

EFFECTO DEL PREACONDICIONAMIENTO Y EL SUSTRATO SALINO EN LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE MAÍZ (*Zea mays*) RAZA CHALQUEÑO

EFFECT OF PRIMING AND SALINE SUBSTRATE ON GERMINATION AND SEEDLING GROWTH OF CHALQUEÑO MAIZE (*Zea mays*)

Sergio Nicasio-Arzeta, M. Esther Sánchez-Coronado, Alma Orozco-Segovia, Alicia Gamboa-de Buen*

Departamento de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

El tratamiento pregerminativo de enterrar las semillas en el suelo tiene efectos positivos en la germinación y el establecimiento de las plántulas. Tratamientos pregerminativos al maíz (*Zea mays*) aumentan su germinación y el establecimiento de las plántulas en condiciones controladas y de estrés. Por tanto, pretratamientos germinativos en el suelo donde se cultivará esta especie podría incrementar la emergencia. En este estudio se evaluó la imbibición de semillas enterradas en suelo salino y no salino y de semillas con preacondicionamiento hídrico. La imbibición se evaluó nuevamente durante la germinación incluyéndose semillas sin pretratamiento (testigo). Las plántulas resultantes se sembraron en macetas con suelo salino y no salino en una casa de sombra (diseño experimental 4 × 2). A los 11, 15, 18 y 22 d después de la siembra se midió la altura, número de hojas, área foliar, biomasa de la raíz, tallo, hojas y total y se calculó la proporción de: área foliar, masa foliar, masa del tallo y raíz/vástago. Se realizó análisis de varianza con los datos de a contenidos finales de agua, porcentajes de germinación, velocidades de imbibición y de germinación y variables de crecimiento. Para conocer las diferencias entre los tratamientos se aplicó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los tratamientos pregerminativos en ambos suelos incrementaron la velocidad máxima y porcentaje final de germinación y la acumulación de biomasa. En condiciones salinas el crecimiento de las plántulas provenientes de semillas tratadas en suelo salino fue mejor. Por tanto, el tipo de suelo utilizado en el pretratamiento confiere a las plántulas ventajas al crecer en el mismo tipo de suelo, aún cuando las condiciones sean adversas.

Palabras clave: estrés salino, preacondicionamiento hídrico, preacondicionamiento natural, vigor de las plántulas.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: Julio, 2010. Aprobado: Enero, 2011.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 45: 195-205. 2011.

ABSTRACT

The pregerminative treatment of burying seeds in the soil has a positive effect on germination and seedling establishment. The pregerminative treatments applied to maize (*Zea mays*) increase their germination and seedling establishment under controlled and stress conditions. Therefore, the pretreatment germination in the soil where this species will be cultivated might increase seedling establishment. In this study, the imbibition of seeds buried in saline and non saline soil and of seeds with hydropriming was assessed. Imbibition was reassessed during germination including seeds without pretreatment (control). The seedlings obtained were planted in pots with saline and non saline soil in a shade house (experimental design 4 × 2). At 11, 15, 18 and 22 d after sowing, height, leaf number, leaf area, root, stem, leaves and total biomass were calculated, as well as the ratio of: leaf area, leaf mass, stem mass and root/shoot. The analysis of variance was applied to data of final contents of water, germination percentage, imbibition and germination rates and growth variables. To know the differences between treatments the Tukey test ($p \leq 0.05$) was applied. Pretreatment in both soils increased the maximum rate and final germination percentage and biomass accumulation. Seedling growth from seeds treated in saline soil recorded better results. Therefore, the type of soil used in the pretreatment confers advantages to seedlings grown in the same soil type, even when conditions are adverse.

Key words: saline stress, hydropriming, natural priming, seedling vigor.

INTRODUCTION

Priming is a pretreatment that is mainly applied to agricultural seeds placing them for a certain time in osmotic solutions or solid

INTRODUCCIÓN

El preacondicionamiento es un tratamiento pregerminativo que se aplica principalmente a semillas agrícolas colocándolas por un tiempo determinado en soluciones osmóticas o en matrices sólidas, de manera que puedan absorber agua y solutos e iniciar los procesos metabólicos correspondientes a la fase temprana de la germinación, pero previene la protrusión de la radícula (Heydecker *et al.*, 1973). Estos tratamientos pregerminativos promueven la sincronización e incrementan la velocidad de germinación de la población de semillas. En algunas especies el preacondicionamiento también aumenta la velocidad de crecimiento y el porcentaje de sobrevivencia de las plántulas durante su establecimiento aún en condiciones ambientales adversas (McDonald, 2000; Sánchez *et al.*, 2001; Butola y Badola, 2004). Los patrones de crecimiento y la asignación de los recursos a las distintas estructuras de la plántula también pueden ser afectados por los tratamientos pregerminativos (Iqbar y Ashraf, 2005; Zhang *et al.*, 2007; Farooq *et al.*, 2010).

En el maíz (*Zea mays*) el preacondicionamiento incrementa la velocidad y el porcentaje final de germinación (McDonald, 2000; Moradi-Dezfuli *et al.*, 2008; Guan *et al.* 2009). En esta especie también se han realizado estudios para promover la germinación y el establecimiento de plántulas en diferentes condiciones de estrés (Farooq *et al.*, 2008). El tratamiento de osmoacondicionamiento con NaCl, KCl, y CaCl₂ aumenta la velocidad y el porcentaje final de germinación en condiciones de estrés salino con respecto al testigo y al tratamiento de preacondicionamiento hídrico; además incrementa la biomasa final de plúmulas y radículas (Ashraf y Rauf, 2001).

El preacondicionamiento en matriz sólida se aplica embebiendo las semillas en un material sólido con potencial mátrico bajo, solubilidad nula, retención del agua y proporción superficie-volumen altas. Este tratamiento emula el proceso natural de imbibición de las semillas mediado por las partículas del suelo (McDonald, 2000). Sin embargo, las semillas con este tratamiento no están sujetas a las variaciones ambientales. Un tratamiento de preacondicionamiento en matriz sólida, que consiste en enterrar las semillas en arena humedecida, promueve la germinación y el establecimiento de las plántulas de maíz en condiciones de estrés salino (Zhang *et al.*, 2007).

matrices, so that they can absorb water and solutes and initiate the metabolic processes corresponding to the early phase of germination, but preventing radicle protrusion (Heydecker *et al.*, 1973). These pregerminative treatments promote synchronization and increase the germination rate of seed population. In some species, priming also increases the growth rate and survival percentage of seedlings during their establishment, even in adverse environmental conditions (McDonald, 2000, Sanchez *et al.*, 2001, Butola and Badola, 2004). The growth patterns and resource allocation to the different seedling structures may also be affected by pretreatment (Iqbar and Ashraf, 2005, Zhang *et al.*, 2007, Farooq *et al.*, 2010).

In maize (*Zea mays*) priming increases the rate and the final percentage of germination (McDonald, 2000; Moradi-Dezfuli *et al.*, 2008, Guan *et al.* 2009). Studies on this species have also been conducted to promote germination and seedling establishment in different stress conditions (Farooq *et al.*, 2008). The osmopriming treatment with NaCl, KCl, and CaCl₂ increases the speed and the final percentage of germination in salt stress conditions compared to the control and hydropriming treatment; it also increases the final biomass of plumules and radicles (Ashraf and Rauf, 2001).

Priming in solid matrix is applied by soaking the seeds in a solid material with low matric potential, no solubility, water retention and high surface-volume ratio. This treatment emulates the natural process of seed imbibition mediated by soil particles (McDonald, 2000). However, with these treatment seeds are not subject to environmental variations. A priming treatment in solid matrix, consisting in burying the seeds in moist sand, promotes germination and the establishment of maize seedlings under conditions of salt stress (Zhang *et al.*, 2007).

Natural priming is based on the effect caused by the exposure of seeds to hydration-drying processes occurring in the soil, during their permanence in the seed bank, and consists of burying the seed lots for a while limited by the time of dispersal and establishment of rainfall (González-Zertuche *et al.*, 2001). This treatment has been successfully used in wild plants and for ecological restoration purposes (González-Zertuche *et al.*, 2000, González-Zertuche *et al.*, 2001, Orozco-Segovia *et al.*, 2007). Natural

El precondicionamiento natural es un tratamiento basado en el efecto que causa la exposición de las semillas a los procesos de hidratación-deseccación que ocurren en el suelo, durante su estancia en el banco de semillas; y consiste en enterrar los lotes de semillas durante un tiempo delimitado por el momento de la dispersión y el establecimiento de las lluvias (González-Zertuche *et al.*, 2001). Este tratamiento se ha usado exitosamente (González-Zertuche *et al.*, 2000; González-Zertuche *et al.*, 2001; Orozco-Segovia *et al.*, 2007) en plantas silvestres y con fines de restauración ecológica. El precondicionamiento natural rompe la latencia, incrementa la velocidad de germinación y aumenta el porcentaje de sobrevivencia y de establecimiento de las plántulas (González-Zertuche *et al.*, 2000; González-Zertuche *et al.*, 2001; Orozco-Segovia *et al.*, 2007), debido a que promueve los eventos metabólicos relacionados con la fase temprana de la germinación (Gamboa-deBuen *et al.*, 2006).

El objetivo del presente estudio fue evaluar un tratamiento que combina el precondicionamiento natural con el acondicionamiento en matriz sólida al enterrar las semillas en dos tipos diferentes de suelo, uno no salino y otro salino, y determinar su efecto en la germinación y el crecimiento de las plántulas de maíz de la raza Chalqueño. Los maíces de esta raza son tolerantes a la sequía y se cultivan en los Valles Altos Centrales de México (Romero Peñaloza *et al.*, 2002). La hipótesis fue que el precondicionamiento natural en suelo salino es un precondicionamiento en matriz sólida que aumenta la capacidad y velocidad germinativa y genera plántulas vigorosas con mayor tolerancia a la salinidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El suelo salino (4.933 ± 0.242 dS m⁻¹) se obtuvo de parcelas experimentales del Colegio de Postgraduados en el municipio de Texcoco, Estado de México (agosto del 2009). El suelo del testigo fue adquirido en los Viveros de Coyoacán, México, y sus niveles salinos fueron indetectables (Cuadro 1). El estudio se realizó con

priming breaks dormancy, increases the germination rate and the percentage of survival and seedling establishment (González-Zertuche *et al.*, 2000, González-Zertuche *et al.*, 2001, Orozco-Segovia *et al.* 2007), because it promotes the metabolic events related to the early stage of germination (Gamboa-de Buen *et al.*, 2006).

The objective of this study was to evaluate a treatment that combines natural priming with conditioning in solid matrix by burying the seeds in two different soil types, non-saline and saline, and determine its effect on germination and the growth of Chalqueño maize seedlings. This maize race is tolerant to drought and is grown in the Central Highlands of Mexico (Romero Peñaloza *et al.*, 2002). The hypothesis was that natural priming in saline soil is a preconditioning in solid matrix that increases germination capacity and rate and generates vigorous seedlings with greater tolerance to salinity.

MATERIALS AND METHODS

Saline soil (4.933 ± 0.242 dS m⁻¹) was obtained from experimental plots of the Colegio de Post-graduados in the municipality of Texcoco, Estado de México (August 2009). The soil of the control was acquired in the Viveros de Coyoacán, México, and salinity levels were undetectable (Table 1). The study was conducted with Chalqueño maize seeds harvested in 2008, purchased at a market in Chalco, Mexico, and stored at 4 °C until use, in early 2009.

Pregerminative treatments

Seeds were placed in a plastic mesh bag and buried 5 cm deep for 24 h in 1 L pots with saline (ES) and non saline soil (ENS), with no lumps. The pots were kept in a shade house (21.3 ± 7 °C) of the Instituto de Ecología (Institute of Ecology) of the Universidad Nacional Autónoma de México, México. The field capacity was recorded. After 24 h the seeds were extracted and cleaned superficially. For hydropriming, seeds were placed in 2 L of distilled water in a germination chamber (125L Convion

Cuadro 1. Características de los suelos utilizados.
Table 1. Characteristics of the soils used.

Suelo	C total (%)	N total (%)	pH 1:2.5	Conductividad (dS m ⁻¹)
Salino	2.08 ± 0.08	0.16 ± 0.004	9.48 ± 0.03	4.9333 ± 0.2419
No salino	14.56 ± 0.54	0.8 ± 0.002	5.74 ± 0.05	0

semillas de maíz raza chalqueño cosechadas en 2008, adquiridas en un mercado de Chalco, México, y fueron almacenadas a 4 °C hasta su uso, a principios de 2009.

Tratamientos pregerminativos

Las semillas se colocaron en una bolsa de malla plástica y se enterraron a 5 cm de profundidad por 24 h en macetas de 1 L con suelo salino (ES) y no salino (ENS), sin terrones. Las macetas se mantuvieron en una casa de sombra (21.3±7 °C) del Instituto de Ecología de la Universidad Autónoma de México, México. La capacidad de campo se registró, después de 24 h se extrajeron las semillas y se limpiaron superficialmente. Para el preacondicionamiento hídrico las semillas se colocaron en 2 L de agua destilada, en una cámara de germinación (Convicon 125, Winnipeg, Canadá) a 8 °C (temperatura que permite reducir la energía libre del agua y por tanto retrasar la germinación; Sánchez *et al.*, 2001) y en oscuridad por 24 h. Después de retirar las semillas del agua se secaron sobre papel absorbente por 4 d a temperatura ambiente (22 °C±1.8) para que alcanzaran su contenido de humedad inicial (8.48±0.56). Todo el proceso se efectuó en oscuridad.

Germinación

Las semillas de cada pretratamiento y el testigo (semillas sin pretratamiento) se sembraron en cajas petri con papel filtro humedecido permanentemente con agua y, tres réplicas con 50 semillas cada una. Las semillas se mantuvieron en la cámara de germinación a 20 °C con fotoperiodo largo (16 h luz y 8 h oscuridad). La germinación se registró cada 6 h durante 72 h.

Curvas de imbibición durante el preacondicionamiento y durante la germinación

Durante los pretratamientos y la germinación se evaluó la imbibición durante 24 h. Cada 2 h se registró el peso fresco (PF) individual de 15 semillas por tratamiento. El peso seco (PS) de cada semilla se obtuvo después de mantenerlas 48 h a 70 °C. El incremento en contenido de humedad se determinó como: $CH = ((PF - PS)/PS) \times 100$. La velocidad de imbibición corresponde a la primera deriva máxima de la función ajustada (tasa máxima).

Crecimiento

Por cada tratamiento se trasplantaron individualmente 72 plántulas, en macetas con 1 L de suelo salino y no salino, y se mantuvieron en la casa de sombra. Las macetas se llenaron con 1 L de suelo no salino o salino. Todas las plántulas se regaron inicialmente a capacidad de campo y después diariamente con

Winnipeg, Canada) at 8 °C (temperature which reduces the free energy of water and thus delays germination; Sánchez *et al.*, 2001) and in darkness for 24 h. After removing the seeds from water, they were dried on absorbent paper for 4 d at room temperature (22 °C±1.8 °C) to have them reach their initial moisture content (8.48±0.56 %). The whole process was conducted in the dark.

Germination

The seeds of each pretreatment and the control (seeds without pretreatment) were sown in petri dishes with filter paper moistened permanently with water and three replicates with 50 seeds each. Seeds were kept in the germination chamber at 20 °C with a long photoperiod (16 h light / 8 h dark). Germination was recorded every 6 h for 72 h.

Imbibition curves during preconditioning and germination

During pretreatments and germination imbibition was evaluated for 24 h. Every 2 h the individual fresh weight (FW) of 15 seeds per treatment was recorded. The dry weight (DW) of each seed was obtained after keeping them for 48 h at 70 °C. The increase in moisture content dry basis was determined as: $CH = ((PF - PS)/PS) \times 100$. The imbibition speed corresponds to the first maximum derivative of the adjusted function (maximum rate).

Growth

For each treatment 72 seedlings were transplanted individually in pots with 1 L of saline soil and non saline soil, and kept in the shade house. Pots were filled with 1 L of non saline or saline soil. All seedlings were initially watered to field capacity and daily thereafter with 270 mL of water. This produced eight treatments: control seeds germinating in saline or non saline soil (CS and CNS), seeds with hydropriming germinating in saline (PHS) or non saline soil (PHNS); naturally preconditioned seeds buried in saline soil and non saline soil (natural priming), while germinating in both soils (ESS, ESNS, ENSS, ENSNS).

To assess growth 12 seedlings per treatment and type of soil were harvested at 11, 15, 18 and 22 d after transplantation. Height, leaf number and foliage area were measured. Also the biomass of the root, stem and leaves was determined (after keeping them at 70 °C for 48 h). The allometric variables were calculated using the following relationships (Hunt, 1982):

Leaf area ratio (LAR)----- leaf area / total dry mass
Leaf mass ratio (LMR)----- dry leaf biomass / total dry biomass
Stem mass ratio (SMR)----- stem dry biomass / total dry biomass

270 mL de agua. Así se generaron ocho tratamientos: semillas testigos germinando en suelo salino o no salino (CS y CNS), semillas con precondicionamiento hídrico germinando en suelo salino (PHS) o y no salino (PHNS), semillas precondicionadas naturalmente enterradas en suelo salino y en suelo no salino (precondicionamiento natural), y a la vez, germinando en ambos suelos (ESS, ESNS, ENSS, ENSNS).

Para evaluar el crecimiento se cosecharon 12 plántulas por tratamiento y por tipo de suelo a los 11, 15, 18 y 22 d después del trasplante. Se midió la altura, el número de hojas y el área foliar. También, se determinó, la biomasa de la raíz, el tallo y las hojas (después de mantenerlos a 70 °C por 48 h). Las variables alométricas se calcularon con las siguientes relaciones (Hunt, 1982):

Proporción de área foliar (LAR)-----Área foliar/masa seca total
 Proporción de masa foliar (LMR)-----Biomasa seca hoja/biomasa seca total
 Proporción de masa del tallo (SMR)-----Biomasa seca tallo/biomasa seca total
 Proporción raíz-parte aérea (R/V)-----Biomasa seca raíz/biomasa seca parte bástago

Análisis estadísticos

Los ajustes de las curvas de imbibición ($y=a+bx^2 + cx^{0.5}$, $y=a+bx^x$) y de germinación ($y=al(1+b^{(-cx)})$) se hicieron con el programa Table Curve versión 2.1 (INC., Chicago, IL, USA). Se realizó análisis de varianza ANOVA y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para conocer las diferencias entre los contenidos finales de agua, porcentajes de germinación, velocidad de imbibición y de germinación y variables de crecimiento. Previamente se comprobó el cumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas y en el caso de los dos primeros se hizo la transformación angular de los datos en porcentaje (Zar, 1974). Cuando no se cumplieron los requerimientos para hacer el ANOVA, se hicieron análisis de Kruskal-Wallis. Los análisis estadísticos se hicieron con los programas STATISTICA 8 (StatSoft, Tulsa, USA) y STATGRAPHICS 2.0 (Rockville, MD, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Germinación

Los tratamientos pregerminativos (semillas con precondicionamiento hídrico (PH), semillas enterradas en suelo no salino (ENS) y semillas enterradas en suelo salino (ES)), no afectaron la velocidad de imbibición respecto al testigo (Figura 1A). En todos los casos, la pendiente de la curva fue pronunciada

Shoot-root ratio (R / S)----- root dry biomass / shoot-dry biomass

Statistical analysis

The adjustments of the imbibition curves ($y=a+bx^2 + cx^{0.5}$, $y=a+bx^x$) and germination ($y=al(1+b^{(-cx)})$) were made with the Table Curve program version 2.1 (INC., Chicago, IL, USA). ANOVA and Tukey test ($p \leq 0.05$) were performed to learn about the differences between the final water content, germination percentages, rate of imbibition and germination and growth variables. The fulfillment of the assumptions of normality and homogeneity of variance were previously tested, and in the case of the first two the angular transformation of data into percentages was made (Zar, 1974). Since the requirements to perform ANOVA were not met, the Kruskal-Wallis analyses were made. Statistical analyses were conducted with the programs STATISTICA 8 (StatSoft, Tulsa, USA) and STATGRAPHICS 2.0 (Rockville, MD, USA).

RESULTS AND DISCUSSION

Germination

The pretreatments (seeds with hydropriming (PH), seeds buried in non saline soil (ENS) and seeds buried in saline soil (ES)) did not affect imbibition rate in relation to the control (Figure 1A). In all cases, the slope of the curve was steep during the first 2 h due to the rapid absorption of water; then the input stabilized. This behavior has been described by Bewley and Black (1994). The maximum rate of imbibition showed no significant differences between treatments ($H = 4.177$; $p = 0.12$), while the final water content in ES seeds was higher than in the other treatments ($F_{(3,56)} = 2260.6$; $p = 0.001$), probably as a result of the accumulation of sodium in the cells. Pretreatments did affect the speed of imbibition in the first 24 h of germination and was significantly higher in ES seeds (Figure 1B). That is, these seeds have lower water potential than the other treatments and the control, probably due to the accumulation of solutes during the matric priming treatment in saline soil.

Pretreatments also affected the final percentage of germination (Figure 2A), average time (Figure 2B) and the maximum rate of germination (Figure 2B). The control exhibited 80 % germination, while seeds with priming increased germination to 85 %. Therefore, the germination of maize went from being out of the norm to standard performance.

durante las primeras 2 h debido a la absorción rápida de agua, y después la entrada se estabilizó. Este comportamiento ha sido descrito por Bewley y Black (1994). La velocidad máxima de imbibición no presentó diferencias significativas entre los pretratamientos ($H = 4.177$; $p = 0.12$), mientras que el contenido final de agua en las semillas ES fue mayor que en los otros tratamientos ($F_{(3,56)} = 2260.6$; $p = 0.001$), probablemente como resultado de la acumulación de sodio en las células. Los pretratamientos sí afectaron la velocidad de imbibición en las primeras 24 h de la germinación y fue significativamente mayor en las semillas ES (Figura 1B). Es decir, estas semillas presentan potencial hídrico menor que los otros tratamientos y el testigo, probablemente debido a la acumulación de solutos durante el tratamiento de acondicionamiento mátrico en suelo salino.

Los tratamientos pregerminativos también afectaron el porcentaje final de germinación (Figura 2A), el tiempo medio (Figura 2B) y la velocidad máxima de germinación (Figura 2B). El testigo presentó 80 % de germinación, mientras que las semillas con preacondicionamiento aumentaron su germinación a 85 %. Por tanto, la germinación del maíz pasó de estar fuera de norma a estar dentro de ella.

El tiempo promedio de germinación de los tratamientos fue significativamente diferente ($F_{(3,12)} = 33.475$; $p = 0.001$). El porcentaje final de germinación fue significativamente mayor en las semillas ENS y ES ($F_{(3,12)} = 13.03$; $p = 0.001$) e iniciaron la germinación en un tiempo menor (24 h). Este incremento de las variables germinativas es comparable al descrito en maíz, en otras especies cultivadas y en plantas silvestres debido a tratamientos pregerminativos diversos (McDonald, 2000; Moradi-Dezfuli *et al.*, 2008). Contrario a lo esperado, las semillas PH tuvieron la velocidad de germinación menor (Figura 2B). Esto podría deberse a la temperatura durante el PH, a pesar de que es usual que se aplique a temperaturas bajas, hasta 5 °C (González-Zertuche *et al.* 2000) para aumentar el tiempo de imbibición y dar tiempo para permitir los avances metabólicos propios de la fase II de la germinación, como síntesis de proteínas, reparación y síntesis de ADN y ARN (Bewley y Black, 1994). En algunos estudios los tratamientos de preacondicionamiento de maíz se han realizado a 15 °C (Guan *et al.* 2009).

El efecto favorable del preacondicionamiento natural en el maíz está relacionado con la absorción

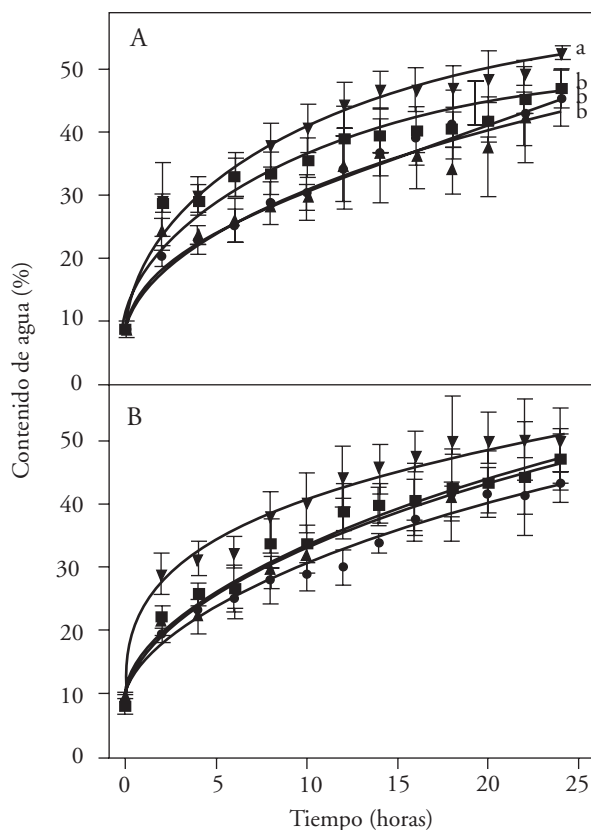


Figura 1. Imbibición de semillas de maíz Chalqueño durante las primeras 24 h de la germinación. A): Semillas enterradas en suelo salino (ES, ▽) y en suelo no salino (ENS, ■), y testigo (semillas sin pretratamiento, C, ●), puestas a embeber simultáneamente con semillas con preacondicionamiento hídrico (PH, ▲). B): Semillas ES, ENS, C y PH durante las primeras 24 h de la germinación. Las letras distintas al final de las curvas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Se muestran los valores promedio ($n=12$) y la desviación estándar.

Figure 1. Chalqueño maize seed imbibition during the first 24 h of germination. A): Seeds buried in saline soil (ES, ▽) and non saline soil (ENS, ■), and control (seeds without pretreatment, C, ●), put to soak simultaneously with seeds under hydropriming (PH, ▲). B): ES, ENS, C and PH seeds during the first 24 h of germination. Different letters at the end of the curves indicate significant differences ($p \leq 0.05$). The average values ($n=12$) and standard deviation are shown.

The average germination time of treatments was significantly different ($F_{(3,12)} = 33.475$; $p = 0.001$). The final germination percentage was significantly higher in the ENS and ES seeds ($F_{(3,12)} = 13.03$; $p = 0.001$). The ES seeds recorded a maximum germination rate significantly higher than the other treatments

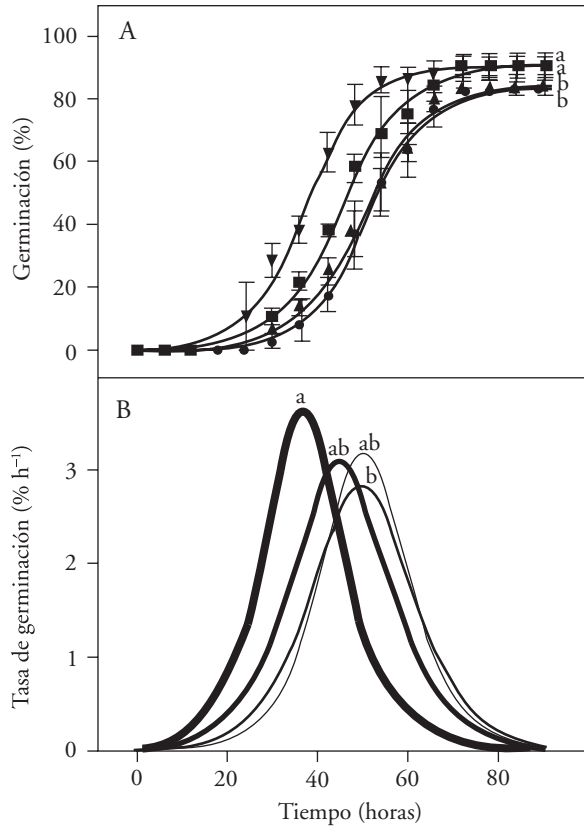


Figura 2. Germinación acumulada (A) y velocidad de germinación (B) de semillas de maíz Chalqueño. Semillas enterradas en suelo salino (ES, ▽, ▬) y en suelo no salino (ENS, ■, ▬), precondicionamiento hídrico (PH, ▲, —) y semillas sin pretratamiento (testigo, C, ●, —). Las letras distintas al final o sobre las curvas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Se muestran los valores promedio ($n=12$) y la desviación estándar.

Figure 2. Cumulative germination (A) and germination rate (B) of Chalqueño maize seeds. Seeds buried in saline soil (ES, ▽, ▬) and non saline soil (ENS, ■, ▬), hydropriming (PH, ▲, —) and seeds without pretreatment (control, C, ●, —). Different letters at the end or on the curves indicate significant differences ($p \leq 0.05$). Average values ($n=12$) and standard deviation are shown.

lenta de agua a las partículas del medio, como en el precondicionamiento en matrices sólidas, con arena (Zhang *et al.*, 2007) o con vapor de agua (Sánchez *et al.*, 2001).

Crecimiento

Los tratamientos pregerminativos no afectaron las variables alométricas después de 11 d de crecimiento de las plántulas (datos no mostrados); en contraste, el suelo salino si alteró las variables alométricas como

($F_{(3,12)} = 4:742$; $p = 0.020$), and initiated germination in a shorter time (24 h). This increase in germination variables is comparable to that described in maize, other cultivated species and wild plants due to different pretreatments (McDonald, 2000; Moradi-Dezfuli *et al.*, 2008). Contrary to expectations, PH seeds had a lower germination rate (Figure 2B). This could be due to temperature for PH, although it is usual to apply it at low temperatures up to 5 °C (González-Zertuche *et al.* 2000) to increase imbibition time and give time to allow metabolic progress that is characteristic of germination phase II, like protein synthesis, DNA and RNA repair and synthesis (Bewley and Black, 1994). In some studies, maize priming treatments have been conducted at 15 °C (Guan *et al.* 2009).

The favorable effect of natural priming in maize is related to the slow absorption of water by the particles of the substrate, as in the preconditioning performed in solid matrices, with sand (Zhang *et al.*, 2007) or steam (Sánchez *et al.*, 2001).

Growth

Pregerminative treatments did not affect allometric variables after 11 d of seedling growth (data not shown); in contrast, saline soil did change allometric variables as described by Zhang *et al.* (2007). In particular, the growth of roots diminished in salt stress conditions. After 22 d of growth, the effect of saline soil on SMR was higher and pretreatments also had a significant effect. None of the seedlings showed symptoms of nitrogen deficiency. The allocation of biomass to the stem was higher in plants grown in saline soil. However, the SMR was always lower in ESS, ESNS, ENSS and ENSNS treatments, mainly in plants grown in non saline soil. This indicates that in these treatments seedlings allocated more biomass to photosynthetic surface or root than the stem (Table 2).

Biomass accumulation in seedlings was similar between the pretreatments, and after 11 d of growth there was no significant effect on biomass due to pretreatments or local growth soil (Figure 3). However, after 22 d both factors had significant effect ($F_{(3, 95)}=7.56$; $p=0.001$ and $F_{(1, 95)}=16.60$; $p=0.001$); also the interaction between both factors was significant ($F_{(3, 05)} = 6.06$; $p = 0.001$).

Seed burying (natural priming) promoted germination and biomass accumulation of seedlings

lo describió Zhang *et al.* (2007). En particular, el crecimiento de la raíz disminuyó en condiciones de estrés salino. Después de 22 d de crecimiento, el efecto del suelo salino en SMR fue mayor y los tratamientos pregerminativos también tuvieron un efecto significativo. Ninguna de las plántulas presentó síntomas de deficiencia de nitrógeno. La asignación de biomasa al tallo fue mayor en las plantas crecidas en suelo salino. Sin embargo, el SMR siempre fue menor en los tratamientos ESS, ESNS, ENSS y ENSNS, principalmente en las plantas que crecieron en suelo no salino. Lo anterior indica que en estos tratamientos la plántulas asignaron más biomasa para la superficie fotosintética o a la raíz, que al tallo (Cuadro 2).

La acumulación de biomasa en las plántulas fue similar entre los pretratamientos y después de 11 d de crecimiento no hubo efecto significativo en la biomasa debido a los pretratamientos, o suelo de crecimiento (Figura 3). Sin embargo, después de 22 d ambos factores tuvieron efecto significativo ($F_{(3, 95)} = 7.56$;

with salt stress, as described with other pregerminative treatments (Iqbar and Ashraf, 2005, Zhang *et al.*, 2007, Moradi-Dezfuli *et al.*, 2008). However, the higher biomass volumes were obtained in seedlings of ENS seeds that grew in non saline soil and to a lesser extent in the ES seeds that grew up in saline soil. This indicates that the type of soil used in the pretreatment affects seedlings growth, which depends on the type of soil in which they grow.

In the wild species *Wigandia urens* and *Buddleia cordata* germination and emergence (indicator of their vigor) were improved by the natural preconditioning of seeds sown in the same site of application (Ajusco and Reserve of Pedregal de San Angel, México City) (González-Zertuche, 2005). This was interpreted as the accumulation, at the molecular level, of information in the seeds over the conditions that surround them throughout history, and the embryo preparation to face the environmental conditions to be found during germination and early growth

Cuadro 2. Efecto de los tratamientos pregerminativos y del suelo en el crecimiento de plántulas de maíz.
Table 2. Effect of pretreatments and soil treatment on the growth of maize seedlings.

Variable	Suelo	Valores	F(p)	Tratamiento	Valores	F(p)
Proporción de masa foliar (g_{hoja}/g_{planta})	No salino	0.2344 b	8.51 (0.0045)	T	-	N.S.
	Salino	0.2691 a		PH	-	
Proporción de área foliar (g_{planta}/cm^2)	No salino	0.0092 a	6.22 (0.0145)	ESNS	-	N.S.
				ESS	-	
	Salino	0.0077 b		T	-	
				PH	-	
Proporción raíz/parte aérea	No salino	1.6451 a	36.26 (0.00001)	ESNS	-	N.S.
				ESS	-	
	Salino	0.9154 b		T	-	
				PH	-	
Proporción de masa del tallo (g_{tallo}/g_{planta})	No salino	0.1730 b	85.07 (0.00001)	ESNS	-	9.75 (0.00001)
				ESS	-	
	Salino	0.2702 a		T	-	
				PH	-	

T: testigo (semillas sin pretratamiento), PH: preconditionamiento hídrico, ESNS: semillas enterradas en suelo no salino, ESS: semillas enterradas en suelo salino. Valores seguidos por letras diferentes son significativamente distintos ♦ T: control (seeds without pretreatment), PH: hydropriming, ESNS: seeds buried in non saline soil, ESS: seeds buried in saline soil. Values followed by different letters are significantly different.

$p=0.001$ y $F_{(1,95)}=16.60$; $p=0.001$); además, la interacción entre ambos factores fue significativa ($F_{(3,95)} = 6.06$; $p=0.001$).

El enterramiento de las semillas (precondicionamiento natural) promovió la germinación y la acumulación de biomasa de las plántulas con estrés salino, como se ha descrito con otros tratamientos pregerminativos (Iqbar y Ashraf, 2005; Zhang *et al.*, 2007; Moradi-Dezfuli *et al.*, 2008). Sin embargo, las biomásas mayores se obtuvieron en plántulas de semillas ENS que crecieron en suelo no salino y en menor proporción en las ES que crecieron en suelo salino. Esto indica que el tipo de suelo usado en el pretratamiento incide sobre el desarrollo de la plántula, el que depende del tipo de suelo en el que crecerá.

En las especies silvestres *Wigandia urens* y *Buddleia cordata* la germinación y emergencia (indicador de su vigor) fueron mejoradas por el precondicionamiento natural de las semillas sembradas en el mismo sitio de aplicación (Ajusco y Reserva del Pedregal de San Ángel, México, D.F.) (González-Zertuche, 2005). Lo anterior se interpretó como la acumulación, en el nivel molecular, de información en las semillas de las condiciones que la rodean a lo largo de su historia, y que prepara al embrión para enfrentar las condiciones ambientales que encontrará durante la germinación y el crecimiento inicial (Gamboa-deBuen *et al.*, 2006). Al aplicar diferentes tipos de precondicionamiento en laboratorio hubo mejores resultados al cambiar con alguna otra condición de estrés, como calor o salinidad (Bennett, 2004). A pesar de que las plántulas de las semillas ENS sembradas en suelo no salino produjeron más biomasa respecto al testigo y a ES, su crecimiento fue pobre en suelo salino respecto a ES. En contraste, el precondicionamiento hídrico generó la misma cantidad de biomasa respecto al testigo. Este resultado es similar a la respuesta germinativa y confirma que hay otros factores involucradas en ella. Estos resultados confirman la necesidad de realizar más evaluaciones para optimizar el uso del precondicionamiento hídrico. En contraste, enterrar las semillas en el suelo apropiado y a temperatura ambiente, como pretratamiento, es simple y se podría recomendar para su uso en mayor escala.

CONCLUSIONES

Enterrar las semillas durante 24 h en el suelo húmedo del sitio en el que va a crecer la planta, como

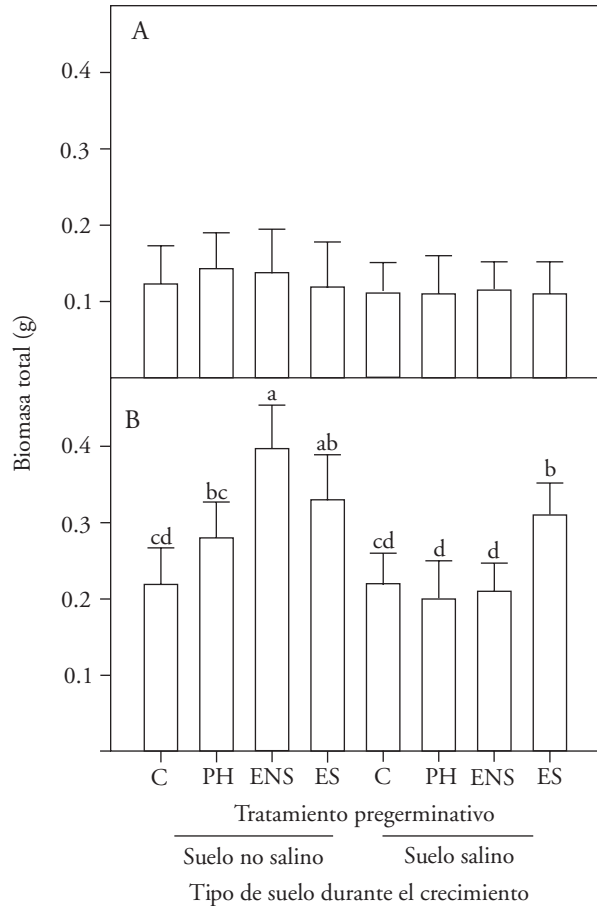


Figura 3. Biomasa total de plántulas de maíz Chalqueño. Las semillas fueron enterradas en suelo salino (ES) y en suelo no salino (ENS), precondicionadas hídrico (PH) y testigo (C, semillas sin pretratamiento). A: 11 d de edad y B: 22 d de edad. Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Se muestran los valores promedio ($n=12$) y la desviación estándar.

Figure 3. Total biomass of Chalqueño maize seedlings. Seeds were buried in saline soil (ES) and non saline soil (ENS), hydropriming (PH) and control (C, seeds without pretreatment). A: 11 d of age and B: 22 d of age. Different letters above bars indicate significant differences ($p \leq 0.05$). The average values ($n=12$) and standard deviation are shown.

(Gamboa-de Buen *et al.*, 2006). By applying different types of priming in the laboratory there were better results by combining them to any other stress condition, such as heat or salinity (Bennett, 2004). Although seedlings from ENS seeds planted in non saline soil produced more biomass than the control and ES, their growth in saline soil was poor compared to ES. In contrast, hydropriming generated the same

tratamiento pregerminativo (preacondicionamiento natural en matriz sólida), en condiciones de casa de sombra y secarlas en la oscuridad es un pretratamiento sencillo y económico que permite que las semillas aumenten su capacidad y velocidad de germinación. El enterramiento de las semillas también mejora el crecimiento de las plántulas en condiciones similares a las que se exponen durante el enterramiento.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por los proyectos PAPIIT-UNAM IN 228109 y SEP-CONACyT 60304 otorgados a Alicia Gamboa-deBuen.

LITERATURA CITADA

- Ashraf, M., and H. Rauf. 2001. Inducing salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) through seed priming with chloride salts: Growth and ion transport at early growth stages. *Acta Physiol. Plant.* 23: 407-414.
- Bennett, M. A. 2004. Seed and agronomic factors associated with germination under temperature and water stress. *In: Handbook of Seed Physiology. Applications to Agriculture.* Benech-Arnold, R. L. and R. A. (eds). The Haworth Reference Press, New York. pp: 97-114.
- Bewley, D. J., and M. Black. 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination.* 2° ed. Plenum Press. 445 p.
- Butola, J. S., and H. K. Badola. 2004. Effect of pre-sowing treatment on seed germination and seedling vigour in *Angelica glauca*, a threatened medicinal herb. *Curr. Sci.* 87: 796-796.
- Farooq, M., T. Aziz, S. M. A. Basra, M. A. Cheema, and H. Rehman. 2008. Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. *J. Agron. Crop. Sci.* 194: 161-168.
- Farooq M., A. Wahid, N. Ahmad, and S. P. Asad. 2010. Comparative efficacy of surface drying and re-drying seed priming in rice: changes in emergence, seedling growth and associated metabolic events. *Paddy Water Environ.* 8: 15-22.
- Gamboa-deBuen, A., R. Cruz Ortega, E. Martínez-Barajas, M. E. Sánchez-Coronado, and A. Orozco-Segovia. 2006. Natural priming as an important metabolic event in the life history of *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae) seeds. *Physiol. Plant.* 128: 520-231.
- González-Zertuche, L. 2005. Tratamientos de endurecimiento en semillas de *Buddleja cordata* (Loganiaceae) y *Wigandia Urens* (Hydrophyllaceae), dos especies útiles para reforestar o restaurar áreas perturbadas. Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Zertuche, L., A. Orozco-Segovia, y C. Vázquez-Yanes. 2000. El ambiente de la semilla en el suelo: su efecto en la germinación y en la sobrevivencia de la plántula. *Bol. Soc. Bot. Mex.* 65: 73-81.
- González-Zertuche, L., C. Vázquez-Yanes, A. Gamboa, M. E. Sánchez-Coronado, P. Aguilera, and A. Orozco-Segovia. 2001. Natural priming of *Wigandia urens* seeds during amount of biomass compared to control. This result is similar to the germination response and confirms that there are other factors involved in it. These results confirm the need to conduct further evaluation to optimize the use of hydropriming. In contrast, burying seeds in the right soil and at environmental temperature as a pretreatment is simple and could be recommended for use at larger scale.

CONCLUSIONS

Burying the seeds for 24 h in the moist soil of the site where the plant will grow as pretreatment (natural priming in solid matrix), in shade house conditions, and dry them in the dark are part of a simple and economical pretreatment that allows seeds to enhance their capacity and speed of germination. Burying the seeds improves seedling growth in a similar way to that in which natural priming occurred.

—End of the English version—

---*---

burial: effects on germination, growth and protein expression. *Seed Sci. Res.* 11: 27-34.

Guan Y., J. Hu, X. Wang, and C. Shao. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 10: 427-433.

Heydecker W., J. Higgins, and R. L. Gulliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* 246; 42-46.

Hunt, R. 1982. *Plant Growth Curves.* Edward Arnold Publishers. London. 191 p.

Iqbar, M, and M. Ashraf. 2005. Changes in growth, photosynthetic capacity and ionic relations in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) due to pre-sowing seed treatment with polyamines. *Plant Growth Regul.* 46: 19-30.

McDonald, M.B. 2000. Seed priming *In: Seed Technology and its Biological Basis.* Black, M. and D. Bewley (eds). Academic Press, London. pp: 286-32.

Moradi-Dezfuli, P., F. Sharif-Zadeh, and M. Janmohammadi. 2008. Influence of priming techniques on seed germination behavior of maize inbred lines (*Zea mays* L.). *J. Agr. Biol. Sci.* 3: 22-25

Orozco-Segovia, A., J. Márquez-Guzmán, M. E. Sánchez-Coronado, A. Gamboa-de Buen, J. M. Baskin, and C. C. Baskin. 2007. Seed anatomy and water uptake in relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). *Ann. Bot.* 1-12.

Romero Peñaloza, J., F. Castillo González, and R. Ortega Paczka. 2002. Cruzas de poblaciones nativas de maíz de la raza Chalqueño: II. Grupos genéticos, divergencia genética y heterosis. *Rev. Fitotec. Mex.* 25: 107-115

Sánchez, J. A., R. Orta, y B. Muñoz. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agr. Costarr.* 25: 67-92.

Zar, J. H. 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, New Jersey. 620 p.

Zhang, C. F., J. Hu, J. Lou, Y. Zhang, and W. M. Hu. 2007. Sand priming in relation to physiological changes. I Seed germination and seedling growth of waxy maize under high-salt stress. *Seed Sci. Technol.* 35: 733-738.