

## El índice mitótico como parámetro estimador de la tolerancia a bajas temperaturas durante la germinación de *Zea mays*

Chorzempa, Silvia Elena<sup>1,6</sup>; Omar Salvador Perniola<sup>2</sup>; Sandra Marilín Moscheñski<sup>1</sup>; Cesar López<sup>1</sup>; Francisco Pantuso<sup>3,4</sup>; María del Carmen Molina<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, UNLZ. Ruta 4, Km 2, Llavallol, CP 1836, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Instituto Fitotécnico de Santa Catalina, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Garibaldi 3400, Llavallol, CP 1836, Buenos Aires, Argentina; <sup>3</sup>Departamento de Tecnología, UNLu, Ruta 5 y 7, Luján, CP 6700, Buenos Aires, Argentina; <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, UM, Cabildo 134, Morón, CP 1708, Buenos Aires, Argentina; <sup>5</sup>CONICET; <sup>6</sup>chorzempa2000@yahoo.com.ar

Chorzempa, Silvia Elena; Omar Salvador Perniola; Sandra Marilín Moscheñski; Cesar López; Francisco Pantuso; María del Carmen Molina (2017) El índice mitótico como parámetro estimador de la tolerancia a bajas temperaturas durante la germinación de *Zea mays*. Rev. Fac. Agron. Vol 116 (2): 259-266.

Para la identificación de germoplasmas de maíz (*Zea mays* L.) tolerantes a bajas temperaturas se utilizan distintas técnicas basadas en la medición de diversas características fenotípicas. El índice mitótico es un parámetro poco explorado y de rápida determinación, que podría ser de gran utilidad para este propósito. Los objetivos de este trabajo fueron: i) evaluar la tolerancia a frío durante el proceso germinativo de cinco líneas de maíz y un testigo, mediante la medición del índice mitótico, poder germinativo, índice de germinación relativo, longitud de la radícula y relación entre el peso seco de los coleoptiles y el de las raíces y ii) correlacionar el índice mitótico con las otras variables, para determinar su posible utilización como parámetro estimador de tolerancia a bajas temperaturas. Las líneas de maíz evaluadas fueron: SC1, SC3, SC4, SC5, SC9 y el testigo Mo17. Se sembraron entre papeles 50 semillas de cada una de las líneas de maíz y se incubaron a dos regímenes térmicos: 15±1°C/8±1°C, 12h/12h luz-oscuridad, durante 24 días (tratamiento a bajas temperaturas) y 30±1°C/20±1°C, 12h/12h luz-oscuridad, durante 10 días (control, a temperaturas óptimas). Para cada línea se evaluó el comportamiento a las bajas temperaturas mediante la comparación de los parámetros evaluados en ambos tratamientos térmicos. El genotipo con mayor tolerancia a frío durante el proceso de germinación fue la línea SC1. El índice mitótico se correlacionó con los otros parámetros y podría ser utilizado como una herramienta más para identificar maíces tolerantes a bajas temperaturas durante la germinación.

**Palabras clave:** tolerancia a frío, maíz, mitosis, germinación, estrés abiótico.

Chorzempa, Silvia Elena; Omar Salvador Perniola; Sandra Marilín Moscheñski; Cesar López; Francisco Pantuso; María del Carmen Molina (2017) The mitotic index as an estimator parameter for tolerance to low temperature during germination of *Zea mays*. Rev. Fac. Agron. Vol 116 (2): 259-266.

To identify germplasm of maize (*Zea mays* L.) tolerant to low temperatures are used different techniques of measurement of various phenotypic characteristics. The mitotic index is a parameter poorly explored and of rapid determination, that could be very useful for this purpose. The aims of this study were: i) to evaluate the cold tolerance during germination of five lines of maize and a control, by measuring of mitotic index, germination power, relative germination rate, radicle length and relationship between the dry weight of the coleoptiles and roots and ii) to correlate the mitotic index with the other variables to determine the possibility of their use as estimator parameter of tolerance to low temperatures. Maize lines evaluated were: SC1, SC3, SC4, SC5, SC9 and the control Mo17. In laboratory, 50 seeds of each maize lines were seeded between papers and incubated at two thermal regimes: 15±1°C/8±1°C, 12h/12h light-dark, for 24 days (treatment at low temperatures) and 30±1°C/20±1°C, 12h/12h light-dark, for 10 days (control, at optimal temperatures). For each line was evaluated the performance to low temperatures by comparing the measured parameters in both thermal treatments. SC1 line was genotype with most cold tolerance during the germination process. The mitotic index was correlated with the other parameters and could be used as instrument to identify maize tolerant to low temperatures during germination.

**Key words:** cold tolerance, maize, mitosis, germination, abiotic stress.

Recibido: 17/10/2016

Aceptado: 28/09/2017

Disponible on line: 1/04/2018

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

## INTRODUCCIÓN

La temperatura es una de las variables ambientales que más inciden sobre el desarrollo del cultivo de maíz (*Zea mays* L.) (Cirilo et al., 2015). La temperatura base de esta especie depende del genotipo y varía entre 6°C y 12°C. Los maíces argentinos y de otras regiones templadas tienen una temperatura base promedio de 8°C (Otegui & López Pereira, 2003). Esta especie es muy sensible a las bajas temperaturas durante todas las etapas ontogénicas (Miedema, 1982; Zaidi et al., 2010) y puede morir por la exposición a temperaturas cercanas a 0°C (Restrepo et al., 2013).

Durante el proceso de germinación, la temperatura influye principalmente en la actividad enzimática necesaria para la degradación de las sustancias de reserva. El mayor efecto nocivo de las bajas temperaturas con humedad ocurre durante la etapa de imbibición-activación enzimática de la semilla. La entrada de agua fría produce daño en las membranas celulares, lo cual, sumado a la exudación del contenido celular, facilita la entrada de hongos (Gámez-Vázquez et al., 2015; Olivares et al., 1990).

En el momento de la siembra del maíz, la probable ocurrencia de temperaturas subóptimas en el suelo ralentiza la germinación y emergencia de las plántulas e incrementa la probabilidad de daño por frío. En los últimos años, más del 80% de la superficie cultivada con maíz en Argentina se realiza mediante el sistema de siembra directa (MAIZAR, 2013), que presenta temperatura de suelos inferiores con respecto al sistema de labranza convencional, debido a la mayor cobertura superficial, lo cual puede afectar el desarrollo de los cultivos en los primeros estadios de crecimiento (Elissondo et al., 2001; Opoku et al., 1997; Rizzalli, 1998). Por ello, no solamente es fundamental la obtención de cultivares tolerantes al frío capaces de germinar y sobrevivir a bajas temperaturas (Cárcova et al., 2003) sino también la identificación de genotipos que sean capaces de crecer rápida y uniformemente a temperaturas subóptimas (Bosch et al., 1988; Revilla et al., 2000).

Para identificar y seleccionar germoplasma de maíz tolerante a bajas temperaturas, en condiciones de laboratorio, varios investigadores han utilizado técnicas basadas en la exposición de materiales a temperaturas subóptimas en las primeras etapas ontogénicas y la medición de características fenotípicas como energía y poder germinativo, velocidad de germinación y emergencia, peso fresco y seco de las plántulas, relación peso seco del vástago/peso seco de la radícula, longitud de coleoptile, desarrollo de raíces primarias y secundarias, área foliar y cambios en la pigmentación de las hojas (Gámez Vázquez et al., 2015; Haldimann, 1999; Hernández Guzmán et al., 2000; Hodges et al., 1995; Hund et al., 2008; Martínez Solís et al., 2010). El índice mitótico es un parámetro poco explorado y de rápida determinación, que podría ser de utilidad para identificar genotipos de maíz tolerantes a bajas temperaturas.

Al igual que con cualquier otro componente del crecimiento de las plantas, la división celular está influenciada por la temperatura (Creber et al., 1993). López-Sáez et al. (1966), hallaron que la velocidad del ciclo celular aumenta en proporción casi lineal de 10°C

a 30°C en *Allium cepa* L. Para evaluar los efectos de la temperatura sobre el crecimiento meristemático, algunos autores midieron el tiempo que tardan todas las células de un meristema en dividirse. En meristemas de raíz de *Zea mays*, ese tiempo disminuye 21 veces cuando la temperatura incrementa de 3°C a 25°C. (Francis & Barlow, 1988). Esto implica que las divisiones celulares se producen con una mayor frecuencia y una forma de determinarlo es mediante el cálculo del índice mitótico de las radículas. En varias especies el índice mitótico ha sido utilizado para determinar la incidencia de diversos factores sobre la germinación. Álvarez et al. (2006), analizaron la germinación de *Vicia faba* L. en presencia de mercurio, mediante la estimación del índice mitótico de las radículas y observaron que la frecuencia de células en división disminuyó con el incremento de la concentración de ese metal. Observaciones similares fueron realizadas por Álvarez Bello et al. (2012) y por Kiran & Şahin (2006) tras haber trabajado con aluminio en arroz (*Oryza sativa* L.) y cadmio en lenteja (*Lens culinaris* Medik.), respectivamente. Otros investigadores encontraron una disminución del índice mitótico en el ápice de las radículas de cebolla (*Allium cepa* L.) coincidente con el aumento de la concentración de extracto de *Typha domingensis* Pers. (Gallardo-Williams et al., 2002) y de *Vernonia condensata* Baker (Iganci et al., 2006). El índice mitótico también fue utilizado como parámetro para evaluar el efecto de distintas concentraciones de herbicidas sobre la germinación (Sanjay, 2010). Razu et al. (2012) sugirieron que la disminución del índice mitótico, al aumentar la concentración de herbicidas, podría deberse a la inhibición de la síntesis de hormonas, enzimas y ácidos nucleicos. En maíz, Lijima et al. (2003) hallaron que la compactación del suelo afectó el índice mitótico y provocó un decrecimiento en la producción de células del meristema de la raíz y una tendencia opuesta al incrementar la tasa de división celular en la cofia de raíces compactadas. Sacks et al., (1997) estudiaron el efecto del estrés hídrico sobre el índice mitótico en raíces de maíz y observaron que no se produjo una disminución significativa de la velocidad de crecimiento en los dos primeros milímetros del ápice; sin embargo, la tasa de división celular disminuyó hacia el extremo basal del meristema.

Los objetivos de este trabajo fueron: i) evaluar la tolerancia a frío durante el proceso de germinación de cinco líneas de maíz y un testigo, mediante la medición y evaluación del índice mitótico en ápices de las radículas (IM), el poder germinativo (PG), el índice de germinación relativo (IGr), la longitud de la radícula (LR) y la relación entre el peso seco de los coleoptiles y el de las raíces (PSc/PSr) y ii) correlacionar el índice mitótico con las otras variables evaluadas, para determinar la posibilidad de su utilización como parámetro estimador de la tolerancia a estrés por bajas temperaturas en maíz.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se evaluaron cinco líneas de maíz pertenecientes al Instituto Fitotécnico de Santa Catalina (IFSC), Llavallol,

Buenos Aires, Argentina, obtenidas a partir de la endocría de plantas procedentes de poblaciones recolectadas en el noroeste de la provincia de Chubut (SC1 y SC3), en la Décima Región de Chile (SC4 y SC5) y en Pergamino, zona núcleo maicera de la provincia de Buenos Aires (SC9). También fue evaluada una línea testigo, Mo17, ampliamente difundida. La endocría de las líneas se realizó en el campo experimental del IFSC y las determinaciones de los parámetros pertinentes al ensayo, en el Laboratorio de Semillas de la misma institución.

#### Determinación del índice mitótico

El ensayo para evaluar el índice mitótico tuvo un diseño totalmente aleatorizado con 5 repeticiones. Se desinfectaron con alcohol 70% (v/v) 50 cariopses de cada una de las líneas de maíz y se sembraron entre papeles absorbentes humedecidos a saturación, a tresbolillo y con la misma orientación en relación al extremo proximal. Los papeles se enrollaron y mantuvieron verticalizados dentro de bolsas de PVC para evitar la pérdida de humedad. Se incubaron en una cámara de germinación a  $15\pm 1^\circ\text{C}/8\pm 1^\circ\text{C}$ , con fotoperiodo de 12h/12h luz-oscuridad (tratamiento a bajas temperaturas). Para el control se siguió el mismo procedimiento, pero los cariopses se incubaron a  $30\pm 1^\circ\text{C}/20\pm 1^\circ\text{C}$  (temperaturas óptimas para la germinación del maíz), con fotoperiodo de 12h/12h luz-oscuridad. Diariamente se revisaron los rollos de papel y se extrajeron las radículas de las semillas recién germinadas, que se fijaron en solución Carnoy (3:1 alcohol etílico/ácido acético) por un periodo de siete días. Previamente al montaje del preparado, las radículas fueron tratadas con ácido clorhídrico 5N entre 20' y 40' a temperatura ambiente, para hidrolizar los tejidos. Luego se enjuagaron con agua destilada, se cortaron los ápices y se tiñeron con hematoxilina acética utilizando citrato férrico como mordiente. Se realizaron cinco preparados por cada línea y se contabilizaron más de 500 células por cada uno de ellos. Para ambos tratamientos térmicos, se contó el número de células que se encontraron en división mitótica y el número de células totales. Se calculó el índice mitótico como:

$$\text{IM} = \text{CM}/\text{CT} * 100$$

donde:

IM: índice mitótico

CM: número de células en división mitótica

CT: número de células totales observadas

#### Determinación de los parámetros PG, IGr, LR y PSc/PSr

Se realizó un ensayo totalmente aleatorizado, con tres repeticiones por tratamiento, con el propósito de medir: PG, IGr, LR y PSc/PSr. Mediante el mismo procedimiento descrito anteriormente, se incubaron entre papeles, 50 semillas de cada una de las líneas de maíz, por cada tratamiento térmico. Para el tratamiento control ( $30\pm 1^\circ\text{C}/20\pm 1^\circ\text{C}$ ), el tiempo de incubación fue de 10 días con fotoperiodo de 12h/12h luz-oscuridad, según las especificaciones del International Seed Testing Association (ISTA, 2016). En el tratamiento a

bajas temperaturas ( $15\pm 1^\circ\text{C}/8\pm 1^\circ\text{C}$ ), los cariopses se incubaron durante 24 días con el mismo fotoperiodo.

Para determinar el PG, se calculó, por cada línea de maíz, el porcentaje de plántulas normales observadas al finalizar la incubación (ISTA, 2013) en ambos tratamientos térmicos.

Diariamente se contabilizó el número de plántulas normales y se calculó el índice de germinación relativo (IGr), basado en la prueba de velocidad de emergencia propuesta por Maguire (1962), que permitió comparar ambos periodos de incubación, mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IGr} = (\sum(p_{d_n} * d_n)) * p_{l_t}^{-1} * D^{-1}$$

Donde:

$p_{d_n}$ : plántulas normales observadas en el  $d_n$

$p_l$ : total de plántulas normales al finalizar el ensayo

$d_n$ : número de días desde el inicio del ensayo

D: duración total del ensayo (días)

Posteriormente, para cada una de las líneas, se calculó:

$$\text{DIGr} = \text{IGr}_F - \text{IGr}_C$$

Donde:

DIGr: diferencia del índice de germinación relativo entre tratamientos térmicos

$\text{IGr}_F$ : índice de germinación relativo del tratamiento a bajas temperaturas

$\text{IGr}_C$ : índice de germinación relativo del control

Al finalizar el período de incubación se midió la longitud de las radículas de las plántulas normales y se calculó para cada línea:

$$\text{PLR} = \text{LR}_F/\text{LR}_C$$

Donde:

PLR: proporción entre las longitudes medias de las radículas de ambos tratamientos térmicos

$\text{LR}_F$ : longitud media de radícula del tratamiento a bajas temperaturas

$\text{LR}_C$ : longitud media de radícula del control

Los coleoptiles y las raíces de las plántulas normales fueron separados de los cariopses y secados en estufa a  $60^\circ\text{C}$ , hasta alcanzar un peso constante. Se efectuaron las pesadas de los coleoptiles y de las radículas y se calcularon sus medias. Luego, se calcularon las diferencias:

$$D(\text{PSc}/\text{PSr}) = \text{PSc}_C/\text{PSr}_C - \text{PSc}_F/\text{PSr}_F$$

Donde:

$D(\text{PSc}/\text{PSr})$ : diferencia del cociente entre el peso seco medio de los coleoptiles y el peso seco de las radículas entre tratamientos térmicos.

$\text{PSc}_F/\text{PSr}_F$ : cociente entre el peso seco medio de los coleoptiles y el peso seco medio de las raíces del tratamiento a bajas temperaturas.

$\text{PSc}_C/\text{PSr}_C$ : cociente entre el peso seco medio de los coleoptiles y el peso seco medio de las raíces del control.

**Análisis estadístico**

Se efectuaron ANVA simples a los parámetros DIGr, PLR y D(PSc/PSr) y ANVA con arreglo factorial a los parámetros IM y PG. Los datos de PG fueron transformados, por no cumplir con el supuesto de homocedasticidad, mediante la aplicación de la fórmula arcoseno  $\left(\frac{PG+3/8}{n+3/4}\right)^{0,5}$ , donde n es el número de cariopses sembrados (Layne-Garsaball & Méndez-Natera, 2007). Las medias de todos los parámetros evaluados se compararon con la prueba de Tukey y cuando fue necesario se efectuaron contrastes ortogonales para comparar pares de líneas en particular. Se realizó un análisis de correlación entre todos los parámetros.

Los tratamientos estadísticos fueron realizados con el software STATISTICA 7 y se procesaron con un 95% de certeza.

**RESULTADOS****Índice mitótico**

Las líneas SC1, SC3 y SC9 no presentaron diferencias significativas en los IM entre ambos tratamientos térmicos ( $p \text{ value} \geq 0,46$ ). Además, en esas líneas, los IM registrados en el tratamiento a bajas temperaturas (IM<sub>F</sub>) no se diferenciaron significativamente entre sí ( $p \text{ value} \geq 0,927$ ) y sí lo hicieron de las líneas SC4, SC5 y Mo17. En todos los genotipos evaluados, los IM registrados en el tratamiento control (IM<sub>C</sub>) no difirieron entre sí ( $p \text{ value} \geq 0,182$ ) (Tabla 1, Figura 1).

**Poder germinativo**

Los PG de las líneas SC1, SC3 y SC5 no registraron diferencias significativas entre tratamientos térmicos ( $p \text{ value} = 0,928, 0,07$  y  $0,455$ , respectivamente). (Tabla 2).

Tabla 1. Índices mitóticos de seis líneas de maíz evaluadas con diferentes tratamientos térmicos. IM<sub>F</sub>: índice mitótico del tratamiento a bajas temperaturas ( $15 \pm 1^\circ\text{C}/8 \pm 1^\circ\text{C}$ ); IM<sub>C</sub>: índice mitótico del tratamiento control ( $30 \pm 1^\circ\text{C}/20 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Los valores con letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Línea de maíz	Índice mitótico	
	IM <sub>F</sub>	IM <sub>C</sub>
SC1	6,78 ab	6,29 ab
SC3	6,81 ab	9,11 a
SC4	2,70 cd	8,87 a
SC5	1,45 c	7,13 ab
SC9	5,31 bd	7,24 ab
Mo 17	2,25 cd	8,42 ab

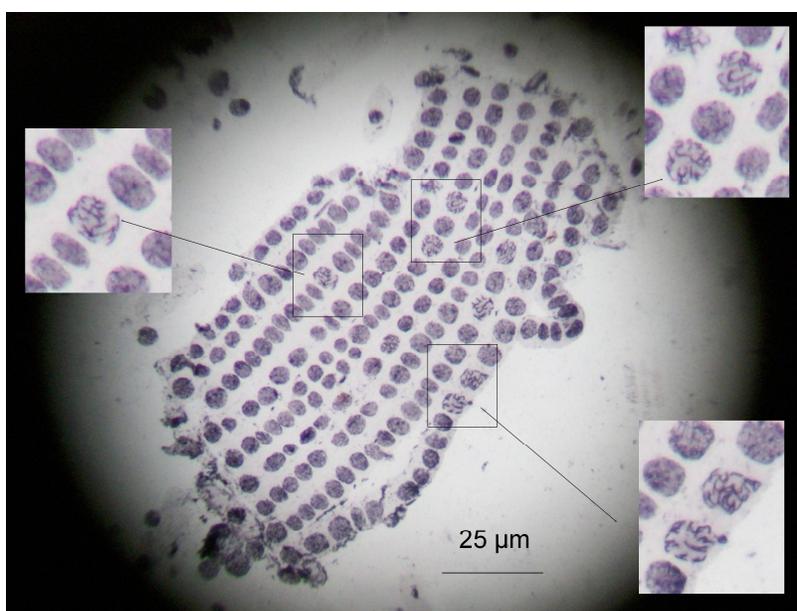


Figura 1. Microfotografía de un segmento del ápice de la radícula de una plántula de maíz de la línea SC1. En los recuadros pueden observarse imágenes ampliadas de tres sectores con células en división mitótica.

Tabla 2. Poder germinativo e índice de germinación relativo de seis líneas de maíz evaluadas con diferentes tratamientos térmicos.  $PG_F$ : poder germinativo del tratamiento a bajas temperaturas ( $15\pm 1^\circ\text{C}/8\pm 1^\circ\text{C}$ );  $PG_C$ : poder germinativo del tratamiento control ( $30\pm 1^\circ\text{C}/20\pm 1^\circ\text{C}$ );  $IGr_F$ : índice de germinación relativo del tratamiento a bajas temperaturas;  $IGr_C$ : índice de germinación relativo del tratamiento control;  $DIGr$ : diferencia entre los índices de germinación relativos de ambos tratamientos térmicos. Para cada parámetro evaluado, los valores con letras distintas indican diferencias significativas por la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Línea de maíz	Poder germinativo		Índice de germinación relativo		
	$PG_F$ (%)	$PG_C$ (%)	$IGr_F$	$IGr_C$	$DIGr$
SC1	88 bcd	94 bc	0,55	0,43	0,12 a
SC3	74 a	87 abcd	0,71	0,48	0,23 bc
SC4	73 a	95 bc	0,62	0,38	0,24 bc
SC5	82 abd	73 a	0,60	0,47	0,13 ab
SC9	77 ad	98 c	0,73	0,31	0,42 cd
Mo17	52 e	90 bcd	0,76	0,46	0,30 d

### Índice de germinación relativo

En el tratamiento a bajas temperaturas, las líneas SC1, SC5 y SC4 requirieron menor tiempo para alcanzar el máximo porcentaje de germinación (55%, 60% y 62% del tiempo total de incubación, respectivamente). Las  $DIGr$  entre tratamientos térmicos de las líneas SC1 y SC5 fueron las más bajas (0,12 y 0,13, respectivamente) y contrastaron significativamente con las demás ( $p \text{ value} \leq 0,022$ ) (Tabla 2).

### Longitud de radículas

La línea SC1 presentó la mayor PLR y difirió significativamente de las otras líneas ( $p \text{ value} < 0,029$ ) (Tabla 3).

### Peso seco de coleoptiles y raíces

Las líneas SC1 y SC4 presentaron los valores más bajos de  $D(PSc/PSr)$ . Ambas se diferenciaron significativamente del resto y serían las menos afectadas por el tratamiento de germinación en frío ( $p \text{ value} < 0,044$ ) (Tabla 3).

### Correlación del índice mitótico con los otros parámetros evaluados

Los coeficientes de correlación encontrados entre el IM y las otras variables evaluadas fueron significativos ( $p \text{ value} \leq 1 \times 10^{-5}$ ). El IM tiene correlación positiva con el poder germinativo ( $r = 0,534$ ), la longitud de radícula ( $r = 0,621$ ) y con la relación entre el peso seco de los coleoptiles y las raíces ( $r = 0,522$ ), y correlación negativa con el índice de germinación relativo ( $r = -0,592$ ).

### Comportamiento comparativo de las líneas de maíz evaluadas

El criterio aplicado para identificar líneas de maíz tolerantes a bajas temperaturas durante la etapa de germinación, se basó en las diferencias que registraron los parámetros evaluados entre tratamientos térmicos. La línea de maíz que presentó mejor tolerancia fue SC1, ya que registró las menores diferencias entre ambos tratamientos térmicos, para todos los parámetros evaluados. Las líneas SC3 y SC5 sólo mostraron un buen comportamiento a bajas

temperaturas en dos de los cinco parámetros (IM y  $PG$ ) y SC4 y SC9 sólo en un parámetro ( $PSc/PSr$  y IM, respectivamente). La línea testigo Mo17 registró valores disímiles entre ambos tratamientos en todos los casos, lo que demostró nula tolerancia a frío en comparación con las otras líneas evaluadas (Tabla 4).

## DISCUSIÓN

Los parámetros  $PG$ ,  $IG$ ,  $LR$ ,  $PSc$  y  $PSr$  también fueron empleados por otros investigadores para determinar tolerancia a frío y a otros estreses abióticos en maíz y otras especies (Da Cruz *et al.*, 2007; Gámez Vázquez *et al.*, 2015; Pereira da Cruz & Kothe Milach, 2004; Pérez de la Cerda *et al.*, 2007; Revilla *et al.*, 2000). En relación al parámetro IM, algunos investigadores estudiaron el efecto de las bajas temperaturas sobre la duración de la mitosis. Creber *et al.* (1993) trabajaron con poblaciones de *Dactylis glomerata* L. procedentes de diferentes altitudes y latitudes, y midieron la variación del ciclo celular de las radículas, cuando las semillas fueron incubadas a temperaturas de  $10^\circ\text{C}$  y  $20^\circ\text{C}$ ; observaron que las poblaciones provenientes de ambientes más fríos presentaron menor variación en la duración del ciclo celular con respecto a las poblaciones procedentes de altitudes y/o latitudes menores.

Sin embargo, no hay reportes de la utilización del índice mitótico para identificar cultivares de maíz tolerantes a temperaturas subóptimas.

En las líneas SC1, SC3 y SC9, las relaciones  $IM_F/IM_C$  indicarían que la división de las células del ápice de las radículas no resultó alterada cuando las semillas fueron incubadas a temperaturas bajas, en comparación con la incubación a temperaturas óptimas. Sin embargo, los genotipos SC3 y SC9 presentaron valores bajos de PLR que indicarían que el tratamiento a bajas temperaturas posiblemente ralentizó la elongación de las células de la radícula. En la línea SC9, si bien el tratamiento con bajas temperaturas no afectó el índice mitótico, los otros parámetros evaluados no arrojaron resultados similares entre ambos tratamientos.

Tabla 3. Longitud de radículas y relación entre el peso seco de los coleoptiles y las raíces de seis líneas de maíz evaluadas con diferentes tratamientos térmicos. LR<sub>F</sub>: longitud de radículas del tratamiento a bajas temperaturas (15±1°C/8±1°C); LR<sub>C</sub>: longitud de radículas del tratamiento control (30±1°C/20±1°C); PLR: proporción entre las longitudes medias de radícula de ambos tratamientos térmicos; PSc<sub>F</sub>/PSr<sub>F</sub>: relación entre el peso seco de los coleoptiles y las raíces del tratamiento a bajas temperaturas; PSc<sub>C</sub>/PSr<sub>C</sub>: relación entre el peso seco de los coleoptiles y las raíces del tratamiento control; D(PSc/PSr): diferencia de la relación entre el peso seco de los coleoptiles y las raíces entre ambos tratamientos térmicos. Los valores con letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas por la prueba de Tukey (p<0,05).

Línea de maíz	Longitud de radículas			Peso seco de coleoptiles y raíces		
	LR <sub>F</sub> (cm)	LR <sub>C</sub> (cm)	PLR	PSc <sub>F</sub> /PSr <sub>F</sub>	PSc <sub>C</sub> /PSr <sub>C</sub>	D(PSc/PSr)
SC1	5,16	17,04	0,30 a	1,79	1,65	-0,14 a
SC3	2,61	12,19	0,21 bc	0,88	2,29	1,41 d
SC4	4,10	16,38	0,25 b	0,96	1,04	0,08 a
SC5	2,65	15,03	0,18 cd	0,78	1,64	0,86 c
SC9	1,99	15,36	0,13 d	0,54	0,90	0,36 b
Mo 17	2,03	14,46	0,14 d	0,47	0,97	0,49 b

Tabla 4. Comportamiento de seis líneas de maíz frente a dos tratamientos térmicos (15±1°C/8±1°C y 30±1°C/20±1°C) durante la etapa de germinación. IM: índice mitótico del ápice de la radícula; IGr: índice de germinación relativo; PG: poder germinativo; LR: longitud de la radícula; PSc/PSr: relación entre el peso seco de los coleoptiles y el de las raíces. Para cada parámetro, el signo positivo (+) indica que la línea mostró un mejor comportamiento en el tratamiento a bajas temperaturas respecto a otras líneas que tienen signo negativo (-) (p<0,05).

Línea de maíz	Parámetros evaluados				
	IM	IGr	PG	LR	PSc/PSr
SC1	+	+	+	+	+
SC3	+	-	+	-	-
SC4	-	-	-	-	+
SC5	-	+	+	-	-
SC9	+	-	-	-	-
Mo17	-	-	-	-	-

El IM se correlacionó significativamente con los otros parámetros indicadores de tolerancia a bajas temperaturas. Sin embargo, al igual que los demás parámetros, el índice mitótico debería utilizarse asociado a otros estimadores de tolerancia a frío, para sumar certeza y minimizar errores en la identificación de los genotipos.

## CONCLUSIONES

La línea con mayor tolerancia a bajas temperaturas durante el proceso de germinación fue SC1, que registró para todos los parámetros evaluados, las menores diferencias entre ambos tratamientos térmicos. Las líneas SC3, SC5, SC4 y SC9 mostraron muy baja tolerancia a temperaturas subóptimas y Mo17 no manifestó tolerancia.

Los estudios realizados en laboratorio en el presente trabajo, son la base para la ejecución de los ensayos en

campo que permitirán identificar fehacientemente las líneas de maíz tolerantes.

El índice mitótico se correlacionó positivamente con los parámetros indicadores de tolerancia a bajas temperaturas descritos por otros autores y podría utilizarse como una herramienta más para identificar maíces tolerantes a temperaturas subóptimas durante la germinación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez Bello, I., I.M. Reynaldo Escobar, P. Sánchez Testillano & M. del C. Risueño. 2012. Efectos del aluminio en la división y el alargamiento celular en plántulas de arroz (*Oryza sativa* L.). Cultivos Tropicales 33(1): 35-40.
- Álvarez Menéndez, M.D., J. Mateos Martín, M.V. Peinado De Diego & M.A. Capó Martí. 2006. *Vicia Faba* L.: Capacidad bioindicadora de contaminación de

agua por metilmercurio. Observatorio Medioambiental 9: 111-123.

**Bosch, D., M.T. Salaberry & J. Stinziani.** 1988. Análisis de la variabilidad de la germinación en frío en dos poblaciones de maíz (*Zea mays* L.). Procédé de IV Congreso Nacional de Maíz. pp. 87-94.

**Cárcova, J., L. Borrás & M. Otegui.** 2003. Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en maíz. Producción de granos. Base para su manejo. Ed. Facultad de Agronomía UBA Buenos Aires. 141 pp.

**Cirilo, A., F. Andrade, M. Otegui, G. Maddoni, C. Vega & O. Valentinuz.** 2015. Ecofisiología del cultivo de maíz. En: Bases para el manejo del cultivo de maíz. G. Eyherabide (compilador y editor). Ed. INTA. Pergamino. pp. 25-56.

**Creber, H.M.C., M.S. Davies & D. Francis.** 1993. Effects of temperature on cell division in root meristems of natural populations of *Dactylis glomerata* of contrasting latitudinal origins. Environmental and Experimental Botany 33(3): 433-442.

**Da cruz, H.L., C. Dos Santos Ferrari, G.E. Meneghello, V. Konflanz, P. Dejalma Zimmer, P. Da Silva Vinholes & M.A. Da Silva De Castro.** 2007. Avaliação de genótipos de milho para sementeira precoce sob influencia de baixa temperatura. Revista Brasileira de Sementes 20(1): 52-60.

**Elisondo, E., J.L. Costa, E. Suero, K.P. Fabrizio & F. Garcia.** 2001. Evaluación de algunas propiedades físicas de suelos luego de la introducción de labranzas verticales en un suelo bajo siembra directa. Ciencia del Suelo 19(1): 11-19.

**Francis, D. & P.W. Barlow.** 1988. Temperature and the cell cycle. En: Plants and Temperature. S.P. Long & F.I. Woodward, Eds. 42<sup>nd</sup> Symposium of the Society for Experimental Biology. Company of Biologists, Cambridge, UK. pp. 181-201.

**Gallardo-Williams, M.T., R.L. Barton, P.M. Dooris & D.F. Martin.** 2002. Inhibition of Onion Germination and Root Growth by Cattail Extracts Involves Reduced Cell Proliferation and Disruption of Cell Wall Integrity. Journal of Aquatic Plant Management 40: 105-109.

**Gámez Vázquez, A.J., M. De la O-Olán, M.A. Avila Perches, J. Virgen Vargas, N.A. Ruiz Torres, F.P. Gámez Vázquez & A. Ascencio-Álvarez.** 2015. Calidad fisiológica de semilla y desarrollo de plántulas de maíz a temperaturas bajas. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 6(8): 1769-1779.

**Haldimann, P.** 1999. How do changes in temperature during growth affect leaf pigments composition and photosynthesis in *Zea mays* genotypes differing in sensitivity to low temperature? Journal of Experimental Botany 50: 543-550.

**Hernández Guzmán, J.A., A. Carballo Carballo, A. Hernández Livera & F.V. González Cossio.** 2000. Ponderación de variedades de calidad fisiología para la medición del vigor en semilla de maíz. Revista Fitotecnia Mexicana 23(2): 239-250.

**Hodges, D.M., R. Hamilton & C. Charest.** 1995. A chilling response test for early growth phase maize. Agronomy Journal 87: 970-974.

**Hund, A., Y. Fracheboud, A. Soldati & P. Stamp.** 2008. Cold tolerance of maize seedlings as determined by root morphology and photosynthetic traits. European Journal of Agronomy 28: 178-185

**Iganci, J.R.V., V.L. Bobrowski, G. Heiden, V.C. Stein & B.H.G. Rocha.** 2006. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. Arquivos do Instituto Biológico 73(1): 79-82.

**Iijima, M., P.W. Barlow & A. Glyn Bengough.** 2003. Root cap structure and cell production rates of maize (*Zea mays*) roots in compacted sand. New Phytologist 160: 127-134.

**ISTA.** 2013. Handbook on Seedling Evaluation. Third Edition with Amendments. The International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdorf, Switzerland.

**ISTA.** 2016. International Rules for Seed Testing vol. 2016. The International Seed Testing Association (ISTA). Bassersdorf, Switzerland. 284 pp.

**Kiran, Y. & A. Şahin.** 2006. The effects of cadmium on seed germination, root development and mitotic of root tip cells of lentil (*Lens culinaris* Medik). World Journal of Agricultural Sciences 2(2): 196-200.

**Layne-Garsaball, J.A. & J.R. Méndez-Natera.** 2007. Efectos de extractos acuosos de la maleza *Cyperus rotundus* L. (Cyperaceae) sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) cv. Pioneer 3031. Revista Peruana de Biología 14(1): 55-60. Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v14n1/pdf/v14n01a13.pdf>. Último acceso: septiembre de 2016.

**López-Sáez, J.F., G. Giménez-Martin & A. Gonzalez-Fernández.** 1966. Duration of the cell division cycle and its dependence on temperature. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 75(3): 591-600.

**Maguire, J.D.** 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergences and vigor. Crop Science. 2: 176-177.

**MAIZAR.** 2013. La cadena del maíz y las oportunidades para desarrollo en la Argentina. Consultoría elaborada por encargo del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 125 pp. Disponible en: <http://www.maizar.org.ar/vertext.php?id=425>. Último acceso: septiembre de 2016.

**Martínez Solis, J., J. Virgen Vargas, M.G. Peña Ortega & A.S. Romero.** 2010. Índice de velocidad de emergencia en líneas de maíz. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 1(3): 289-304.

**Miedema, P.** 1982. The effect of low temperature on *Zea mays*. Advances in Agronomy 35: 93-127.

**Olivares, A., M. Johnston & G. Fernandez.** 1990. Efecto de la temperatura en la germinación de siete especies de la pradera anual mediterránea y caracterización de su emergencia. Simiente 60:123-131.

**Opoku, G., T.J. Vyn & C.J. Swanton.** 1997. Modified no-till systems for corn following wheat on clay soils. Agronomy Journal 89: 549-556.

**Otegui, M. & M. López Pereira.** 2003. Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en maíz. Producción de granos. Base para su manejo. Ed. Facultad de Agronomía UBA Buenos Aires. 259 pp.

**Pereira da Cruz, R. & S.C. Kothe Milach.** 2004. Cold tolerance at the germination stage of rice: methods of evaluation and characterization of genotypes. Scientia Agricola 61(1): 1-8.

**Pérez de la Cerda, F. de J., A. Carballo Carballo, A. Santacruz Varela, A. Hernández Livera & J.C. Molina Moreno.** 2007. Calidad fisiológica en semillas de maíz con diferencias estructurales. *Agricultura Técnica en México* 33(1): 53-61.

**Razu, M.H., S. Zaman, R. Akhter, M.M. Rahman, M. Hamidur Rahaman, M.A. Mazid & G. Kabir.** 2012. Morphological and cytological effects of two herbicides on tetraploid wheat (*Triticum durum* L.) *Journal of Biosciences* 20: 143-151.

**Restrepo, H., M.I. Gómez, A. Garzón, L. Manrique, F. Alzate, J. López, & A. Rodríguez.** 2013. Respuesta bioquímica de plántulas de maíz (*Zea mays* L.) a diferentes condiciones de temperaturas nocturnas. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 7(2): 252-262. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v7n2/v7n2a10.pdf>. Último acceso: septiembre de 2016.

**Revilla, P., R.A. Malvar, M.E. Carrea, A. Burtón & A. Ordás.** 2000. Inheritance of cold tolerance at emergence and during early season growth in maize.

*Crop Science* 40: 1579 -1585.

**Rizzalli, R.H.** 1998. Siembra directa y convencional de maíz ante distintas ofertas de nitrógeno. M. Sc. Tesis. Facultad de Ciencias Agrarias, UN Mar del Plata, Balcarce, Argentina. 35 pp.

**Sacks, M.M., W. Kuhn Silk & P. Burman.** 1997. Effect of Water Stress on Cortical Cell Division Rates within the Apical Meristem of Primary Roots of Maize. *Plant Physiology* 114: 519-527.

**Sanjay, K.** 2010. Effect of 2,4-D and isoproturon on chromosomal disturbances during mitotic division in root tip cells of *Triticum aestivum* L. *Цитология и генетика* 2: 14-21.

**Zaidi, P.H., M. Yadav, P. Maniselvan, R. Khan, T.V. Shadakshari, R.P. Singh & D. Pal.** 2010. Morphophysiological traits associated with cold stress tolerance in tropical maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 55: 201-208. Disponible en: [http://www.maydica.org/articles/55\\_201.pdf](http://www.maydica.org/articles/55_201.pdf). Último acceso: septiembre de 2016.