

EL OSMOACONDICIONAMIENTO DE LAS SEMILLAS AGRÍCOLAS

AGRICULTURE SEED OSMOPRIMING

Juan Carlos Raya-Pérez* Cesar L. Aguirre-Mancilla; Jorge Covarrubias-Prieto J. Gabriel Ramírez-Pimentel; Gabriel Iturriaga.

Tecnológico Nacional de México/IT Roque. Celaya, Gto. Carretera Juventino Rosas - Celaya Km.8, 38110, Celaya, Gto. *juraya@itroque.edu.mx

Revisión

RESUMEN

El tratamiento de la semilla, previo a la siembra, remojándola en agua o en soluciones con algún compuesto como el PEG, nitrato o algún otro compuesto, tiene efectos diversos sobre la germinación y el vigor de la semilla, aunque tienden a recalcarse los efectos positivos, tales como un incremento en la germinación y el vigor, contenido de clorofila en la planta y un mejor comportamiento al usar elementos como el fierro o el zinc, escasos en el suelo. Sin embargo, el tiempo de remojo y el efecto de las sustancias sobre las semillas es difícil de determinar y se recomienda hacerlo para cada lote de semilla; la temperatura es otro factor a considerar, además de la edad de la semilla, recomendándose el tratamiento para semillas envejecidas o con bajo vigor. Investigaciones recientes han permitido conocer los genes cuya expresión cambia o se ve alterada por este tipo de tratamientos, así como bajo condiciones de germinación normales; se han documentado gran cantidad de cambios a nivel de expresión genética cuando las semillas son osmoacondionadas así como cambios relacionados con el RNA contenido en la semilla, cambios a nivel de la molécula de DNA y en las proteínas, carbohidratos y otros metabolitos de bajo peso molecular. Esto ha permitido una mejor comprensión de lo que ocurre con la semilla y sus componentes cuando sale de la latencia, cuando se le osmoacondiona y cuando germina, lo que podría permitir el mejor establecimiento de las plántulas en el campo o la emergencia y trasplante en los viveros.

ABSTRACT

Seed treatment previous to sowing, soaking it in water or in solutions with some compound like the PEG, nitrate or some other compound, has diverse effects on the germination and the vigor of the seed, although tend to emphasize the positive effects, such as increase in germination and vigor, chlorophyll content of the plantlet and better behavior when using elements such as iron or zinc,

scarce in the soil. However, the soaking time and the effect of the substances on the seeds is difficult to determine and it is recommended to do it for each batch of seed; the temperature is another factor to consider, in addition to the age of the seed, recommending the treatment for aged seeds or with low vigor. Recent research has allowed to know the genes whose expression changes or is altered by this type of treatments, as well as under normal germination conditions; a large number of changes have been documented at the level of gene expression when the seeds are osmoconditioned, as well as changes related to the RNA contained in the seed, changes at the level of the DNA molecule and in proteins, carbohydrates and other low molecular weight metabolites. This has allowed a better understanding of what happens with the seed and its components when it leaves the dormancy, when it is osmoconditioned and when it germinates, which could allow the best establishment of the seedlings in the field or the emergence and transplant in the nurseries.

INTRODUCCIÓN

Las semillas son esenciales para la supervivencia de la humanidad y son elementos indispensables para el buen desarrollo de la agricultura. Algunos factores que influyen en la calidad de la semilla incluye los aspectos de germinación, pureza y sanidad; son los tres criterios de la calidad bien establecidos y los cuales son determinados por pruebas estandarizadas. La germinación y el establecimiento de las plántulas en el campo son fases críticas en el ciclo de vida de las plantas y son influenciadas por la cantidad de reservas acumuladas en la semilla durante su formación y la eficiencia de estas para emplearlas durante el proceso de desarrollo.

Las semillas sienten y responden a estímulos ambientales como la luz, temperatura, nutrientes y humedad. Las señales ambientales pueden regular el metabolismo hormonal, así como el nivel de respuesta de la semilla a las hormonas. Se sabe

que el endospermo de las semillas dormantes imbibidas responden al NO (óxido nítrico) y a las giberelinas. El embrión segrega señales al endospermo para inducir la degradación de la reserva de las semillas y promueve el debilitamiento del endospermo durante la germinación. Los avances recientes en biología de semillas han demostrado que el endospermo es capaz de detectar señales ambientales y puede producir y secretar señales para regular el crecimiento del embrión (Yan *et al.*, 2014).

La germinación se ha dividido en tres fases: durante la uno ocurre absorción de agua, este o no viable la semilla. La dos es un periodo de retraso en la absorción de agua y la fase tres está asociada a la protrusión de la radícula. La duración de las fases depende del tipo de semilla y las condiciones de exposición al agua (Méndez-Natera *et al.*, 2008). El cambio climático y la escasez de agua obligan a buscar alternativas para tratar de mejorar la emergencia y establecimiento de las plántulas en el campo. El remojo previo de la semilla permite que ésta recupere su peso original al secarla en condiciones de sombra, acelera la velocidad de germinación y mejora el establecimiento en campo. En este trabajo se hace un recuento de los resultados obtenidos por diversos investigadores al someter a tratamiento de osmocondicionamiento la semilla antes de la siembra; esperamos ayude a tomar decisiones sobre la conveniencia o no de osmocondicionar la semilla.

El osmocondicionamiento consiste en la inmersión de las semillas en soluciones osmóticas o en agua por determinado tiempo con o sin deshidratación previa a la siembra y permiten que una gran proporción de las mismas alcance rápidamente el nivel de humedad y estado metabólico deseado como consecuencia de la activación de numerosos procesos bioquímico-fisiológicos relacionados con la germinación, la tolerancia al estrés ambiental y a la auto reparación enzimática de las membranas celulares. El análisis de transcriptoma ha proporcionado nuevos conocimientos sobre las funciones reguladoras del endospermo durante la germinación de la semilla; este análisis realizado en semillas no dormantes de *Arabidopsis*, imbibidas 6 o 24 horas, mostraron una expresión semejante de genes. Sin embargo, a las 24 horas, la proporción de genes expresados específicos del endospermo, se incrementó. El

endospermo asume funciones específicas a medida que progresa la germinación. Al parecer, para la semilla, hay un antes y un después de la ruptura de la testa (Yan *et al.*, 2014).

Las técnicas y condiciones para llevar a cabo el osmocondicionamiento de semillas varían de acuerdo con la especie vegetal que corresponda. La mayor parte de los estudios realizados apuntan hacia objetivos importantes como: a) encontrar sustancias osmocondicionadoras adecuadas para cada especie; 2) conocer cuáles son las concentraciones óptimas para cada sustancia; 3) determinar la temperatura y el tiempo óptimo de imbibición; 4) encontrar el método de aireación y secado más conveniente y 5) simplificar el proceso al máximo hasta convertir completamente la factibilidad de ser llevado a la práctica a gran escala (Giménez *et al.*, 1991). Los tratamientos pregerminativos muestran suficiente evidencia acerca de su efectividad al aplicarlos en ciertas semillas; la cantidad de agua que absorbe la semilla es difícil de controlar y deberá determinarse para cada lote de semilla (Sánchez *et al.*, 2001). Los estudios en semillas de especies de interés comercial han mostrado que los tratamientos pregerminativos incrementan la viabilidad y longevidad de las semillas (Butler *et al.*, 2009); el ingreso de agua a las semillas exhibe un patrón determinado por un fuerte incremento durante la fase inicial de la imbibición y después, uno lento, seguido de un segundo incremento sustancial; el daño por frío a la hora de la germinación puede ser prevenido mediante el osmocondicionamiento (Yu *et al.*, 2015). El efecto del osmocondicionamiento puede ser positivo, negativo o neutro; los efectos difieren entre lotes de semillas y cultivares; en maíz, se puede lograr una floración temprana, madurez anticipada e incremento en la producción de grano (Finch-Savage *et al.*, 2004). El tratamiento químico de la semilla se promueve también como una manera de acelerar y mejorar la germinación. Básicamente, consiste en impregnar o recubrir la semilla con el agente deseado y sembrar enseguida. Este tipo de tratamiento a la semilla de soya, maíz, sorgo y algodón no tuvo efectos significativos en las variables medidas de las plántulas, tales como número de plántulas emergidas, plántulas totales hasta 50 días después de la siembra, biomasa fresca foliar y biomasa radicular. Los autores señalan que con bajas

temperaturas en el suelo puede darse la muerte de la plántula por frío y confundirlo con ahogamiento por patógenos del suelo (Díaz-Franco et al., 2019). En estos casos de muerte por frío o por mala calidad de la semilla, el gasto en fungicidas para tratamiento previo de la semilla es un gasto inútil (E. Moreno, comunicación personal).

UTILIDAD DE LA TÉCNICA

Los tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas han probado ser eficientes para revigorizar semillas envejecidas, acelerar e incrementar la germinación y los rendimientos de las plantas, tanto en condiciones ecológicas óptimas como adversas. Las soluciones salinas como el nitrato de potasio, mantienen una aireación aceptable del medio al osmoacondicionar semillas a gran escala. El osmoacondicionamiento con cloruro de sodio a bajas concentraciones incrementa la transcripción de genes involucrados en la síntesis de giberelinas y de otros involucrados en la modificación de la pared celular. Durante el osmoacondicionamiento se permite el reemplazo de rRNA dañado, lo que acelera la síntesis de proteína (Ventura et al., 2012). Otro de los compuestos utilizados para el osmoacondicionamiento es el polietilenglicol, que no cambia directamente la composición lipídica de la membrana celular pero ocasiona tasas menores de absorción de agua y de fuga de solutos a través de la membrana (Yu et al., 2015); en sorgo (*Sorghum vulgare*) el mejor tratamiento para osmoacondicionamiento, con polietilenglicol (PEG 8000), fue de 300 g L⁻¹ durante dos días (Tiryaki y Buyukcingil, 2009); en cuanto al potencial osmótico, este varía entre especies: el maíz (*Zea mays*) requiere -1.7 a -2 MPa y el frijol (*Phaseolus vulgaris*) -1 MPa (Campos-Alvarez et al., 2002; Michel y Kaufmann, 1973). Dado que la presencia del PEG 4000 retarda la imbibición de la semilla, se previene la aparición de zonas muertas en cotiledones de arvejas (*P. sativum*) (Méndez-Natera et al., 2008). En semilla de maíz, el osmoacondicionamiento a 30/20 °C día/noche adelanta la emergencia de plántulas; a 35/28 °C la retrasa. El secado de la semilla después del osmoacondicionamiento es necesario para que la germinación sea más rápida (Finch-Savage et al., 2008). En girasol, las semillas no dormantes germinan a 10 °C pero las dormantes no lo hacen (Quiong, et al., 2018); sus resultados mostraron

que la temperatura de 20° indujo la activación de la síntesis de proteínas y los procesos de degradación. El osmoacondicionamiento provoca floración y maduración anticipada en maíz, así como incremento en rendimiento de grano, pero los beneficios pueden variar; los efectos del osmoacondicionamiento difirieron entre lotes de semillas de diferentes cultivares, lo que indicó la importancia de realizar selección de materiales de maíz más tolerantes (Finch-Savage et al., 2008). El uso de una solución de sulfato de zinc (1 %) permite el incremento en la producción de maíz y el contenido de zinc presente en el grano (Harris et al., 2007). El remojo en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) por 8 h de semilla de maíz incrementa la actividad de α-amilasa, el contenido de azúcares solubles y disminuye la fuga de solutos y el contenido de malondialdehído (Whaid et al., 2008). En jitomate (*Solanum lycopersicum*), el tratamiento con nitrato de potasio rompió la dormancia y fueron más efectivas que el PEG. La nitrato reductasa produce nitritos y óxido nítrico, que interrumpe la latencia y promueve la germinación. En semilla de Arabidopsis el nitrato disminuye los niveles de ABA (ácido abscísico), lo que interrumpe la dormancia (Lara et al., 2014).

La salida inicial de solutos, al imbibir la semilla, acelera la germinación, ya que la semilla pierde inhibidores de la germinación; la activación de la vía de la pentosa fosfato, durante la imbibición u osmoacondicionamiento, podría liberar a la semilla del letargo; acorde con esto, en la fase I de imbibición se ha registrado una baja de la actividad de enzimas involucradas en la glucólisis, el ciclo de los ácidos tricarboxílicos y la síntesis de sacarosa (Quiong et al., 2018). La salida de solutos puede deberse también al daño de las membranas plasmáticas. Se observa un aumento considerable en la permeabilidad de las membranas de las células del embrión en las semillas envejecidas (Ventura et al., 2012). El daño por envejecimiento en semillas parcialmente hidratadas, ocurre principalmente a nivel de peroxidación de lípidos, lo que incrementa la permeabilidad y la salida de solutos (Kubala, et al., 2015). Las semillas osmoacondicionadas presentan menor peroxidación de lípidos debido a un incremento en las actividades de enzimas como la ascorbato peroxidasa, catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa (Zhang et al., 2015). De acuerdo con

Thanos et al. (1989) las semillas de chile (pepper) almacenadas a 25 °C pierden poder germinativo; el osmoacondicionamiento antes de almacenarlas incrementa la germinación y disminuye el deterioro de la semilla. Los embriones de semillas de poro (leek) osmoacondicionadas tienen mayor tasa de síntesis de proteína y DNA que los embriones de semillas no tratadas (Bray, 1989); el crecimiento rápido de las plántulas, que sigue al osmoacondicionamiento en semillas tratadas, coincide con el incremento en 5 veces de la poza de UDP-glucosa, el mayor precursor de la síntesis de celulosa (Bray et al., 1989); acorde con lo anterior, las plántulas de semillas envejecidas presentan una menor división y expansión celular en la zona de la radícula (Sveinsdottir et al., 2009).

Durante la imbibición de la semilla de *Arabidopsis* ocurre la expresión transitoria de genes implicados en la replicación mitocondrial. Las mitocondrias se requerirían para soportar el crecimiento del hipocótilo y la raíz, dado que es la que provee de energía a la célula. En esta especie y en cebada (*Hordeum vulgare*) se han hallado más de diez mil mRNA's almacenados correspondientes a proteínas LEA, de choque de calor y proteínas de almacenamiento. Otros son de proteínas involucradas en el almacenamiento y en la movilización de lípidos. La remoción de RNAs específicos es un prerrequisito para la germinación. En girasol (*Helianthus annuus*) se requiere de la oxidación de ciertos RNAs para que la semilla salga del letargo. De acuerdo con Châtelain et al., (2013) la germinación ocurre en ausencia de transcripción y las proteínas necesarias para el proceso son las de reserva o las que se traducen desde los mRNAs almacenados en la semilla seca, lo que en cierto modo concuerda con Ventura et al. (2012) respecto a que en la semilla de maíz se ha observado que el inicio de la traducción se da durante la germinación. Los polisomas están ausentes en semillas secas, pero aparecen rápidamente cuando se hidratan estas (Quiong et al., 2018); en *Brassica napus*, genes como los que codifican para las subunidades 40 S y 60 S ribosomales fueron regulados positivamente durante el osmoacondicionamiento, aunque no se detectaron genes de proteínas ribosomales durante el remojo en PEG y el secado (Kubala et al., 2015). En semillas secas de maíz se detectaron seis mRNAs que codifican para enzimas del metabolismo de las giberelinas, lo que

indica que ayudarían a convertir precursores inactivos en giberelinas activas, necesarias para la germinación (Song et al., 2011). La reparación de proteínas a nivel de aspartato/asparagina, dañadas a lo largo del tiempo, es requerida para una germinación apropiada (Châtelain et al., 2013); esto podría ocurrir durante el osmoacondicionamiento. Además, la reducción de puentes disulfuro mediante la tiorredoxina, en proteínas oxidadas, es un proceso muy importante; las proteínas sobre las que actúan las tiorredoxinas son más de cien (Châtelain et al., 2013). La regulación positiva de genes que codifican para proteínas que intervienen en la reparación del DNA fue observado durante la imbibición; las topoisomerasas también fueron reguladas positivamente; se requiere de DNA-glicosilasas, para la excisión de las bases dañadas, endonucleasas y DNA-polimerasas, DNA ligasas I y III (Ventura et al., 2012); durante el osmoacondicionamiento en maíz, se detectaron síntesis de proteína, RNA y DNA; la de este último se considera de tipo reparativo (Campos-Álvarez et al., 2002). El DNA presenta dos conformaciones dependiendo del contenido de agua; el daño aparece cuando la molécula no soporta la transición entre las conformaciones; la glicosilación de las histonas podría facilitar la transición a un estado que soporte la deshidratación de la semilla (Ventura et al., 2012). Las enzimas acetiltransferasas y deacetilasas de histonas exhiben patrones de expresión que cambian con la dormancia. El grado de dormancia tendría que ver con la remodelación de la cromatina en respuesta a señales ambientales, permitiendo a la semilla germinar cuando las condiciones ambientales son las adecuadas (Footitt et al., 2015).

El azufre es transferido a la semilla durante la maduración, como glutatión, para producir cisteína y luego metionina. Los residuos aminoacídicos que contienen azufre son proclives a la oxidación, pero esta es reversible en la mayoría de los casos. Esta función la llevarían a cabo las tiorredoxinas. La metionina sulfóxido reductasa, por su parte, interviene en la regeneración de residuos de metionina y se requiere de esta enzima para que la célula funcione mínimamente (Châtelain et al., 2013). En el loto (*Nelumbo nucifera*) se observaron niveles altos de expresión en semillas en germinación; como de genes que codifican

metalotioninas y uno de estos genes, *NmMT3* cuando es sobreexpresado en *Arabidopsis* confiere mayor resistencia al envejecimiento acelerado. Las metalotioninas podrían activar a la superóxido dismutasa al liberar iones de Cu^{2+} y de Zn^{2+} (Ventura et al., 2012).

Las semillas endospermicas de ambientes fríos y húmedos son de vida corta al almacenarse en seco, comparadas con las de ambientes secos y calientes. Las de vida corta tienen embriones pequeños. La presencia de sacarosa y rafinosa está correlacionada con la capacidad de los tejidos para formar un estado vítreo, un estado altamente viscoso que retarda la difusión molecular y las reacciones de deterioro en la semilla (Gurusinghe y Bradford, 2001); en semilla de trigo se encontró que los oligosacáridos de la familia de la rafinosa resultaron marcadores clave para diferenciar entre semillas con diferente nivel de latencia (Quiong et al., 2018). En semillas osmoacondicionadas de sorgo se registró un incremento en contenido de azúcares reductores, solubles y prolina; también en la poza de proteínas solubles y aminoácidos libres (Zhang et al., 2015). Existe una relación entre la tolerancia a la desecación y la transferencia de moléculas amfífilas desde el citosol a los lípidos durante el secado de la semilla; esta transferencia está ligada con cambios en el contenido de agua. Cuando ocurre la deshidratación, las moléculas amfífilas se redistribuyen desde la fase lipídica a la fase acuosa. En especies sensibles a la desecación, la partición de las moléculas amfífilas ocurre a altos contenidos de agua. El deterioro de las semillas produce una pérdida de fosfolípidos y la presencia de enzimas involucradas en su degradación. La fosfolipasa D genera ácido fosfatídico y está involucrada en las primeras etapas del deterioro al hidrolizar lípidos de membrana, desestabilizar cuerpos lipídicos y exponer ácidos grasos a la peroxidación (Ventura et al., 2012). El ácido fosfatídico es un intermediario en el metabolismo lipídico, para lípidos de almacenamiento y lípidos de membrana. En semilla de soya tolerante al frío, incrementos modestos en fosfolipasa D mantiene el pool de ácido fosfatídico a bajos niveles para el buen funcionamiento de la membrana. En las sensibles al frío se genera un gran pool de ácido fosfatídico que daña la membrana y retrasa o previene la germinación (Yu et al., 2015). Las membranas celulares de las

plantas contienen principalmente fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, ácido fosfatídico y fosfatidilglicerol (Yu-gin et al., 2015).

EL CASO DEL MAÍZ

Al osmoacondicionar maíz Palomero con PEG al 30% y de nitrato de potasio más ácido giberélico al 0.01% (P/V), durante 6 y 12 horas no hubo efecto sobre el peso total de plántula; en longitud de plúmula, todos los tratamientos fueron superiores al testigo; los tratamientos con PEG a 6 y 12 h fueron superiores en longitud de radícula. Los tratamientos con KNO_3 incrementaron la cantidad de proteína soluble de semilla completa. Se encontró un incremento en la proteína extraída a partir del endospermo. Los autores concluyeron que el tratamiento previo a la siembra es aconsejable para los materiales genéticos derivados de esta raza por su efecto sobre la longitud de plúmula y radícula (Valle-Moysén et al., 2017). Las razas Bofo y Elotes Occidentales presentaron mayor porcentaje de germinación después del remojo con KNO_3 + ácido giberélico durante 6 h. También en longitud de radícula y plúmula, los tratamientos superaron al testigo, semilla puesta a germinar sin tratamiento previo. La raza Elotes Occidentales, luego de la prueba de remojo, tuvo mayor longitud de plúmula. La semilla osmoacondicionada presentó mayor longitud de plúmula, radícula y mayor porcentaje de germinación cuando la semilla se sometió posteriormente a remojo, toda la noche sumergidas en agua. El tratamiento previo permite una mejor respuesta de la semilla cuando se le somete a estrés por exceso de agua (Valle-Moysén et al., 2017b). En un experimento único, al comparar la emergencia en campo de dos razas de maíz (amarillo y blanco) se observó un adelanto de un día en el inicio de la floración femenina en las plantas de semilla osmotratada con respecto a las plantas de semilla no tratada.

La H⁺ ATPasa es activa después de dos horas de imbibición y la movilización de reservas ocurre dentro de las primeras horas de imbibición (Mei et al., 2008).

CONCLUSIONES

El osmoacondicionamiento como tratamiento previo a la semilla antes de la siembra en general

presenta buenos resultados. Se recomienda hacer unas pruebas para determinar la respuesta de cada lote y tipo de semilla.

Se puede recomendar para extensiones no muy grandes donde se ocupe un volumen manejable de semilla y que esté expuesta a estrés ambiental, como escasez de agua.

También puede probarse para tratar de aliviar falta de micronutrientes para la plántula, como Zn y Fe.

Agradecimientos:

Al TecNM por el apoyo económico.

LITERATURA CITADA

Bray, C.M.; Davison, P.A.; Ashraf, M. and Taylor R.M. 1989. Biochemical changes during osmopriming of leek seeds. *Annals of Botany* 185-193.

Butler, L.H., Hay, F.R.; Ellis, R.H.; Smith, R.D. and Murray, T.B. 2009. Priming and redrying improve the survival of mature seeds of *Digitalis purpurea* during storage. *Annals of Botany* 103: 1270- 1271.

Campos-Álvarez, F.; Cruz-García, F.; Torres-Espinosa, A.; Sánchez-Jiménez, M.; Colmenero-Flores, J.M.; Smith-Espinoza, C.; Covarrubias-Robles A. y Vázquez-Ramos J.M. 2002. Expresión de genes codificantes para proteína, abundantes en embriogénesis tardía (lea), durante el osmocondicionamiento de semillas de maíz y frijol. *Agrociencia* 36(4):461-470.

Chätelain, E.; Satou, P.; Laugier, E.; Ly Vu, Payet, N.; Rey, P.; Montrichard, F. 2013. Evidence for participation of the methionine sulfoxide reductase repair system in plant seed longevity. *Proc. Nat. Acad. Science* 110:3633-3638 doi:10/10731pnas.1220589110

Díaz-Franco, A.; Castillo-Tovar, H.; Ortiz-Chairez, F.E.; Espinosa-Ramírez, M. 2019. Tratamiento químico combinado de semilla y su influencia en el crecimiento de plántulas de sorgo, maíz, soya y algodón. *Acta Universitaria* 29:1-9.

Durán-Hernández, D.; Gutiérrez-Hernández, G.F.; Arellano-Vázquez, J.L.; García-Ramírez, E.; Virgen-Vargas, J. (2011). Caracterización molecular y

germinación de semillas de maíces criollos azules con envejecimiento acelerado. *Agronomía Mesoamericana* 22:11-20.

Evans J. and W. J. turnbull. 2004. *Plantation forestry in the tropics*. Third edition. Oxford University press. New York, United States. 467 p.

Ferguson J. 1995. An introduction to seed vigour testing. In seed vigour testing seminar; copenhagen. (proceedings) zurich: international seed tetsing association. P 1-9.

Finch-Savage W.E.; Dent, K.C.; Clark, L.J. 2004. Soak conditions and temperature following sowing influence the response of maize (*Zea mays* L.) seeds to on-farm priming (pre-sowing seed soak). *Fields Crops Research* 90:361-374.

Footitt, S.; Müller, K.; Kermode, A.R.; Finch-Savage, W.E. 2015. Seed dormancy cycling in *Arabidopsis*: chromatin remodeling and regulation of DOG1 in reponse to seasonal environmental signals. *Plant Journal* 81:413-425.

Greaves, I.K.; Gonzalez-Bayon, R.; Wang, L.; Zhu, A.; Liu, P.; Groszmann, M.; Peacock, J. W.; Dennis, E.S. 2015. Focus on chromatin/epigenetics: Epigenetic Changes in Hybrids. *Plant Physiol.* 168:1197-1205.

Giménez S. T.; Sampaio, N. V.; Retamal, P.N. y Duran, J.M. 1991. Acondicionamiento osmótico de semillas: Aplicación al cultivo de pimientos. *Agricultura Técnica* (51): 124-127.

Gurusinghe, S. and Bradford, K.J. 2001. Galactosyl-sucrose oligosaccharides and potential longevity of primed seed. *Seed Science Res* 11: 121-133.

Gutiérrez-Hernández et al., 2011. Maíces azules. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34(2):77-84.

Harris D.; Rashid, A.; Miraj, G.; Arif, M.; and Shah, H. 2007. On-farm seed priming with zinc-sulphate solution- A cost effective way to increase the maize yields of resource-poor farmers. *Fields Crops Research* 102: 119-127.

Hohl, M., and Schopfer, P. (1991). Water relations of growing maize coleoptiles. Comparison between manitol and polyethylene glicol 6000 as external osmotica for adjusting turgor pressure. *Plant Physiology* 95: 716-722.

- Ilbi, H., and Eser, B. (2002). Effects of pre-storage treatments of ageing in onion seeds. *Acta Horticulturae (ISHS)* 579: 613-618.
- Jahnke, S.; Roussel, J.; Hombach, T.; Kochs, J., Fischbach, A.; Huber G.; and Scharr, H. 2016. phenoSeeder - A Robot System for Automated Handling and Phenotyping of Individual Seeds. *Plant Physiol.*172:1358-1370.
- Kubala S.; Garnczarska, M.; Wostyla, L.; Clippe, A.; Kosmala, A.; Zmienko, A.; Lutts, S. and Quinet, M. 2015. Deciphering priming-induced improvement of rapeseed (*B. napus* L.) germination through an integrated transcriptomic and proteomic approach. *Plant Science* 231: 94-113.
- Lara, T.S.; Lira, J.M.S.; Rodríguez, A.C.; Rakocevic, M.; Alvarenga, A.A. 2014. Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and antioxidant enzymes in tomato germination. *Journal Agricultural Science* 6(2): 72-80.
- Luna, M. B. M., Hinojosa R. Ma. A., Ayala G. O. J., Castillo G. F. y Mejia C. J. A. 2012. Perspectivas de desarrollo de la industria semillera de maíz en México. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 35 (1): 1-7.
- Materchera, S., Dexter, A., Alston, A., and Kirby, J. (1992). Growth of seedlings roots in response to external osmotic stress by polyethylene glycol 20000. *Plant and Soil* 143: 85-91.
- Méndez-Natera, J.R.; J.F., Merazo P. y N. J. Montaña M. 2008. Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de germinación en semillas de maíz (*Zea mays* L.), caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y quinchoncho (*Cajanus cajan* (L) Mill.). *Revista UDO*, 8(1), 61.
- Mccann, M.C.; Trujillo, W.A.; Riordan, S.G.; Sorbet, R.; Bogdanova, N.N. and Sidhu, R.S. 2007. Comparison of the Forage and Grain Composition from Insect-Protected and Glyphosate-Tolerant MON 88017 Corn to Conventional Corn (*Zea mays* L.). *Journal Agric. Food Chem.* 55:4034-4042.
- McDonald, M. 1998. Seed quality assessment. *Seed Science Research.* 8: 265-275.
- Méndez-Natera, J.R.; J.F., Merazo P. y N. J. Montaña M. 2008. Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de germinación en semillas de maíz (*Zea mays* L.), caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y quinchoncho (*Cajanus cajan* (L) Mill.). *Revista UDO*, 8(1), 61.
- Michel, B.E.; Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol* 51:914-916.
- Narváez-González, E. D.; Figueroa-Cárdenas J. D.; Taba, S.; Castaño-Tostado, E.; Martínez-Peniche, R.A. and Rincón-Sánchez, F. 2006. Relationships between the Microstructure, Physical Features, and Chemical Composition of Different Maize Accessions from Latin America. *Cereal Chem.* 83:595-604.
- Nonogaki, H., Bassel, G., and Bewley, D. (2010). Germination-still a mystery. *Plant Science* 176: 574-581.
- Pérez de la Cerda, F.J.; Carballo-Carballo, A.; Santacruz-Varela, A.; Hernández-Livera, A.; Molina-Moreno, J.C. 2007. Calidad fisiológica en semillas de maíz con diferencias estructurales. *Agricultura Técnica en México* 33:53-61.
- Quiong X.; Ponnaiah, M.; Cueff, G.; Rajjou L.; Prodhomme, D.; Gibon, Y.; Bailly, C.; Corbineau, F.; Meimonu, P., El-Maarouf-Bouteau. 2018. Integrating proteomics and enzymatic profiling to decipher seed metabolism affected by temperature in seed dormancy and germination. *Plant Science* 269:118-125.
- Sánchez, J. A.; Orta, R. y Muñoz, B.C. 2001. Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola. *Agronomía Costarricense* 25(1):67-91.
- Song J.; Guo, B.; Song, F.; Peng, H.; Yao, Y.; Zhang, Y. and Sun, Z. Ni. 2011. Genome-wide identification of gibberellins metabolic enzyme genes expression profiling analysis during seed germination in maize. *Gene* 482: 34-42.
- Sveinsdottir, H.; Yan, F.; Zhu, Y.; Peiter-Voik, T.; Schubert, S. 2009. Seed aging-induced inhibition of germination and postgermination root growth is related to lower activity of plasma membrane H⁺-ATPase in maize roots. *Journal Plant Physiol.* 166:128-135.

- Thanos, A.C.; Georghious, K. and Passam, H.C.1988. Osmoconditioning and ageing of pepper seeds during store. *Annals of Botany* 63(1): 65-69.
- Tiryaki, I.; Buyukcingil, Y. 2009. Seed priming combined with plant hormones; influence on germination and seedling emergence of sorghum at low temperatura. *Seed Science Technology* 37:303-315.
- Valle-Moysén, R.; Covarrubias-Prieto, J.; Ramírez-Pimentel, J.G.; Aguirre-Mancilla, C.L.; Iturriaga de la Fuente, G.; Raya-Pérez, J.C. (2017) Osmocondicionamiento de semilla de maiz pigmentado (*Zea mays*), Bofo y Celaya. *Rev Mex Ciencias Agrícolas* 8 (5) 1073-1086.
- Valle-Moysén, R.; Covarrubias-Prieto, J.; Ramírez-Pimentel, J.G.; Aguirre-Mancilla, C.L.; Iturriaga de la Fuente, G.; Raya-Pérez, J.C. 2017b. Efecto del osmocondicionamiento sobre la germinación del maíz tipo Palomero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8(2):307-319.
- Ventura, L.; Doña, M.; Macovei, A.; Carbonera, D.; Buttafara, A.; Mondoni, A.; Rossi, G.; and Balestrazzi, A. 2012. Understanding the molecular pathways associated with seed vigor. *Plant Physiol Biochem.* 60:196-206.
- Whaid, A.; Sehar, S.; Perveen, M.; Gelani, S.; Basra, S.M.A. and Farooq, M. 2008. Seed pretreatment with hydrogen peroxide improves heat tolerance in maize at germination and seedling growth stages. *Seed Science Technol.* 36:633-645.
- Wu, Y; Holding DR; Messing J; γ -Zeins (2010). Zeins are essential for endosperm modification in quality protein maize. *Proc. Nat. Acad. Science* 107:12810-12815. Doi: 10.1073/pnas.1004721107
- Yan, D.; Duermeyer, L.; Leoveanu, C., Nambara, E. 2014. Functions of endosperm during seed germination. *Plant Cell Physiology* 55(9):1521-1533. Doi:10.1093/pcp/pcu089
- Yu-qin, Mei and Song-quan, Song (2008). Early morphological and physiological events occurring during germination of maize seeds. *Agriculture Sciences in China* 7(8): 950-957. DOI: 10.1016/S1671-2927(08)60134-0
- Zhang, F.; Yu, J.; Johnston, C.R.; Wang, Y.; Zhu, K.; Lu, F.; Zhang, Z. and Zhou, J. 2015. Seed priming with polyethylene glycol Induces physiological changes in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) seedlings under suboptimal soil moisture environments. *PLoS ONE* 10(10): e0140620. doi:10.1371/journal.pone.0140620