







Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2023; 14:1-13. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2023.102>
Artículo Original. Recibido: 10/07/2023. Aceptado:28/11/2023. Publicado: 27/12/2023. Clave: e2023-24.
<https://www.youtube.com/watch?v=aIU7tfVqRCI>

Viabilidad y vigor en carióspsides de gramíneas de zonas semiáridas

Viability and vigor in caryopses of grasses from semi-arid regions



Edith Ramírez-Segura¹ , Adrián Hernández-Livera² , Leonor Miranda-Jiménez³ ,
Ricardo Sánchez-Gutiérrez⁴ , Adrián Quero-Carrillo^{*3} 

¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Agricultura Familiar, Km 8.5 Carretera Ojuelos-Lagos de Moreno, Ojuelos de Jalisco, Jalisco, México. ²Colegio de Postgraduados, Recursos Genéticos y Productividad – Semillas, Estado de México. México. ³Colegio de Postgraduados, Recursos Genéticos y Productividad – Ganadería, Campus Montecillo. Km. 36.5 Carretera Federal México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México. C.P. 56230. México. ⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatecas-INIFAP. Carretera Zacatecas-Fresnillo, 98500 Calera de VR Zacatecas, México. *autor de correspondencia: Adrián R. Quero Carrillo RGP- Ganadería. E-mail: ramirez.edith@inifap.gob.mx, halasamy@colpos.mx, lmirandaj@colpos.mx, sanchez.ricardo@inifap.gob.mx, queroadrian@colpos.mx

RESUMEN

Pocos trabajos han estudiado la calidad de semilla en pastos nativos de zonas semiáridas. El objetivo fue validar metodologías publicadas para otras Poaceae, para pruebas de viabilidad por Tetrazolio (TZ) en carióspsides (Cs) de *Bouteloua curtipendula*, *Leptochloa dubia*, *Digitaria californica*, *Setaria macrostachya* y *Pennisetum ciliare*; lo anterior, considera tiempo de imbibición, concentración de TZ y tipo de corte del Cs y muestra los patrones de tinción de tratamientos. Viabilidad y vigor se expresaron en porcentaje y se transformaron al arcoseno. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial: A) tiempo de imbibición antes del corte; B), tipo de corte; C), concentración de TZ (V:V) y Tukey (P<0.05) para comparar medias. El corte longitudinal fue más adecuado (P<0.05), permite observar estructuras embrionarias y determinar sitios dañados. Carióspsides de *D. californica* y *S. macrostachya* son permeables a TZ y no requieren seccionado, lo que facilita su evaluación. Los protocolos ISTA para viabilidad en Poaceae no son directamente aplicables para las especies evaluadas, no consideran tiempo de imbibición de Cs; el cual, fue de 3 a 4 horas. Se recomienda usar concentración de TZ al 0.5% y evaluar 12 horas después del contacto entre la Cs y la solución de TZ para las especies aquí evaluadas.

Palabras clave: daño embrionario, ISTA, propágulos, semilla beneficiada, vigor de semilla.

ABSTRACT

Few studies have evaluated seed quality in native to semi-arid zones' grasses. The objective was to validate published methodologies to carry out viability tests using Tetrazolium (TZ) test for caryopses (Cs) of *Bouteloua curtipendula*, *Leptochloa dubia*, *Digitaria californica*, *Setaria macrostachya* and *Pennisetum ciliare*, considering the imbibition time, TZ concentration and cut in the Cs. In addition, showing staining patterns according to evaluated treatments. Viability and vigor data was expressed as percent and hence



transformed to arcsine. A completely randomized experimental design was carried out using a factorial arrangement: A) imbibition time before cutting; B), type of cut; C), TZ concentration, and Tukey's test ($p < 0.05$) for mean comparisons. The Cs longitudinal cut was the most adequate ($P < 0.05$), it allows observing Cs' embryonic structures and determining damaged sites; however, the Cs of *D. californica* and *S. machrostachya* are permeable to TZ and it was not necessary to section the Cs, which facilitates its evaluation. The ISTA protocols for viability in Poaceae are not directly applicable for the species evaluated, because the imbibition time for these species is not considered, which was 3 to 4 hours. It is recommended to use a 0.5% TZ concentration and evaluate 12 hours after the imbibition time between Cs and the TZ solution.

Keywords: embryonic damage, ISTA, propagules, benefited seed, seed vigor.

INTRODUCCIÓN

Debido a la degradación del pastizal se requiere el establecimiento de praderas en temporal semiárido con especies nativas (Quero & Flores, 2023). Existen pocos estudios sobre la calidad de semilla en pastos para condiciones de secano de zonas áridas (ISTA, 2016); lo anterior, a pesar del registro institucional de variedades (SNICS- CNVV, 2023). Existe amplia diversidad de propágulos utilizables para siembra de praderas en agostaderos y es indispensable conocer la calidad física, genética, sanitaria y fisiológica del propágulo a utilizar (Quero *et al.*, 2017). La industria semillera requiere técnicas efectivas de análisis, que permitan determinar calidad en lotes de semilla y dar certeza a la toma de decisiones de siembra y almacenamiento. La prueba con Tetrazolio (cloruro de 2,3,5 trifenil tetrazolio; TZ), es una prueba rápida que se utiliza para determinar viabilidad y vigor asociado a la capacidad germinativa, especialmente para lotes de semilla que presenten elevada latencia; sin embargo, tiene algunas desventajas: la interpretación de tinción es visual (subjetiva) y requiere entrenamiento, especialmente en semillas pequeñas (Lopez *et al.*, 2017). Evaluar con TZ implica cortar y calificar Cs bajo microscopio estereoscópico. La viabilidad se determina acorde al patrón de tinción e intensidad de coloración del embrión. Una semilla viable indica que es capaz de producir una plántula normal (ISTA, 2016). Al evaluar Cs, se elimina la latencia por brácteas accesorias a esta; sin embargo, en campo, el propágulo utilizado durante la siembra es la espiguilla o ramilla; por tanto, se espera que la germinación sea lenta y menor. Esta prueba discrimina, sobre el eje embrionario, tejido vivo y muerto, en base a actividad enzimática (deshidrogenasas), que aumenta al hidrolizarse durante la imbibición, produciendo liberación de H^+ y, con ello, la reducción química de la solución de TZ (incolore) a formazán (color rojo).

La viabilidad se determina en función del patrón de tinción del eje embrionario e intensidad de coloración: Cs vivas y vigorosas, presentarán coloración rojo intenso y, las muertas, no colorean. Para la prueba de TZ, por hidratación, se induce en la Cs, actividad deshidrogenasa y ablande de tejidos para facilitar el corte (longitudinal, transversal o punción) y así, permitir contacto TZ- tejidos del embrión. Las Cs se sumergen en TZ y se



mantienen en obscuridad, la lectura puede realizarse de 2 a 18 h después (ISTA, 2016), según la especie evaluada. Un problema en Cs de Banderita *Bouteloua curtipendula* (Michx.) Torr., Gigante *Leptochloa dubia* Kunth, Punta blanca *Digitaria californica* (Benth.) Henrard, Tempranero *Setaria macrostachya* Kunth y Buffel *Pennisetum ciliare* (L.) Link) y otras Poaceae, radica en obtener material adecuado (Cs) para la prueba; la cual, debe ser representativas de la muestra a analizar; además, estas especies no están incluidas en procedimientos propuestos (ISTA, 2012); a excepción de Buffel, incluido en Hojas de Trabajo de Tetrazolio (ISTA, 2003). El objetivo fue validar protocolos publicados para Poaceae, como *Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Secale cereale*, *Triticum aestivum*, *Megathyrus maximus* y *C. ciliaris*, esta última se incluyó como testigo para proponer especificaciones, al utilizar la prueba de TZ en Cs de Banderita, Gigante, Punta Blanca y Tempranero para: tiempo de imbibición, concentración de TZ y tipo de corte a aplicar en la Cs y mostrar patrones de tinción de acuerdo a los tratamientos realizados.

MATERIAL Y MÉTODOS

La semilla se cosechó en el Colegio de Postgraduados en 2017, se almacenó en bolsa de papel a 25°C de temperatura y 15% de humedad constante hasta su valoración. Se evaluaron cariósides (Cs) obtenidas por escarificación física de flósculos, ramillas y/o espiguillas de Banderita, Gigante, Punta Blanca, Tempranero y Buffel, eliminándose Cs rasgadas o dañadas, apoyados en microscopio estereoscópico (Zeiss, Modelo 464002–9901). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial: A) tiempo de imbibición antes del corte (1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 y 12 h); B) tipo de corte (longitudinal, transversal y sin corte; es decir, Cs completa); C) porcentaje de concentración de TZ (1, 0.5 y 0.1 %; V:V), 72 combinaciones o tratamientos. La unidad experimental estuvo formada por un vaso de precipitado con 25 Cs, con diez repeticiones. Los resultados se analizaron mediante Análisis de Varianza (ANAVA) con arreglo factorial (SAS, 2013) y Tukey (P <0.05). Para tiempo de imbibición, las Cs se colocaron en vasos de precipitado con agua destilada, hasta cubrirlas por completo. Al término de cada tiempo de imbibición, las Cs se cortaron, según tratamiento, se adicionó solución de TZ a la concentración a evaluar hasta cubrirla completamente, en obscuridad a temperatura ambiente (25° ± 2 °C) por 12 h; posteriormente, se retiraron las Cs de la solución de TZ, para evaluar tinción, como se recomienda para Cs pequeñas (ISTA, 2016). Las piezas de eje embrionario se enjuagaron con agua corriente y colocaron sobre papel absorbente, previamente humedecido, lo que evita la deshidratación. Se documentaron los patrones de tinción de Cs, con la consideración de tipo de corte (TC), concentración de TZ (CTz) y tiempo de imbibición (h). Se analizó intensidad y sitio de pigmentación sobre el eje embrionario: a) ausencia de coloración (sin color), b) coloración inicial (tono rosa), c) coloración débil (rosa fuerte), d) coloración adecuada (rojo) y e) rojo intenso. Se

documentó por fotografías de Cs en microscopio estereoscópico y cámara de teléfono celular. Las Cs se clasificaron como viables (viable vigorosos y viables vigor medio) y no viables, según tinción en tejidos embrionarios y como referencia, protocolos publicados de viabilidad (ISTA, 2016; ISTA, 2003) y se agruparon por interpretación (Delouche y Baskin, 1973; ISTA, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluaron patrones de tinción y las estructuras de importancia a considerar en Cs viables, sin defectos (Fig. 1). La coloración observada guarda similitud con ISTA (2003), aunque no expresan la totalidad de daños observables en Cs.

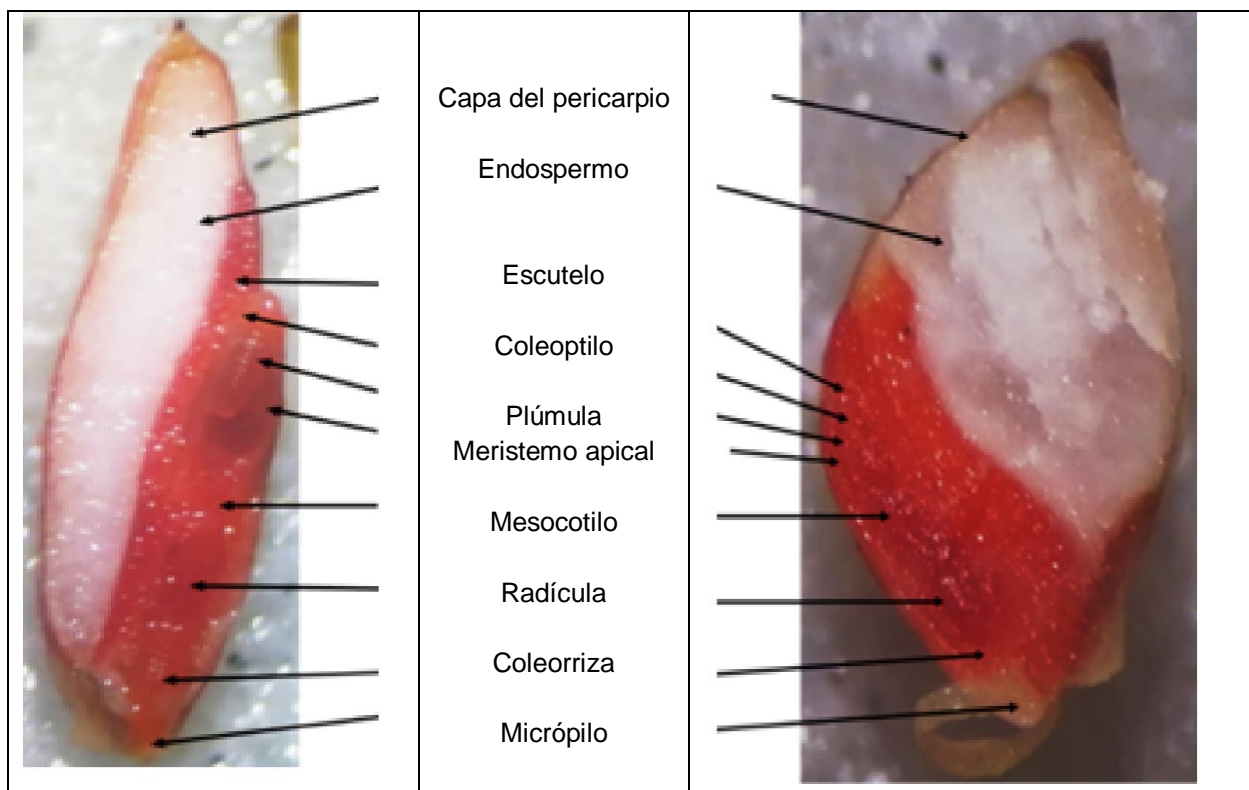


Figura 1. Cariósides viables de *Bouteloua curtipendula* (izquierda) y *Setaria macrostachya* (derecha), teñidos completamente con Tetrazolio. Se muestran las partes sobre el eje embrionario, para determinación de viabilidad.

Para facilitar la evaluación de Cs, se definieron tres clases acorde al área e intensidad de tinción como indicador del vigor: Clase 1. Embriones viables y vigorosos. Tejidos firmes, sin lesiones visibles y coloración uniforme del rosa a rojo brillante. Daños superficiales ligeros localizados en parte externa del endospermo (Fig. 2). Clase 2. Embriones viables con vigor medio. Color rosa, con tejidos firmes. Eje embrionario con daños internos ligeros

y superficiales, radícula y plúmula descoloridas, con menos de 50% de tejido muerto (color blanco; Fig. 2). Clase 3. Embriones no viables. Radícula y plúmula no teñidas. Embrión con lesiones o áreas muertas en el eje embrionario. Incluye embriones con áreas mayores del 50% de tejido muerto (Fig. 2).

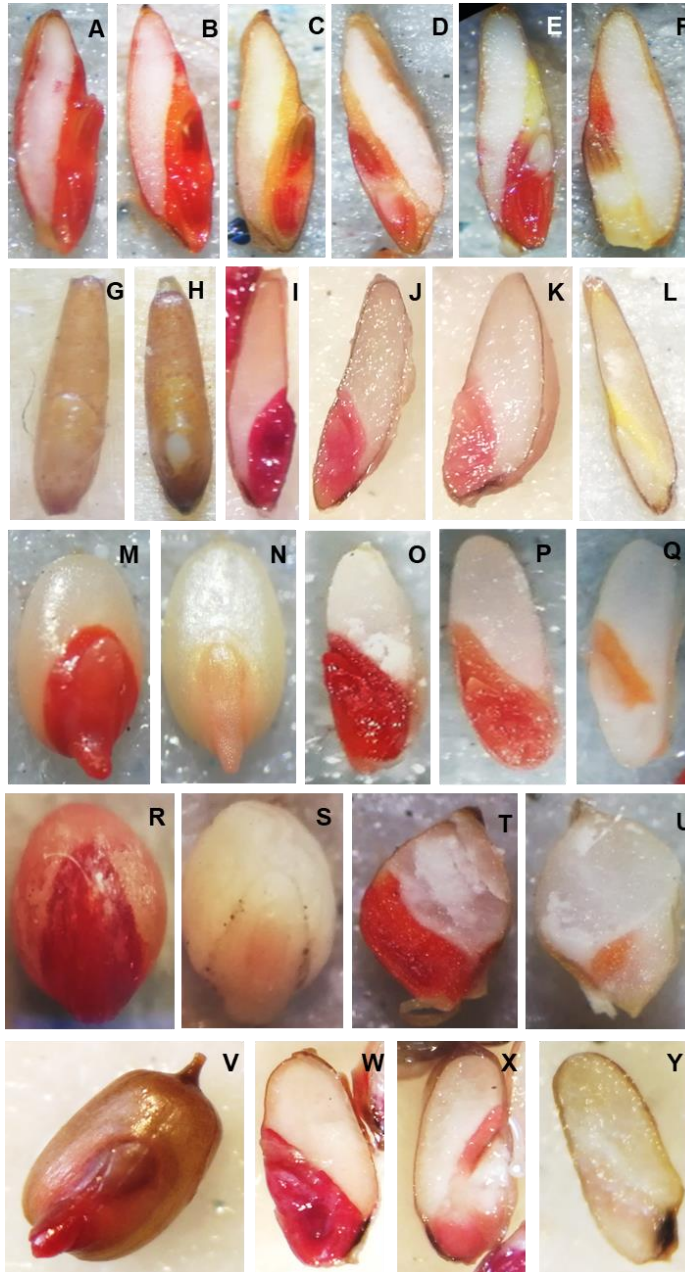


Figura 2. Cariópsides completas y con corte longitudinal. Se observa distintos tejidos del eje embrionario muertos (sin coloración; F, L, Q, U, Y). A- F) Cs de Banderita; G-L) Cs de pasto Gigante; M-Q) Cs de Punta Blanca; R-U) Cs de Tempranero; V-Y) pasto Buffel.



Banderita *Botueloua curtispindula* (Michx.) Torr. El ANAVA en base a patrones de tinción para las concentraciones de TZ, corte (o no) del eje embrionario y tiempo de imbibición mostró diferencias ($P \leq 0.0001$) entre factores para Cs viables y vigorosas, con vigor medio y no viables. Las interacciones dobles mostraron diferencias ($P \leq 0.0001$) para TC \times CTz, TC \times h, CTz \times h, para todas las variables. La triple interacción TC \times CTz \times h, fue significativa ($P \leq 0.0001$). Concentraciones de TZ de 0.5%, resultaron en 56% de Cs viables y vigorosas y con 1 y 0.1%: 51.8 y 44.3% (Cuadro 1). Al analizar tipos de corte en Cs, se observó que las Cs son semipermeables a TZ, ya que en Cs intactas mostraron 39.8% de Cs viables y vigorosas; por tanto, es necesario realizar corte para la evaluación ($P < 0.05$). En relación a tiempo de imbibición de Cs, Banderita incrementa el número de semilla viable y vigorosa a mayor tiempo de imbibición ($P < 0.05$). A una hora de imbibición, se observó 48%, que contrasta a las 4 y 12 h (52.9 y 53.1%) de embriones viables y vigorosos. Se recomienda embeber por 4 h y posteriormente, realizar el corte.

Cuadro 1. Respuesta (%) a concentraciones de Tetrazolio (TZ), corte y tiempo de imbibición (h) en cariósidos de *Bouteloua curtispindula* (Michx.) Torr.

Variable	Concentración de TZ (%)				Media	DMSH				
	1	0.5	0.1							
VV (%)	51.8 ^b	56.0 ^a	44.3 ^c		50.7	1.76				
VVM (%)	18.3 ^b	20.8 ^a	9.8 ^c		16.3	1.58				
NV (%)	29.9 ^b	23.2 ^b	45.8 ^a		33.0	2.21				
Corte en cariósido										
	Entero	Longitudinal	Transversal		Media	DMSH				
VV (%)	39.8 ^c	57.9 ^a	54.5 ^b		50.7	1.76				
VVM (%)	13.3 ^c	15.5 ^b	20.2 ^a		16.3	1.58				
NV (%)	47.0 ^a	26.6 ^b	25.3 ^b		33.0	2.21				
Horas de imbibición										
	1	2	3	4	6	8	10	12	Media	DMSH
VV (%)	48.0 ^{bc}	47.9 ^c	51.6 ^{abc}	52.9 ^a	50.7 ^{abc}	50.0 ^{abc}	51.7 ^{ab}	53.1 ^a	50.7	3.73
VVM (%)	11.7 ^c	14.7 ^{bc}	15.0 ^{bc}	16.6 ^{ab}	19.0 ^a	18.7 ^a	17.8 ^{ab}	17.2 ^{ab}	16.3	3.36
NV (%)	40.3 ^a	37.4 ^{ab}	33.4 ^{bc}	30.6 ^c	30.3 ^c	31.3 ^c	30.6 ^c	29.7 ^c	33.0	4.68

± Medias con la misma letra en cada hilera son estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$). VV= Viables vigorosos; VVM= Viables vigor medio; NV= No viable

Gigante *Leptochloa dubia* (Kunth) Nees. El ANAVA mostró diferencias ($P \leq 0.0001$) entre factores para Cs viables y vigorosas, con vigor medio y no viables. Las interacciones dobles mostraron significancia ($P \leq 0.0001$) para TC \times CTz, CTz \times h para todas las variables y para la interacción TC \times h ($P \leq 0.005$). La triple interacción TC \times CTz \times h fue significativa ($P \leq 0.0001$). La viabilidad y vigor de Cs mostraron que concentraciones de TZ de 1%, se obtuvo 65.9% de Cs viables y vigorosas; mientras que, con el 0.5 y 0.1%, se obtuvo 63.2 y 54.3%, respectivamente (Cuadro 2). Se observó moderada permeabilidad del pericarpio al TZ; en Cs intactos, se obtuvo 51.7% de semillas viables y vigorosas y 73.6 y 58% en Cs con corte longitudinal y transversal, respectivamente. El corte longitudinal resulta en la correcta evaluación en esta especie ($P < 0.05$). A una hora



de imbibición se observó el 39.5%; mientras que a 4, 6 y 12 h: 68.6, 12.4 y 68.9% ($P < 0.05$) de embriones viables y vigorosos, respectivamente.

Cuadro 2. Respuesta (%) a diferentes concentraciones de Tetrazolío (TZ), corte y tiempo de imbibición (h) en cariósides de *Leptochloa dubia* (Kunth).

Variable	Concentración de TZ (%)									
	1	0.5	0.1	Media	DMSH					
VV (%)	65.9 ^a	63.2 ^b	54.3 ^c	61.1	1.8					
VVM (%)	12.2 ^c	16.7 ^a	17.0 ^a	15.3	1.8					
NV (%)	21.9 ^b	20.1 ^b	28.7 ^a	23.6	2.1					
	Corte en cariósido			Media	DMSH					
	Entero	Longitudinal	Transversal							
VV (%)	51.7 ^c	73.6 ^a	58.0 ^b	61.1	1.8					
VVM (%)	19.9 ^a	10.1 ^c	16.0 ^b	15.3	1.8					
No viables (%)	28.4 ^a	16.3 ^c	26.0 ^b	23.6	2.1					
	Tiempo de imbibición (horas)									
	1	2	3	4	6	8	10	12	Media	DMSH
VV (%)	39.5 ^c	42.8 ^c	65.0 ^b	68.6 ^{ab}	68.9 ^a	68.1 ^{ab}	67.7 ^{ab}	68.4 ^{ab}	61	3.9
VVM (%)	24.1 ^a	19.2 ^b	11.6 ^d	12.4 ^{cd}	12.0 ^{cd}	15.8 ^{bc}	16.6 ^b	10.9 ^d	15	3.9
NV (%)	36.4 ^a	38.0 ^a	23.4 ^b	19.0 ^{cd}	19.1 ^{bcd}	16.1 ^d	15.8 ^d	20.7 ^{bc}	23	4.4

± Medias con la misma letra en cada hilera son estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$). VV= Viables vigorosos; VVM= Viables vigor medio; NV= No viable

Punta blanca *Digitaria californica* (Benth.) Henrard. El ANAVA de tinción mostró diferencias ($P \leq 0.0001$) entre factores evaluados para Cs viables y vigorosas, con vigor medio y no viables; lo anterior, excepto para TC ($P > 0.05$). En interacciones dobles TC \times CTz ($P \leq 0.006$), TC \times h ($P \leq 0.03$), para Cs vivas y vigorosas CTz \times h y ($P \leq 0.0003$) para Cs viables vigor medio. La triple interacción TC \times CTz \times h, fue significativa ($P \leq 0.0001$). La viabilidad y vigor de Cs a CTz de 1% fue de 83.2% de Cs viables y vigorosas; mientras que, con 0.5 y 0.1%, se obtuvieron 80.4 y 72.4%, respectivamente (Cuadro 3). Los cortes en Cs mostraron 76.6% de semilla viable y vigorosa, 4.2 y 2.5% menor respecto a Cs enteras y corte transversal; lo anterior, permite el uso Cs completas ($P < 0.05$). Se requiere monitorear la permeabilidad de testa a TZ, dado que podría relacionarse con el vigor. Tempranero y Punta blanca mostraron menor viabilidad a mayor tiempo de imbibición: Cs con una hora de imbibición mostraron 93.8% y a 4, 8 y 12 h: 83, 70 y 61% de embriones viables vigorosos, respectivamente.

Tempranero *Setaria macrostachya* (Kunth). El ANAVA de patrones de tinción obtenidos al evaluar CTz y h de imbibición mostró diferencias ($P \leq 0.0001$) excepto para TC ($P \leq 0.0243$) para Cs viables y vigorosas, con vigor medio y no viables. Las interacciones dobles mostraron significancia ($P \leq 0.0001$) para TC \times CTz, CTz \times h, no así para TC \times h ($P \leq 0.0007$, 0.0327 y 0.0009 para Cs viables y vigorosas, con vigor medio y no viables, respectivamente). La triple interacción TC \times CTz \times h, fue significativa ($P \leq 0.0007$; $P \leq 0.0175$, para Cs viables y vigorosas, con vigor medio), pero fue altamente



significativa para Cs no viables. La viabilidad y vigor de Cs mostraron diferencias ($P \leq 0.02$) a concentraciones de TZ de 0.5%, con 6.7 y 8.3% mayor cantidad de Cs viables y vigorosas, en comparación con 1 y 0.01% de concentración de TZ (Cuadro 4). El mismo comportamiento se observó para Cs de viabilidad y vigor medio, con coloración rosa débil y tejido teñido en su totalidad sobre el eje embrionario. Al evaluar tipos de corte de Cs, se obtuvieron diferencias ($P \leq 0.0001$) y se observó que la Cs de esta especie es permeable a TZ. En Cs completas, se obtuvo 31.1% de semilla viable y vigorosa, tan solo 1.9 y 1.3% superior a Cs sometidas a corte longitudinal y transversal; por tanto, es posible realizar la prueba en Cs intactas. Respecto a imbibición de Cs se observaron diferencias ($P \leq 0.0001$), al sumergir las Cs en agua destilada por 4, 8 y 12 h, se registraron 28.9, 15.4 y 9.6% de embriones viables y vigorosos, en comparación con aquellos sometidos a una hora de imbibición, con 58.3% de embriones viables y vigorosos. A mayor tiempo de imbibición las Cs muestran aborto del embrión. Es importante mencionar que esta semilla es especialmente delicada y susceptible a escarificación manual, lo que dificulta la obtención de Cs intactas para pruebas; por tanto, Cs intactas es buena alternativa.

Cuadro 3. Respuesta (%) a diferentes concentraciones de Tetrazolio (TZ), corte y tiempo de imbibición (h) en cariósides de *Digitaria californica* (Benth.) Henrard.

Variable	Concentración de TZ (%)									
	1	0.5	0.1	Media	DMSH					
VV (%)	83.2 ^a	80.4 ^b	72.4 ^c	78.7	1.8					
VVM (%)	11.0 ^b	8.8 ^c	14.4 ^a	11.4	1.7					
NV (%)	5.88 ^c	10.9 ^b	13.2 ^a	10.0	1.9					
	Corte en cariósido			Media	DMSH					
	Entero	Longitudinal	Transversal							
VV (%)	76.6 ^c	81.0 ^a	78.4 ^b	78.7	1.8					
VVM (%)	11.5 ^a	11.4 ^a	11.2 ^a	11.4	1.7					
NV (%)	12.0 ^a	7.8 ^b	10.2 ^a	10.0	1.9					
	Tiempo de imbibición (horas)								Media	DMSH
	1	2	3	4	6	8	10	12		
VV (%)	93.8 ^a	90.7 ^{ab}	87.6 ^b	82.9 ^c	76.7 ^d	69.7 ^e	67.4 ^e	60.6 ^f	78.65	3.76
VVM (%)	2.9 ^e	4.2 ^{de}	7.0 ^{cd}	10.0 ^c	9.8 ^c	15.4 ^b	18.9 ^b	22.7 ^a	11.36	3.64
NV (%)	3.3 ^b	5.1 ^b	5.4 ^b	7.1 ^b	13.6 ^a	14.9 ^a	13.7 ^a	16.8 ^a	9.99	3.94

± Medias con la misma letra en cada hilera son estadísticamente iguales (Tukey $P \leq 0.05$). VV= Viables vigorosos; VVM= Viables vigor medio; NV= No viable

Buffel (*Pennisetum ciliare* (L.) Link. El ANAVA de los patrones de tinción observados mostraron diferencias ($P \leq 0.0001$) entre factores evaluados para Cs viables y vigorosas, con vigor medio y no viables. Las interacciones dobles mostraron alta significancia ($P \leq 0.0001$) para TC x CTz, TC x h, CTz x h para todas las variables. Pero no así para la triple interacción TC x CTz x h ($P < 0.0117$; $P < 0.0004$; $P < 0.0003$; para Cs viables y vigorosas, con vigor medio y no viables, respectivamente). La viabilidad y vigor en Cs de Buffel muestran que con TZ al 0.5%, se obtuvo 30.5% de Cs viables y vigorosas; mientras que, con 1 y 0.1%, 27.7 y 30.1%, respectivamente (Cuadro 5). Al analizar distintos cortes de



Cs, se observó que la testa no es permeable a TZ; por tanto, se puede realizar cualquier tipo de corte para la correcta evaluación ($P < 0.05$). El tiempo de imbibición de la Cs resulta importante para esta especie, a una hora de imbibición, se observó el 21.4%; mientras que, a 12 h, 37.2% de embriones viables y vigorosos. Por tanto, doce horas establecidas para realizar la lectura, permite la correcta evaluación.

Cuadro 4. Respuesta (%) a diferentes concentraciones de Tetrizolio (TZ), corte y tiempo de imbibición (h) en cariósides de *Setaria macrostachya* (Kunth).

Variable	Concentración de TZ (%)									
	1 %	0.5 %	0.1 %	Media	DMSH					
VV (%)	28.3 ^b	35.0 ^a	26.8 ^b	30.0	1.6					
VVM (%)	15.8 ^b	21.3 ^a	14.9 ^b	17.4	1.8					
NV (%)	55.9 ^b	43.7 ^c	58.3 ^a	52.6	2.3					
Corte en cariósides										
	Sin corte	Longitudinal	Transversal	Media	DMSH					
Viables vigorosos (%)	31.1 ^a	29.2 ^b	29.8 ^{ab}	30.0	1.7					
Viables vigor medio (%)	21.6 ^a	16.1 ^b	14.3 ^c	17.4	1.8					
No viables (%)	47.3 ^b	54.7 ^a	55.9 ^a	52.6	2.3					
Tiempo de imbibición (h)										
	1	2	3	4	6	8	10	12	Media	DMSH
VV (%)	58.3 ^a	52.3 ^b	40.0 ^c	28.9 ^d	24.2 ^e	15.4 ^f	11.4 ^g	9.6 ^g	30.0	3.5
VVM (%)	13.8 ^{de}	16.9 ^{cd}	23.1 ^b	27.1 ^a	18.1 ^c	15.3 ^{ode}	12.8 ^e	11.7 ^e	17.4	3.8
NV (%)	27.9 ^f	30.8 ^f	36.9 ^e	44.0 ^d	57.7 ^c	69.2 ^b	75.8 ^a	78.8 ^a	52.6	4.9

± Medias con la misma letra en cada hilera son estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$). VV= Viables vigorosos; VVM= Viables vigor medio; NV= No viable.

Cuadro 5. Respuesta (%) a diferentes concentraciones de Tetrizolio (TZ), corte y tiempo de imbibición (h) en cariósides de *Pennisetum ciliare* (L.) Link.

Variable	Concentración de TZ (%)									
	1	0.5	0.1	Media	DMSH					
VV (%)	27.7 ^b	30.5 ^a	30.1 ^a	29.5	1.7					
VVM (%)	8.2 ^c	15.0 ^a	10.3 ^b	11.2	1.5					
NV (%)	64.1 ^a	54.5 ^c	59.5 ^b	59.4	2.0					
Corte en cariósides										
	Entero	Longitudinal	Transversal	Media	DMSH					
VV (%)	0.0 ^b	44.8 ^a	43.6 ^a	29.5	1.7					
VVM (%)	1.2 ^c	17.6 ^a	14.7 ^b	11.2	1.5					
NV (%)	98.8 ^a	37.6 ^c	41.7 ^b	59.4	2.0					
Tiempo de imbibición (horas)										
	1	2	3	4	6	8	10	12	μ	DMSH
VV (%)	21.4 ^d	22.4 ^d	24.8 ^{cd}	26.4 ^c	30.0 ^b	36.1 ^a	37.2 ^a	37.2 ^a	29.5	3.5
VVM (%)	17.2 ^a	13.8 ^b	10.2 ^{cd}	11.8 ^{bc}	11.6 ^{bc}	8.7 ^{cd}	7.2 ^d	9.0 ^{cd}	11.2	3.3
NV (%)	61.3 ^{ab}	63.8 ^a	65.0 ^a	61.8 ^{ab}	58.4 ^{bc}	55.2 ^{cd}	55.6 ^{cd}	53.8 ^d	59.4	4.3

± Medias con la misma letra en cada hilera son estadísticamente iguales (Tukey $p \leq 0.05$). VV= Viables vigorosos; VVM= Viables vigor medio; NV= No viable



Para concentraciones de TZ evaluadas los embriones adquieren tonalidades adecuadas para conteo final, en ninguna concentración probada se observó rojo intenso en tejidos embrionarios que hayan impedido identificar daños en estructuras embrionarias. Las Cs expuestas a concentraciones de TZ de 0.1, 0.5 y 1% por 12h, mostraron ser adecuadas, dados los resultados similares, ya que tejidos vivos y vigorosos adquieren coloración uniforme; lo anterior, indica que tejidos en contacto con TZ reaccionaron con los H⁺ producto de la respiración celular, lo que facilita la coloración rosa rápida y uniforme; por esta razón, la prueba de TZ es considerada un método colorimétrico confiable, ya que indica la presencia de enzimas activas: peroxidasa, esterasa y deshidrogenasa ([Carvalho et al., 2013](#)); sin embargo, esto contradice lo encontrado en cebada donde se observó coloración débil independiente del tiempo de imbibición ([Lopez et al., 2017](#)).

En Poaceae, forrajeras como: *Urochloa* spp., *Chloris gayana*, *Dactylis* spp., *Panicum* spp. y *B. gracilis*, entre otras, las reglas ISTA ([ISTA 2003](#); [ISTA, 2012](#)) establecen que espiguillas sin Cs (semilla verdadera) deben considerarse no viables, pero no especifica cómo expresar flósculos vacíos al realizar la prueba de viabilidad por TZ. Algunos autores han expresado que ISTA demanda, para la evaluación de pureza, determinar porcentaje de flósculos llenos, con cariósido en su interior ([Agüero et al., 2017](#)). Se sugiere, previo a la tinción, realizar cortes en la Cs, de tal manera que se expongan los tejidos al TZ ([ISTA, 2012](#)); sin embargo, no hace referencia al tiempo óptimo de imbibición de la Cs para el reblandecimiento del tejido (testa y endospermo) para realizar un corte certero y por tanto una metodología estandarizada, correcta y repetible. Para Cs pequeñas se debe realizar el corte longitudinal o transversal; sin embargo, no se considera la posibilidad de que algunas especies posean testas permeables a TZ; lo anterior, dado que el corte permite evaluar y diferenciar semillas muertas de aquellas latentes ([Navarro et al., 2015](#)). Diversos factores pueden influir los resultados en la prueba de TZ, muchos relacionados con la metodología empleada; además, la concentración de TZ en la solución, tiempo y temperatura de exposición a TZ y criterios de interpretación ([Lopez et al., 2017](#); [Pereira et al., 2017](#); [Steinbrecher & Leubner, 2017](#)). Por tanto, determinar correctamente patrones de coloración (Fig. 2 a Fig. 8) en la Cs, a diferentes concentraciones de tinción y tiempos de imbibición, aplicables para evaluar las estructuras del eje embrionario con base a la coloración obtenida, permitirá establecer de forma rápida la calidad del lote de semilla. En condiciones de campo una mayor tasa de imbibición puede ser ventaja para la semilla debido a que el endospermo toma más tiempo para hidratarse que el embrión ([Carvalho et al., 2013](#); [Lopez et al., 2017](#)). Los protocolos de *Panicum* ([ISTA, 2012](#)) no son aplicables a Banderita, Gigante, Punta Blanca, Tempranero y Buffel; lo anterior, debido a que el tiempo de imbibición es específico de especie. Realizar cortes correctos en la Cs implica entrenamiento; lo cual, permite observar estructuras muertas o



necrosadas sobre el eje embrionario, lo que concuerda con Agüero *et al.* (2017) para Buffel. Dependiendo de especie y tamaño de Cs serán las concentraciones de TZ. Para *Solanum lycopersicum* y *Mimosa bimucronata* esta es de 0.075% (Salazar *et al.*, 2020; Ferreira *et al.*, 2020), en 17 especies altoandinas, se encontró que la mejor condición de evaluación fue 1 a 1,5% TZ, 40°C y 24 horas de exposición a la solución (Mancipe *et al.*, 2018); mientras que, para Cebada se recomienda preacondicionar semilla en inmersión directa en H₂O y tinción por inmersión en concentración al 0.1% o al 0.5% de TZ o bien, realizar tinción sobre papel filtro humedecido con TZ al 1.0% (Lopez *et al.*, 2017). En trigo se recomienda realizar pre acondicionamiento de semilla en toallas de papel por 18 horas, a 20°C y posteriormente, la tinción con TZ puede ser eficiente desde 0.075 hasta 1.0% (Carvalho *et al.*, 2013). En *Cucumis anguria* se recomienda realizar la prueba de viabilidad a 0.05% de concentración por seis horas a 35 °C o cuatro horas a 40 °C (Pereira *et al.*, 2017). Lo anterior muestra la importancia de proponer especificaciones de acuerdo a la especie de interés, pues todas responden a concentraciones de TZ diferentes.

CONCLUSIONES

Los protocolos ISTA para viabilidad en Poaceae no son directamente aplicables para *B. curtipendula*, *L. dubia*, *D. californica*, *S. macrostachya* y *C. ciliaris*. El tiempo de imbibición para estas especies es de 3 a 4 h, se recomienda usar TZ al 0.5% y evaluar 12 h post-inicio del contacto Cs-TZ. El corte longitudinal completo es adecuado para una correcta evaluación de estructuras embrionarias en estas especies. Punta Blanca y Tempranero poseen testa permeable a TZ, por lo que es posible realizar la evaluación con Cs intactos.

LITERATURA CITADA

AGÜERO CG, Pereyra GR, Rol RO. 2017. Método alternativo de germinación para determinar la calidad de semillas en Buffel Grass (*Cenchrus ciliaris* L.). *AgriScientia*. 34(1):47-58. <https://doi.org/10.31047/1668.298x.v36.n2.24833>

CARVALHO CT, Krzyzanowski FC, Castro OO, Panobianco M. 2013. Tetrazolium test adjustment for wheat seeds. *Journal of Seed Science*. 35(3): 361-367. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000300013>

DELOUCHE J, Baskin CC. 1973. Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*. 1: 427-452. <https://scholarsjunction.msstate.edu/seedtechpapers/10>



ISTA (International Seed Testing Association). 2003. International Rules for Seed Testing. Working Sheets on Tetrazolium Testing. Volume 1. Zürich. ISBN: 9783906549408. <https://www.seedtest.org/en/handbooks-calibration-samples/working-sheets-on-tetrazolium-testing-volume-i-1st-edition-2003-product-1037.html>

ISTA (International Seed Testing Association). 2012. International Rules for Seed Testing. Seed Sci. and Technology 31, Supplement. Zürich. <https://www.yumpu.com/en/document/view/27323745/international-rules-for-seed-testing-2012-international-seed->

ISTA (International Seed Testing Association). 2016. International Rules for Seed Testing. Zürichtr. 50, CH-8303 Bassersdorf, Suiza. https://www.merconet.eu/files/Seed_Sampling_I_S_T_A.pdf

LOPEZ del EL, Navarro MD, Martinez HV, Toorop PE, Lannetta PPM. 2017. A spectrophotometric assay for robust viability testing of seed batches using 2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride: Using *Hordeum vulgare* L. as a model. *Front Plant Sci.* 16(8):747. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00747>

MANCIPE MC, Calderón HM, Pérez MLV. 2018. Evaluación de viabilidad de semillas de 17 especies tropicales altoandinas por la prueba de germinación y de tetrazolio. *Caldasia.* 40(2):366. ISSN 0366-5232. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v40n2.68251>

FERREIRA de AMLD, Andrade MJJL, Ferreira V, Araujo NJ. 2020. Viability *Mimosa bimucronata* (DC.) O. Kuntze. seeds by the tetrazolium test and oil content. *Diversitas Journal.* 5(3):1575–1587. ISSN 2525-5215. <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v5i3-846>

NAVARRO M, Febles G, Herrera RS. 2015. Vigor: essential element for seed quality. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola.* 49(4): 447-458. ISSN: 0034-7485. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193045908003>

PEREIRA de PE, Barros TS, Nobre de AJP, Vanies da SSF, Torquato ORR. 2017. Tetrazolium test for the viability of gherkin seeds. *Ciência Agronômica.* 48(1): 118-124. ISSN: 0045-6888. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195347767013>



QUERO CAR, Hernández GFJ, Pérez RP, Hernández LA, García de los SG, Landa SP, Ramírez SSE. 2017. Germinación de cariósides clasificados por tamaño y diásporas de cuatro pastos para temporal semiárido. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8(3): 489-502. ISSN 2007-0934. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i3.26>

QUERO CAR, E Flores A. 2023. Gramíneas Nativas: Importancia e Impacto en Ecosistemas Ganaderos. Serie Biblioteca Básica de Agricultura. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Pp. I-III. ISBN: 978-607-715-461-7

SALAZAR MSA, Botello DEA, Quintero CJD. 2020. Tetrazolium test optimization to evaluate the viability in *Solanum lycopersicum* L. seeds. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 21(3): e1344. ISSN: 0122-8706. ISSN: 2500-5308.
https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1344

SNICS (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas). 2023. Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVV) 2022.
<https://www.gob.mx/snics/articulos/catalogo-nacional-de-variedades-vegetales-cnvv-2022>

STEINBRECHER T, Leubner MG. 2017. The biomechanics of seed germination. *J of Experimental Botany*. 68(4): 765–783. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw428>

SAS (Statistical Analysis Software). 2013. Users' Guide Statistics Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary.
[https://www.scrip.org/\(S\(czeh2tfqw2orz553k1w0r45\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2911957](https://www.scrip.org/(S(czeh2tfqw2orz553k1w0r45))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2911957)

[Errata Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>