed storage II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Sci. Res.* 3: 201-213.
- Villiers, T. A. 1975. Genetic maintenance of seeds in imbibed storage. *In*: Frankel O. H. and J.G. Hawkes (eds.). *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Whab A. H. and J. S. Burris. 1971. Physiological and chemical differences in low and high quality soybean seeds. *Proc. Assoc. Off. Seed Anal.* 61:59-67.
- White, N. D. G., and D. S. Jayas. 1991. Factors affecting the deterioration of stored flaxseed including the potential of insect infestation. *Can. J. Plant Sci.* 71: 327-335.
- Woodstock, L. W., K. Furman, and T. Solomos. 1984. Changes in respiratory metabolism during aging in seeds and isolated axes of soybean. *Plant Cell Physiol.* 25: 15-26.

VIII. APÉNDICE

Cuadro A1. Cuadrados medios correspondientes al análisis de varianza.

Fuente de variación	G.L.	Contenido humedad	Viabilidad	Germinación	Plántulas anormales	Envejec.
Sp	2	238.12**	2684.08**	360.43**	6.39 NS	939.13**
Amb	3	654.31**	33258.77**	19699.82**	34.43**	22837.62**
Per	3	248.28**	15946.33**	13538.54**	165.43**	22660.37**
Sp*amb	6	87.24**	721.86**	218.15**	17.63**	459.33**
Sp*per	6	26.37**	446.41**	192.52**	12.73**	502.92**
Amb*per	9	204.17**	5182.25**	3684.51**	59.37**	3926.62**
Sp*amb*per	18	31.53**	569.67**	166.84**	17.76**	303.78**
Error	144	3.09	31.16	22.05	3.14	15.40
C. V.		13.09	7.15	5.88	69.17	7.50

Fuente de variación	G.L.	Velocidad germ.	Conductividad eléctrica	CO ₂	Etileno
Sp	2	9224.40**	208485.85**	1299.24**	101.51**
Amb	3	9736.01**	150600.19**	674.59*	54.90**
Per	3	624.99**	87217.15**	218.26 NS	3.00 NS
Sp*amb	6	889.46**	11048.44*	525.96*	55.22**
Sp*per	6	324.62**	26718.50**	888.47**	10.85**
Amb*per	9	1428.07**	87313.54**	142.93 NS	6.41*
Sp*amb*per	18	133.40**	24713.59**	220.24 NS	7.97**
Error	144	13.00	2328.88	238.36	2.73
C. V.		10.01	39.88	47.93	48.72

Sp= Especie; Amb= Ambiente de almacenamiento; Per= Periodo de almacenamiento
 NS, *, **= No significativo, Significativo al 5 % y Significativo al 1 % de probabilidad respectivamente.