

**ANÁLISIS DE LA CALIDAD FISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE ALGODÓN
TRASGÉNICO Y CONVENCIONAL**

SERGIO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para

Obtener el Grado de:

MAESTRO EN:

TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO



Buenavista, Saltillo, Coahuila, México; Junio de 2012.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO

ANÁLISIS DE LA CALIDAD FISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE ALGODÓN
TRASGÉNICO Y CONVENCIONAL

TESIS POR:

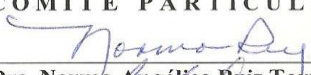
SERGIO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

Elaborado bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobado
como requisito parcial, para obtener el grado de:

MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal



Dra. Norma Angélica Ruiz Torres

Asesor


Dr. Juan José López González

Asesor


M.C. Hilda Cecilia Burciaga Dávila


Dr. Fernando Ruiz Zarate
SUBDIRECTOR DE POSGRADO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México; Junio de 2012.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Maestría en Tecnología de Granos y Semillas

ANÁLISIS DE LA CALIDAD FISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE ALGODÓN
TRANSGÉNICO Y CONVENCIONAL

TESIS POR:

SERGIO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

Participación técnica de este proyecto de investigación



L.C.Q. Magdalena Olvera Esquivel



Dra. Norma Angélica Ruiz Torres

Responsable del laboratorio de fisiología y bioquímica de semillas

Buenvista, Saltillo, Coahuila, México, Junio de 2012.

A G R A D E C I M I E N T O S

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por todos los conocimientos que me permitió alcanzar en una gran meta más de mi carrera profesional y de mi vida personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por el apoyo económico brindado durante mis estudios de Postgrado.

Al personal del **Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas** por todos los conocimientos transmitidos y por su valiosa e incondicional amistad.

Mis sinceros agradecimientos al comité de asesores por su apoyo en el trabajo de investigación: **Dra. Norma Angélica Ruíz Torres, Dr. Juan José López González y M.C. Hilda Cecilia Burciaga Dávila.**

Al maestro **Facio**, a la maestra **Alejandra**, Dr. **Sergio**, al Dr. **Mario**, al maestro **Antonio**, al maestro **Celestino**, al maestro **Abiel** y demás maestros que me brindaron sus conocimientos durante mi desarrollo profesional.

A la **L.C.Q. Magdalena Olvera Esquivel** por el apoyo técnico en la realización del presente trabajo de investigación.

A mis compañeros de la generación: **Érick, Antonio y Violeta**. Y a todos los compañeros de la maestría.

DEDICATORIA

A MIS QUERIDOS PADRES:

Rodolfo Hernández Hernández y María Juana Hernández Hernández. Gracias por haberme dado el regalo más valioso de este mundo ¡La Vida!, por haberme formado como un hombre de provecho, por el amor y cariño que siempre me han brindado, por sus sabios consejos que siempre me acompañan. Gracias.

A MIS HERMANOS:

Silvia, Alberto, Arminda, Josefina y Olga. No tengo palabras para agradecerles lo que han hecho por mí y por todo el apoyo incondicional que me han brindado, por el cariño y afecto que ustedes me dan, deseo que Dios les bendiga y les conserve mucho tiempo, los quiero mucho... siempre los llevaré en mi corazón.

A MIS SOBRINAS:

Silvia Daniela y Gabriela. Por todo su apoyo, motivación y por ser una persona tan especial para mí y les deseo lo mejor en sus vidas personales y profesionales; el futuro está en sus manos.

A **Rosa Alejandra Gonzales Casillas.** Este trabajo te lo dedico con todo el corazón y al mismo tiempo quiero agradecerte por todo el cariño, comprensión y el apoyo que me has brindado y sobre todo por tu amor.

COMPENDIO

ANÁLISIS DE LA CALIDAD FISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE ALGODÓN
TRASGÉNICO Y CONVENCIONAL

POR

SERGIO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

MAESTRIA

TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO; JUNIO – 2012

Dra. Norma Angélica Ruiz Torres

---Asesor---

Palabras claves: Germinación, envejecimiento acelerado, índice de velocidad de emergencia y emergencia total.

En el presente trabajo de investigación se ensayó semilla de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) obtenida en la Comarca Lagunera durante el ciclo primavera verano (PV) 2010. Se evaluó la germinación estándar y el envejecimiento acelerado en laboratorio; y la velocidad de emergencia en invernadero, en variedades convencionales (CIAN Precoz y DP491) y transgénicas (DP448B y DP449BG/RR). CIAN precoz es una variedad con ciclo vegetativo de 145 días, es de porte bajo con 0.80 m de altura en promedio. La variedad DP491 es de ciclo intermedio-tardío con un porte medio a alto de tipo compacto. La variedad DP448B es de ciclo

intermedio, planta de porte medio de tipo arbustivo con hoja lisa y tolerancia al gusano rosado y bellotero debido a la inserción del gen Cry de *Bacillus thuriensis*. La DP449BG/RR es resistente al gusano rosado y bellotero (gen Cry), además, es tolerante al herbicida Faena[®] por la inserción del gen CP4 EPSPS. Los objetivos fueron: 1) Estudiar la respuesta fisiológica en la germinación y el vigor de las semillas a través de pruebas de laboratorio e invernadero y 2) Determinar la prueba fisiológica de semillas más eficiente para detectar diferencias entre materiales genéticos.

Estudio I. Ensayos de germinación y de envejecimiento artificial se llevaron a cabo en laboratorio, con la finalidad de determinar la calidad fisiológica y el efecto del envejecimiento (deterioro) en la semilla. Los resultados del ensayo de germinación mostraron un rango de 84 a 94.6 %, obteniendo CIAN Precoz el mayor valor. El vigor de la semilla se redujo en algunas variedades al someterlas a envejecimiento artificial (72 horas), lo que indica susceptibilidad a temperaturas y humedades relativas altas, ocasionando perjuicios a los procesos y funciones fisiológicas y metabólicas, por lo tanto, disminuye su capacidad de germinación. En este caso, se observó claramente que la variedad DP491 es altamente susceptible al deterioro, ya que el porcentaje de germinación se redujo a 5.3 %, mientras que CIAN Precoz se mantuvo en 92 %.

Estudio II. Se determinó el índice de velocidad de emergencia (IVE) y emergencia total (ET) en invernadero. El IVE presentó valores en un rango de 4.0 a 6.0, sobresaliendo CIAN Precoz, es decir, entre variedades se presentan diferencias en la emergencia diaria de las plántulas. En ET la variedad CIAN Precoz (96.0 %), superó numéricamente a las variedades DP449BG/RR (89.33 %), DP448B (84.00 %) y DP491 (77.33 %); estos resultados indican que entre variedades hay semillas más sensibles a las condiciones de invernadero, que asemejan más a la de campo, por lo tanto, no emergieron en el conteo final de la evaluación. Los resultados en laboratorio e invernadero mostraron que las semillas de la variedad convencional CIAN Precoz presentan ventajas fisiológicas sobre los materiales transgénicos DP449BG/RR y DP448B, en las variables vigor, índice de velocidad de emergencia y emergencia total. La prueba de velocidad de emergencia permitió detectar diferencias entre variedades con base a su vigor.

ABSTRACT

ANALYSIS OF THE PHYSIOLOGICAL QUALITY IN TRANSGENIC AND
CONVENTIONAL COTTON SEEDS

BY

SERGIO HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

MASTER

TECNOLOGÍA DE GRANOS Y SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO. JUNE – 2012

Dra. Norma Angélica Ruiz Torres

---advisor---

Key words: Germination, accelerated aging, emergence speed index and total emergence.

In this investigation cotton seed (*Gossypium hirsutum* L.) obtained during the Spring-Summer cycle in the Comarca Lagunera in 2010 was assayed. Germination and accelerated aging in the laboratory and emergence rate in the greenhouse were evaluated, in two conventional (CIAN Early and DP491) and two transgenic varieties (DP448B and DP449BG/RR). CIAN Precoz is an early variety with a 145 days vegetative cycle; it is a short sized plant with a mean height of

0.80 m. The DP491 variety has an intermediate-late cycle with compact plants of medium to high height. The DP448B is a variety of intermediate cycle, it is a medium sized plant with smooth leaves and tolerant to pink worm due to the insertion of the Cry gene from *Bacillus thuriensis*. DP449BG/RR is resistant to pink and acorn worm (Gene gene), and tolerant to Faena herbicide by the insertion of the CP4 EPSPS gene. The objectives of this research work were: 1) To study the physiological response in germination and seed vigor in laboratory and greenhouse tests and 2) To identify the most efficient physiological test to detect differences between genetic materials.

Study I. Germination and artificial aging seed tests were carried out in laboratory, in order to determine the physiological quality and the effect of aging (deterioration) in the seed. The germination test results showed a range from 84 to 94.6 %, obtaining CIAN Precoz the higher value. The seed vigor was reduced in some varieties when subjected to artificial aging (72 hours), indicating susceptibility to high relative temperatures and humidity, causing damage to physiological and metabolic processes and functions, and thus decreasing their ability to germinate. In this case, it became clear that the variety DP491 is highly susceptible to deterioration, as the germination rate was reduced to 5.3%, while in CIAN Precoz remained at 92 %.

Study II. The emergence speed index and the total emergence in a greenhouse were determined. The emergence speed index showed values ranging from 4.0 to 6.0, outstanding CIAN Precoz; this is, there are differences between varieties in the daily emergence of seedlings. In total emergence, the variety CIAN Precoz (96.0 %) outstand DP449BG/RR (89.33 %), DP448B (84.00 %) and DP491 (77.33 %) varieties; these results indicate that among varieties there are seeds more sensitive to greenhouse conditions, which more closely resemble the field conditions, and therefore, they did not emerge in the final count of the evaluation.

Laboratory and greenhouse results showed that seeds from the conventional variety CIAN Precoz, have physiological advantages over the generic materials DP449BG/RR y DP448B, in vigor, emergence speed index and total emergence. The emergence test allowed detecting differences among varieties based on their vigor.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE	PÁGINA
I. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivo general.....	2
Hipótesis.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
IV. RESUSLTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
V. CONCLUSIONES.....	28
VI. LITERATURA CITADA.....	29

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO
PÁGINA

3.1	Descripción de los tratamientos.....	11
4.1	Cuadrados medios del análisis de varianza para el ensayo de germinación estándar.....	16
4.2	Comparación de medias por variedad para el ensayo de germinación estándar.....	18
4.3	Coeficientes de correlación entre las variables evaluadas en la prueba de germinación.....	19
4.4	Cuadrados medios del análisis de varianza para el ensayo de envejecimiento acelerado.....	20
4.5	Comparación de medias por variedad para el ensayo de envejecimiento acelerado.....	22
4.6	Coeficientes de correlación entre las variables evaluadas en la prueba de envejecimiento acelerado.....	23
4.7	Cuadrados medios del análisis de varianza para el ensayo del invernadero.....	24
4.8	Comparación de medias por variedad para el ensayo del invernadero.....	25
4.9	Coeficientes de correlación entre las variables evaluadas en la prueba del invernadero.....	26

I. INTRODUCCIÓN

El algodón es el producto agrícola no alimentario de mayor intercambio comercial en el ámbito mundial; se produce y se consume de manera generalizada y su fibra es utilizada universalmente como materia prima de la industria textil.

Los principales países productores de algodón son: Estados Unidos de América, Brasil, Argentina, India, China, Paquistán, Sudáfrica, Australia, Birmania, Burkina Faso, México, Colombia y Costa Rica. (Temas Públicos, 2011).

El cultivo de algodón en el mundo, en general, está expuesto a patógenos (hongos, bacterias, virus e insectos), de estos últimos destacan por su importancia el picudo del algodón (*Anthonomus grandis*), gusano medidor (*Alabama argillacea*), la conchuela (*Chlorochroa ligata*), el complejo gusano bellotero (*Heliothis virescens*, y *Helicoverpa sp.*), oruga espinosa (*Earias insulana*), gusano rosado (*Pectinophora gossypiella*), entre otros, estos, han desarrollado resistencias a los insecticidas químicos, siendo por muchos años el principal método de control.

El uso indiscriminado de insecticidas (hasta 25 aplicaciones), incrementa los costos de producción considerablemente, al utilizar dosis y combinaciones excesivas y al causar un daño irreversible al ambiente.

Atentos a las consideraciones anteriormente señaladas, los genetistas, y tecnólogos en este cultivo, han desarrollado variedades transgénicas, resistentes al complejo de plagas.

La información de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), muestra que de 2009 recibió 37 solicitudes para sembrar algodón transgénico y se han autorizado 28 para 203 mil 273 hectáreas de los cuales Monsanto tiene autorizado 89 mil 766 ha para los Estados de Sonora, Coahuila, Baja California y

Chihuahua. Para Bayer se autorizarón 113 mil 507 ha en Baja California, Coahuila, Durango, Chihuahua, Tamaulipas y Sonora (UNAM, 2010). En dos o tres años, los cultivos de algodón en el país podrían cubrir 300,000 ha, superficie que se sembraba en los años 90 (INFORURAI, 2010).

En este trabajo de investigación, se evaluó características fisiológicas de semillas transgénicas y convencionales, con los siguientes objetivos.

Objetivo general.

Estudiar la calidad fisiológica en semillas de variedades de algodón transgénico y convencional en laboratorio e invernadero.

Objetivos específicos:

Estudiar la respuesta fisiológica en la germinación y vigor de las semillas a través de pruebas de laboratorio e invernadero.

Determinar la prueba fisiológica de semillas más eficiente para detectar diferencias entre materiales genéticos.

Hipótesis:

Existen diferencias en la calidad fisiológica entre variedades de algodón convencional y transgénico.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

La ingeniería genética permite el acceso y manipulación directa de los genes rompiendo las barreras impuestas por la divergencia genética. Esta tecnología permite no solo introducir en una planta genes procedentes de otras especies vegetales sino también de animales y microorganismos. De esta manera se obtienen plantas transgénicas, es decir, portadoras de un gen ajeno o exógeno que se denomina transgen. Surge el término de transgénicos u organismos genéticamente modificados (OGM), que son seres vivos a los cuales se incorpora uno o más genes de otras especies, a fin de conferirles determinadas características nuevas (Sánchez, 2008).

En caso del algodón genéticamente modificado, el material genético ha sido alterado a través de la tecnología del Ácido Desoxirribonucleico (ADN) recombinante, para obtener variedades que expresan nuevas características (Lajolo y Nutti, 2003).

El algodón pertenece a la primera generación de cultivos modificados genéticamente que ha dado como resultado el desarrollo de cultivares con un potencial importante para aumentar la productividad del cultivo, reducir el impacto ambiental al disminuir el uso de insecticidas y herbicidas, y mejorar la calidad del producto a través de la introducción de resistencia a insectos y de tolerancia a herbicidas o de una combinación de estas dos características en una misma variedad (Monsanto Agricultura España, 2002).

La planta de algodón transgénico Bollgard protege en contra del daño de ciertos insectos, a través de la inserción de un gen o genes de una bacteria natural del suelo, *Bacillus thuringiensis*, comúnmente conocido como Bt, lo que las hace producir, durante todo su ciclo de vida, pequeñas cantidades de una proteína Cry δ -endotoxina que es tóxica para los insectos blanco. Una vez insertado el gen del Bt en el genoma de la planta de algodón, las características de la proteína Cry son transferidas, a variedades de algodón de alto

rendimiento. Propiedades agrícolas como mayor rendimiento, mejor calidad de fibra y otras características importantes son preservadas (Krattiger, 1997).

Los beneficios directos de algodón Bollgard incluyen control más eficaz de los gusanos de las bellotas y en consecuencia una mejora del rendimiento. Y una reducción en los costos de producción y en los riesgos del cultivo, teniendo todo ello como resultado una mejora de la rentabilidad para los productores del algodón (ISAAA, 2010; Gianessi *et. al.* 2002; FAO, 2004).

El algodón Bollgard®II contiene los genes Cry1Ac y Cry2Ab que codifican toxinas Bt altamente específicas para el control de larvas de algunas especies de insectos lepidópteros de importancia económica en el cultivo de algodón: complejo bellotero (*Heliothis virescens* Fabricius y *Helicoverpa zea* Boddie), gusano rosado (*Pectinophora gossypiella* Saunders), gusano soldado (*Spodoptera exigua* Hubner) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* Smith). Mientras que el algodón Solución Faena Flex® (RF) se desarrolló vía transformación con *Agrobacterium tumefaciens* de la variedad de algodón Coker 312, para insertar un constructo con doble copia del gen CP4 EPSPS. Esta proteína le confiere la característica de tolerancia a los herbicidas no selectivos de la familia Faena® (glifosato) (Bayer, 2011).

El algodón Bollgard®II/Solución Faena Flex® posee tolerancia al herbicida Faena Fuerte con Transorb® y resistencia a insectos lepidópteros conferida por la expresión de los genes CP4 EPSPS de *Agrobacterium sp.* cepa CP4 y los genes Cry1Ac y Cry2Ab de *Bacillus thuringiensis*, respectivamente. La proteína CP4 EPSPS pertenece a la familia de las sintasas EPSPS, las cuales son enzimas involucradas en la penúltima fase de la ruta bioquímica, para la producción de aminoácidos aromáticos en los cloroplastos de las plantas y es tolerante a glifosato y las proteínas Cry actúan mediante acción tóxica selectiva en el intestino de insectos blanco (Bayer 2011).

El algodón Bollgard/Solución Faena® se ha utilizado desde 1999 y se han observado varios beneficios ambientales y económicos: 1) mayor flexibilidad en el control de maleza comparando con el uso de herbicidas en el algodón convencional; 2) los herbicidas pre-emergentes específicos usados de manera preventiva son reemplazados por un herbicida post-

emergente de amplio espectro que puede ser usado de acuerdo a las necesidades del cultivo y 3) eliminación de labores de control manual y aplicaciones tempranas dirigidas de herbicidas que requieren equipo especial para su aplicación (De la Fuente, 2005.)

Para reducir el riesgo de desarrollo de resistencia, se requiere que el productor de algodón transgénico establezca una zona de refugio de algodón convencional aledaño al cultivo transgénico, en la proporción 96% transgénico y 4% convencional u 80% transgénico y 20% convencional (CIBIOGEM, 2011).

En México, después de un análisis de riesgo efectuado por las Secretarías de Medio Ambiente y Agricultura (2009, 2010 y 2011), se determinó que no existe riesgo para la liberación del algodón B2F, mismo que ha sido liberado desde 2006. Desde su liberación, la tecnología B2F es una de las más utilizadas en el cultivo de algodón, con beneficios tangibles para los productores. El algodón Bollgard II®/ Solución Faena Flex® (B2F) ha sido liberado en la región aldonera del Valle de Mexicali (San Luis Río Colorado), (Bayer, 2011).

En el año 2012 se efectuará la liberación del algodón B2F en una superficie de 25 000 ha dentro de un polígono que comprende una superficie total aproximada de 1, 395, 000 ha. Los polígonos donde se realizará la liberación están ubicados en las regiones aldoneras de La Comarca Lagunera, en los municipios de Sierra Mojada, Cuatro Ciénagas, Tlahualilo, Francisco I. Madero, Mapimí, San Pedro, Gómez Palacio, Torreón, Matamoros, Lerdo, Parras y Viesca (Bayer, 2011).

Otro Polígono propuesto incluye áreas agrícolas en los municipios de Abasolo, Aldama, Altamira, Casas, Cd. Madero, Gómez, González, Hidalgo, Jiménez, Llera, Mainero, Nuevo Morelos, Ocampo, Padilla, San Carlos, San Nicolás, Victoria y Xicoténcatl en el Estado de Tamaulipas; Cerro Azul, Chalma, Chinampa de Gorostiza, Ilatlán, Ozuluama de Mascareñas, Pánuco, Tamalín, Tampico Alto, Tancoco y Temporal en el Estado de Veracruz; y Ébano, San Vicente Tancuayalab y Tamuín en el Estado de San Luis Potosí. Para el ciclo PV-2012 en Etapa Experimental se solicita una superficie potencial para siembra de 25,000 ha, abarcando los polígonos propuestos para la región de Tamaulipas Sur, donde iniciará la

siembra de algodón a partir del mes de junio de 2012. Esto debido al compromiso de Monsanto por contribuir al crecimiento de la superficie algodonera nacional a un total de 400,000 ha en los próximos años (Monsanto, 2011).

Calidad de semillas

La calidad es un concepto basado en la evaluación de características importantes para los distintos sectores de la industria semillera: semilleros, productores, acopiadores, comerciantes y organismos de control (BIAGRO, 2007).

Los atributos de la calidad de las semillas son: genético, físico, fisiológico y sanitario. Dentro de lo genético, el componente más importante es la pureza varietal, que garantiza la autenticidad del material obtenido, así como la esencia de mezcla física, con semilla de otra variedad o cruzamiento genético. Para las características físicas incluye características cuantitativas (el peso y tamaño de la semillas) como cualitativas (el color y forma de la semilla). Para el fisiológico incluye los atributos de viabilidad, capacidad de germinación y vigor. El sanitario está dado por la sanidad de las semillas, tales como estar libres de microorganismos (hongos, bacterias, virus y nematodos) tanto externos como internos (Moreno, 1996).

La calidad es un elemento esencial a considerar en la producción de semillas, tanto para evitar la contaminación y garantizar que cumplan con los estándares de calidad requeridos, como para obtener los volúmenes adecuados de semilla aprovechable (Antuna *et al.*, 2003).

Una semilla de calidad contribuye a una mayor eficiencia varietal productiva, ya que es capaz de emerger de manera rápida y uniforme, en diferentes condiciones ambientales (Pérez *et al.*, 2006).

Germinación estándar

La germinación se define como la serie secuenciada de eventos morfogénéticos que resultan en la transformación de un embrión en una plántula. Dicho proceso involucra la división y expansión celular y la formación de órganos de la planta, como hojas, tallos y raíces (Flores, 2004).

La germinación de una semilla es la emergencia y desarrollo de la plántula, con sus estructuras esenciales, indica sí o no, cuenta con la capacidad de desarrollar en una planta satisfactoria en condiciones favorables y condiciones de campo (ISTA, 2011).

Germinación de las semillas en laboratorio se define como la emergencia y desarrollo del embrión, con todas sus estructuras esenciales para cada especie a la que pertenece, son indicativos de la capacidad de producir una planta normal bajo condiciones favorables (AOSA, 2011).

El objetivo de la prueba de germinación es determinar el potencial de germinación de un lote de semillas, que luego puede ser utilizado para comparar la calidad de los diferentes lotes y también estima la siembra en el campo (ISTA, 2011).

Montenegro (2000) ensayó semillas de algodón en laboratorio y observó que los materiales obtenidos por tecnología transgénica (NuCOTN 35B y NuCOTN 33B presentaron valores superiores y estadísticamente diferentes con relación a los materiales obtenidos por mejoramiento convencional (DP5690 y DP5415). También encontró que la variedad NuCOTN 33B fue la que obtuvo el mayor porcentaje en la prueba de germinación con 95.0 % y una diferencia del 2 % en comparación NuCOTN 35B. DP5690 obtuvo valores de 87.0 y DP5415 con 83.5 % de germinación, respectivamente. De acuerdo a los resultados, el poder germinativo fue favorecido en las variedades transgénicas debido a los genes insertados en su genoma.

Por su parte Arias (2001), también ensayó semillas de algodón transgénico (DP20B, DP428B, DP458BR, y NuCOTN 35B) y convencional (DP675 y DP5690) en laboratorio. Encontró que la variedad NuCOTN 35B presentó un mejor comportamiento en la prueba de vigor con 72 % y germinación con 95 %, que el resto de variedades.

En un estudio realizado por Osorio (2010), con semillas de algodón transgénico (NuCOTN 35B) y convencional (CIAN Precoz y Fiber Max) en laboratorio. Encontró que la variedad CIAN Precoz presentó un mejor comportamiento en la prueba de germinación con 93.6 %, es decir, las semillas son vigorosas independientemente de la información genética. El vigor de la semilla es una característica sumamente importante para su establecimiento en campo.

Envejecimiento acelerado

Copeland y McDonald (1985) incluyen una prueba en la calidad fisiológica de las semillas para determinar rasgos importantes en una prueba de vigor. Inicialmente propuesto como un método para evaluar la capacidad de almacenamiento de semillas, el envejecimiento acelerado consiste en comparar lotes a través de una prueba, sometiendo semillas uniformes a condiciones de altas temperaturas (41 °C) y humedad relativa (alrededor del 100%) por períodos cortos (3 a 4 días). Las semillas se retiran del estrés y se siembran bajo las condiciones de germinación óptima.

Según Tekrony (1995), la germinación de semillas después del envejecimiento será similar a la germinación antes del envejecimiento acelerado, cuando las semillas son de alto vigor; por otra parte, la germinación será menor en semillas con medio o bajo vigor. De esta manera, los resultados pueden ser utilizados para clasificar los lotes de semillas según su vigor y para la toma de decisiones en cuanto a la capacidad de almacenamiento o potencial de siembra de cada lote de semillas.

Montenegro (2000) realizó el envejecimiento acelerado de algodón transgénico (NuCOTN 35B y NuCOTN 33B) con relación a sus homólogos convencionales (DP5690 y DP5415). Observó que los materiales obtenidos por mejoramiento transgénico (NuCOTN 35B y

NuCOTN 33B) presentaron valores superiores y estadísticamente diferentes (DMS, $P \leq 0.05$) con 74 %, con relación a los materiales obtenidos por mejoramiento convencional que obtuvieron el 48.8 % de germinación respectivamente.

Arias (2001) también llevo a cabo envejecimiento acelerado, encontró diferencias estadísticas entre variedades transgénicas (DP20B, DP428B, DP458BR y NuCOTN 35B) y las convencionales (DP675 y DP5690). Encontró que la variedad NuCOTN 35B presentó un mejor comportamiento en la prueba de estrés con 89 % de germinación, es decir, los transgénicos fueron favorecido por los genes insertados.

Osorio (2010), menciona que el vigor de la semilla de algodón transgénico (NuCOTN 35B) y convencional (CIAN Precoz y Fiber Max) no se redujo al someterla al envejecimiento acelerado. Encontró para la variedad CIAN Precoz 97.33 %, para Fiber Max 97.33 % y para NuCOTN 35B 98.22 % de germinación, es decir, las semillas son vigorosas independientemente de la información genética que poseen.

Emergencia en invernadero

Las pruebas de vigor se clasifican en métodos directos e indirectos. Los métodos directos (el crecimiento de plántulas, peso seco de plántulas, prueba fría, la velocidad de emergencia y porcentaje de emergencia) son aquellos que tienen como objetivo simular las condiciones de campo en el laboratorio, son las pruebas más recomendables para el productor (Marcos *et al.*, 1987).

Wanjura *et al.* (1969) menciona que en la evaluación de los efectos de la velocidad de emergencia, hay una interacción entre la profundidad de siembra y el ambiente, que son de gran importancia para su establecimiento y adaptación a las condiciones que someten la supervivencia de las semillas. La emergencia es ventajosa desde el punto de vista operativo, es eficiente para evaluar el vigor en invernadero y campo.

Montenegro (2000) ensayó semillas de algodón transgénico (NuCOTN 33B y NuCOTN 35B) y sus homólogos convencionales (DP5690 y DP5415) en invernadero. Encontró para los efectos del material genético, en la variable índice de velocidad de emergencia, diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$), mientras que para la variable emergencia en invernadero no hubo diferencia significativa. Con relación a la interacción del material genético y métodos de mejoramiento para las cuatro variedades, no se detectaron diferencias significativas. En los valores medias para índice de velocidad de emergencia la variedad NuCOTN 35B obtuvo 2.13, NuCOTN 33B 2.29 y sus homólogos DP5690 1.98 y DP5415 2.13. En la variable emergencia total en invernadero, las variedades transgénicas NuCOTN 35B (90.50 %) y NuCOTN 33B (94.50 %), presentaron valores más altos que sus recíprocas de mejoramiento convencional (DP5690 con 86.00 % y DP5415 con 89.50 %).

Por otra parte Arias (2001), presenta los resultados del índice de velocidad de emergencia (IVE) de semillas de variedades de algodón transgénico (DP20B, DP428B, DP458BR y NuCOTN 35B) y convencional (DP675 y DP5690). Encontró que la variedad NuCOTN 35B fue superior con un promedio de 10.18 que el resto de variedades.

En un estudio realizado por Osorio (2010), el IVE para CIAN Precoz y NuCOTN 35B presentó valores estadísticamente iguales, reflejando igual vigor durante la germinación. En emergencia total, la variedad CIAN Precoz obtuvo 97.77 %, esto es una diferencia del 5.77 % con respecto a Fiber Max y 4 % con NuCOTN 35B. Concluyó que los transgénicos y los convencionales poseen el mismo vigor de la semilla, y que es una característica importante para su establecimiento en campo.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en el municipio de Saltillo, Coahuila, entre los paralelos 25° 22' de Latitud norte y los meridianos 101° 103' de Longitud oeste y a 1,743 msnm.

La semilla se obtuvo durante el ciclo primavera-verano (PV) 2010 en la Comarca Lagunera, se evaluó la germinación estándar, envejecimiento acelerado y emergencia en invernadero, en cuatro variedades de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Descripción de los tratamientos.

Tratamiento	Método de mejoramiento	Variedad
1	Convencional	CIAN Precoz
2	Convencional	DP491
3	Transgénico	DP 448 B
4	Transgénico	BP 449 BG/RR

CIAN Precoz: Variedad con ciclo vegetativo es de 145 días, es de porte bajo con 0.80 m de altura en promedio, de ramas cortas, hoja pequeña, de color verde intenso y con baja pubescencia. Sus flores son de color crema y el polen se distingue por su color anaranjado, que difiere del color amarillo de las variedades comerciales. El fruto o bellota es de forma redonda, con cuatro o cinco lóbulos y el capullo se distingue de otras variedades por ser resistente a lluvias o vientos fuertes; esta característica evita que se caiga. El peso promedio del capullo es de 5.5 g y contiene 37.5 % de fibra.

La variedad DP491: Planta de ciclo intermedio-tardío con un porte medio a alto de tipo compacto. Las fibras son muy resistentes y de buen micronaire, es muy recomendada para los sistemas de altas poblaciones por su vigor de nacencia. Las principales zonas de adaptación son: Baja California, Sonora Norte, Chihuahua, Coahuila, Durango y Tamaulipas.

Para DP448B: Ciclo intermedio, planta de porte medio de tipo arbustivo con hoja lisa y tolerancia al gusano rosado y bellotero. Además de alto porcentaje y calidad de fibra. Las principales zonas de adaptación son: Baja California, Sonora Norte y Sur, Chihuahua, Coahuila, Durango y Tamaulipas.

La DP449BG/RR: Es resistente al gusano rosado y bellotero, además, es tolerante al herbicida Faena[®]. Su madurez es intermedia-tardía y de tipo arbustiva de porte medio. Las zonas de adaptación son: Chihuahua, Baja California, Sonora, Tamaulipas y Coahuila.

Estudio I. Laboratorio

El trabajo se realizó en laboratorios del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas de la UAAAN.

La semilla se trató con un fungicida sintético, con el nombre comercial de Tecto 60 (0.90 g / 75 semillas) con la finalidad de evitar la presencia de hongos durante la germinación.

a. Ensayo de Germinación Estándar (EGE)

El ensayo de germinación se estableció de acuerdo a lo recomendado por la ISTA (2004), con algunas modificaciones. Se evaluaron 3 repeticiones de 25 semillas por variedad, las cuales fueron sembradas entre papel Anchor húmedo. Posteriormente, se colocaron en una cámara germinadora, marca Lab-Line a una temperatura de $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, manteniendo el material húmedo durante la prueba. El primer conteo (vigor) se realizó al cuarto día y se contó únicamente plántulas normales y al doceavo día se realizó el conteo final, determinando el porcentaje de germinación (GER), plántulas anormales (PA), semillas sin germinar (SSG), longitud media de plúmula (LMP) y longitud media radícula (LMR). Se determinó también

peso fresco de plúmula (PFP), peso fresco de radícula (PFR), peso seco de plúmula (PSP) y peso seco de radícula (PSR).

b. Ensayo de Envejecimiento Acelerado (EEA)

Se llevó a cabo de acuerdo a la metodología establecida por la ISTA (2004), donde la semilla se sometió a una temperatura de 42 °C durante 72 h, con una humedad relativa mayor de 90 %, condiciones que se mantuvieron en una cámara de envejecimiento acelerado. Se utilizaron vasos de precipitado de 500 ml, conteniendo 100 ml de agua destilada. Como soporte interno se utilizó una malla en forma de tubo y otra donde se depositaron 75 semillas tomadas al azar de las variedades transgénicas y convencionales, los vasos se cubrieron con plástico el cual se sujetó con ligas. Posteriormente los vasos se colocaron en una cámara de envejecimiento acelerado (ENVEJE VWRS SCIENTIFIC). Una vez transcurrido el tiempo, se retiraron de la cámara de envejecimiento y se sembraron en papel Anchor, 3 repeticiones de 25 semillas para cada variedad. Se colocaron en una cámara de germinación y la evaluación se realizó a los 12 días después de la siembra, contabilizando únicamente Germinación (GER), plántulas anormales (PA) y semillas sin germinar (SSG), estos resultados fueron expresados en porcentaje. Se obtuvo longitud media de plúmula (LMP), longitud media de radícula (LMR), peso fresco de plúmula (PFP), peso fresco de radícula (PFR), peso seco de plúmula (PSP) y peso seco de radícula (PSR).

Estudio II. Invernadero

a. Índice de Velocidad de Emergencia (IVE)

La emergencia se evaluó en invernadero bajo condiciones controladas de temperatura de 25 ± 2 °C y aplicando riegos cada tercer día. La siembra se realizó en una cama, con dimensiones de 0.90 m de ancho por 11 m de largo y como substrato se empleó arena de río. Se sembró 3 repeticiones de 25 semillas por cada variedad a una profundidad uniforme de 3 cm, con humedad a capacidad de campo. Se realizó conteos diarios del número de plántulas emergidas,

considerándose ésta a partir de la aparición en la superficie de los cotiledones, para mayor precisión de la prueba los conteos se realizaron a la misma hora.

El resultado fue expresado en índice de velocidad de emergencia (IVE), se calculó en base a las plántulas emergidas empleando la fórmula propuesta por Maguire (1962):

$$I. V. E. = \frac{\sum_{i=1}^n \text{Número de plántulas normales al conteo } i - \text{ésimo}}{\text{Número de días de la siembra al conteo } i - \text{ésimo}}$$

b. Emergencia Total (ET)

La determinación del porcentaje de emergencia se realizó tomando en cuenta el número total de plántulas normales emergidas en el último conteo, empleando la siguiente fórmula propuesta por (Bautista, 2010).

$$\%ET = \left(\frac{\text{Plántulas emergidas en el último conteo}}{\text{No. de semillas sembradas}} \right) 100$$

c. Variables evaluadas en laboratorio e invernadero (Estudio I y II)

Peso fresco de plántulas

Las plántulas normales fueron colocadas en una charolita, posteriormente se pesaron en una balanza analítica marca Precisa. El peso de cada repetición fue dividido por el respectivo número de plántulas y se expresó en miligramos (mg) por plántula.

Peso de materia seca de plántulas

Las plántulas normales fueron colocadas en bolsas de papel de estraza y sometidas a secado hasta obtener peso constante, en un horno GCA de laboratorio de precisión a una temperatura de 70 °C por 24 h.

Al finalizar el secado, las muestras se enfriaron en un desecador y se pesó en una balanza analítica de precisión. El peso de cada repetición fue dividido por el número de plántulas normales y se expresó en mg por plántula (Popinigis, 1985).

Longitud de plúmula y la radícula

Se midió la longitud de plúmula y la radícula de diez plántulas normales por tratamiento y se expresó en milímetros (mm).

Diseño estadístico

Los diferentes estudios llevados a cabo se establecieron y analizaron de acuerdo a un diseño completamente al azar, con el siguiente modelo lineal:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = El valor de la característica en estudio.

μ = La media general.

T_j = El efecto de la j -ésima variedad.

e_{ij} = El error experimental.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico SAS (2005). La comparación de medias se hizo a través de la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad.

Además se llevó a cabo una correlación simple de Pearson con la finalidad de analizar la asociación entre las variables evaluadas en ensayos llevados a cabo en laboratorio e invernadero.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis estadístico para las evaluaciones fisiológicas en laboratorio e invernadero se realizaron en forma independiente, con el mismo procedimiento se sigue el análisis y discusión de los resultados obtenidos en la presente investigación.

Estudio I. Laboratorio

a. Ensayo de Germinación Estándar

En el análisis de varianza, para los atributos de calidad (Cuadro 4.1), se obtuvo para la fuente de variación variedad, diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para las variables VGR, LMP, LMR y PSP; y no significativas para el resto de variables.

Cuadro 4.1. Cuadrados medios del análisis de varianza para el ensayo de la germinación estándar.

FV	GL	VGR	GER	PA	SSG	LMP	LMR	PFP	PFR	PSP	PSR
		(%)	(%)	(%)	(%)	(cm)	(cm)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)
Variedad	3	840.44**	72.89	26.22	12.0	22.43**	85.95**	638.48	31.68	69.74**	3.51
Error	8	41.33	38.67	24.0	5.33	2.44	11.91	694.19	71.97	2.27	1.00
CV (%)		7.56	6.90	58.78	138.56	13.34	25.10	6.30	10.83	4.50	17.66

FV= Fuente de Variación; GL= Grados de Libertad; VGR= Vigor; GER= Germinación; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PFP= Peso Fresco de Plúmula; PFR= Peso Fresco de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; *,**= Niveles de Significancias al 0.05 y 0.01%, respectivamente.

Al realizar la comparación de medias por variedad como se muestra en el 4.2, la CIAN Precoz superó estadística y numéricamente a la variedad DP491, en las variables de VGR, LMP, LMR y PSP. Tanto la variedad CIAN Precoz como la DP448B, mostraron un vigor superior al

al 90 %, indicando mayor eficiencia fisiológica y bioquímica. La ISTA (2004) define el vigor de una semilla como la suma total de todas aquellas propiedades de la semilla que determinan el nivel del potencial de actividad y funcionamiento de una semilla o lote de semillas durante su germinación y emergencia. Flores (2004) menciona que existen semillas con alto vigor, que se expresa en plántulas capaces de emerger y continuar creciendo bajo condiciones favorables o desfavorables presentando un comportamiento normal; o con bajo vigor, con plántulas capaces de emerger pero incapaces de continuar creciendo por lo que su comportamiento es anormal. Para la variable germinación (GER), se observó un rango de 84 a 94.6 %, obteniendo CIAN Precoz el mayor valor. En contraste, la variedad DP449BG/RR mostró el mayor porcentaje de plántulas anormales (12 %) con respecto al resto de las variedades, lo cual indica un grado más avanzado de deterioro en la semilla. El peso seco de plúmula se considera también un indicador de vigor, en este estudio la variedad DP491 mostró ser estadísticamente inferior al resto de las variedades con 26.4 mg/pl.

Palomo *et al.* (2003) realizaron estudios sobre el efecto del número de riegos de auxilio y la dosis de nitrógeno (N) en rendimiento y la calidad de la semilla de algodón en campo y a su vez evaluaron también en laboratorio, encontraron 92 % de germinación con 80 kg de N por hectárea y aplicaron cuatro riegos de auxilio en la variedad de CIAN Precoz. Por su parte, Osorio (2010), menciona que la variedad convencional CIAN Precoz presentó 93.6 % de germinación, numéricamente superior con respecto a la variedad transgénica NuCONT 35B que obtuvo 90.1 %.

Cuadro 4.2. Comparación de medias por variedad para el ensayo de germinación estándar.

Variedad	VGR	GER	PA	SSG	LMP	LMR	PFP	PFR	PSP	PSR
	(%)	(%)	(%)	(%)	(cm)	(cm)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)
CIAN Precoz	98.6a	94.6a	5.3a	0a	12.6a	15.1a	409.7a	81.8a	37.0a	6.4a
DP491	61.3 b	93.3a	6.6a	0a	10.8 c	11.3 b	403.4a	74.0a	26.4 b	4.1a
DP448B	94.6a	88.0a	9.3a	2.6a	12.1ab	14.7a	436.6a	78.3a	34.3a	5.6a
DP449BG/RR	85.3a	84.0a	12.0a	4.0a	11.1 bc	13.7a	420.9a	78.9a	36.0a	6.4a
\bar{x}	85.0	90.0	8.3	1.6	11.7	13.7	417.7	78.2	33.4	5.6
Tukey	16.8	16.2	12.8	6.0	1.0	2.3	68.8	22.1	3.9	2.6

VGR= Vigor; GER= Germinación; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PFP= Peso Fresco de Plúmula; PFR= Peso Fresco de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales.

El Cuadro 4.3 muestra los coeficientes de correlación entre las variables del estudio de germinación estándar, se observó para la variable vigor (VGR) una correlación positiva y significativa con la longitud media de radícula (LMR) ($r=0.802^{**}$), con el peso seco de plúmula (PSP) ($r=0.863^{**}$), así como, con el peso seco de radícula (PSR) ($r=0.731^{**}$) y la longitud media de plúmula (LMP) ($r=0.585^{*}$). Estos resultados indican que de una semilla vigorosa se desarrollan plántulas con estructuras de mayor longitud y más acumulación de materia seca, lo cual refleja una mayor disponibilidad de reservas o un metabolismo más eficiente.

Cuadro 4.3. Coeficientes de correlación entre las variables evaluadas en la prueba de germinación.

variables	GER	PA	SSG	LMP	LMR	PFP	PFR	PSP	PSR
	(%)	(%)	(%)	(cm)	(cm)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)
VGR	0.071	-0.095	-0.008	0.585*	0.802**	0.278	0.304	0.863**	0.731**
GER		-0.952**	-0.824**	-0.054	0.034	-0.345	-0.397	-0.161	-0.155
PA			0.612*	0.097	-0.045	0.408	0.539	0.083	0.218
SSG				-0.038	-0.004	0.137	0.029	0.263	-0.000
LMP					0.489	0.348	0.526	0.520	0.388
LMR						-0.087	0.433	0.585*	0.735**
PFP							0.185	0.377	0.178
PFR								0.248	0.508
PSP									0.665*

VGR= Vigor; GER= Germinación; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PFP= Peso Fresco de Plúmula; PFR= Peso Fresco de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; *,**= Niveles de Significancias al 0.05 y 0.01%, respectivamente.

La variable germinación (GER), presentó una correlación negativa y significativa con las variables porcentaje de plántulas anormales (PA) ($r=-0.952^{**}$) y con semillas sin germinar (SSG) ($r=-0.824^{**}$). Lo cual es una relación esperada, ya que al incrementar el porcentaje de germinación se reduce el número de plántulas anormales y de semillas sin germinar. El porcentaje de las plántulas anormales presentó una correlación positiva y significativa con la variable porcentaje de semillas sin germinar (SSG) ($r=0.612^*$).

La longitud media de radícula (LMR), presentó una correlación significativa ($P \leq 0.01$) con la variable peso seco de radícula (PSR) ($r=0.735^{**}$) y $P \leq 0.05$ con la variable peso seco de plúmula (PSP) ($r=0.585^*$). Es una relación favorable, ya que al aumentar la longitud de radícula, se incrementa la acumulación en miligramos de materia seca en la radícula y plúmula, reflejando mayor disponibilidad de reservas. Por otra parte, el peso seco de plúmula

(PSP) presentó una correlación significativa ($P \leq 0.05$) con la variable peso seco de radícula (PSR) ($r=0.665^*$).

b. Ensayo de Envejecimiento Acelerado

Este ensayo tiene el propósito de deteriorar la semilla en forma similar a la que ocurre en el proceso natural y es una de las pruebas de vigor más representativas, la cual es aplicable a una gran cantidad de cultivos.

En el análisis de varianza para variables evaluadas en el estudio de envejecimiento acelerado (Cuadro 4.4), se observó para la fuente de variación variedad, diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para las variables GER, SSG, LMP y LMR; así mismo, PFR y PSP muestran diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Cuadro 4.4. Cuadrados medios del análisis de varianza para el ensayo de envejecimiento acelerado.

FV	GL	GER	PA	SSG	LMP	LMR	PFP	PFR	PSP	PSR
		(%)	(%)	(%)	(cm)	(cm)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)
Variedad	3	3955.55**	158.22	4488.89**	37.64**	280.28**	21383.31	1468.62*	865.27*	13.03
Error	8	52.0	62.67	10.67	4.37	13.45	14847.41	293.41	168.03	3.55
CV (%)		14.81	56.54	8.59	18.84	38.64	23.89	18.79	43.01	31.37

FV= Fuente de Variación; GL= Grados de Libertad; GER= Germinación; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PFP= Peso Fresco de Plúmula; PFR= Peso Fresco de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; *,**= Niveles de Significancias al 0.05 y 0.01%, respectivamente.

Según Tekrony (1995), la germinación de semillas después del envejecimiento será similar a la germinación antes del envejecimiento acelerado, cuando las semillas son de alto vigor; por otra parte, la germinación será menor en semillas con medio o bajo vigor.

En este trabajo, la comparación de medias por variedad (Cuadro 4.5) en el ensayo de envejecimiento acelerado, la variedad CIAN Precoz superó estadística y numéricamente a las

variedades DP491, DP448B y DP449BG/RR en las variables GER, LMP y LMR. Para la variable germinación (GER), se observó que la variedad DP491 es altamente susceptible al deterioro ya que el porcentaje de germinación se redujo a 5.3, en comparación a CIAN Precoz que se mantuvo en 92 %. DP449BG/RR obtuvo el mayor porcentaje de PA, lo cual indica un grado avanzado de deterioro en la semilla.

Palomo *et al.* (2003) menciona que evaluaron el efecto del número de riegos de auxilio y dosis de nitrógeno (N) en el rendimiento y la calidad de la semilla de algodón, a su vez evaluaron el vigor de las mismas, obtuvieron un 92.6 %, con un incremento de 0.6 % más con respecto a la prueba de germinación estándar. Osorio (2010) por otra parte, encontró que en semillas de algodón transgénico (NuCOTN 35B) y convencional (CIAN Precoz y Fiber Max) no se redujo la capacidad germinativa al someterlas al envejecimiento artificial ya que conservaron valores de 98.22 %, 97.33 % y 97.3 %, respectivamente.

El vigor es una propiedad fisiológica determinada por el genotipo y modificada por el ambiente, que rige la capacidad de una semilla de producir rápidamente una plántula en el campo y el límite hasta el que la semilla tolera una serie de factores ambientales (Perry, 1973). Si las condiciones ambientales que se encuentran en el campo son adversas, como son alta humedad y sequía, bajas o altas temperaturas y microorganismos, la técnica de envejecimiento hace referencia a estas condiciones adversas en el laboratorio. Entre los eventos importantes que ocurren durante la germinación, es la degradación funcional de la semilla, disminución de la actividad enzimática, así como, reducción del potencial respiratorio y el sistema de síntesis de Adenosina Trifosfato (ATP) químico que ocurre dentro de las células mediante las cuales se realiza la descomposición de moléculas de alimentos y en la que se producen: dióxido de carbono, agua y energía; que son afectados por el grado de deterioro de las semillas (Copeland and McDonald, 2001).

Cuadro 4.5. Comparación de medias por variedad para el ensayo de envejecimiento acelerado.

Variedad	GER	PA	SSG	LMP	LMR	PFP	PFR	PSP	PSR
	(%)	(%)	(%)	(cm)	(cm)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)	(mg/pl)
CIAN Precoz	92.0a	8.0a	0 d	12.7a	13.6a	521.5a	122.7a	37.5ab	8.0a
DP491	5.3 d	8.0a	89.3a	10.5 b	6.5 c	624.1a	88.3ab	5.0 b	7.5a
DP448B	38.6 c	17.3a	44.0 b	10.7 b	8.2 bc	458.6a	71.7 b	42.2a	4.6a
DP449BG/RR	58.7 b	22.6a	18.6 c	10.3 b	9.4 b	435.3a	81.8ab	35.7a b	3.8a
\bar{X}	48.6	14.0	38.0	11.0	9.4	509.9	91.1	30.1	4.8
Tukey	18.8	20.6	8.5	1.4	2.4	318.6	44.7	33.8	6.0

GER= Germinación; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PFP= Peso Fresco de Plúmula; PFR= Peso Fresco de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales.

Los coeficientes de correlación (Cuadro 4.6) entre las variables del estudio de envejecimiento acelerado mostraron correlación positiva y significativa para la variable germinación (GER) y longitud media de radícula (LMR) ($r=0.901^{**}$) y significativa ($P \leq 0.05$) con la variable longitud media de plúmula (LMP) ($r=0.667^{**}$). Se observó una correlación negativa y significativa entre porcentaje de germinación y semillas sin germinar (SSG) ($r=-0.958^{**}$). Los resultados indican que en la variedad CIAN Precoz, el tratamiento de envejecimiento artificial no modifica el metabolismo de la semilla expresándose en un alto porcentaje de germinación y plántulas bien desarrolladas.

El porcentaje de plántulas anormales (PA), presentó una correlación negativa y significativa con la variable peso seco de radícula (PSR) ($r=-0.644^{**}$). El porcentaje de semillas sin germinar (SSG), presentó una correlación negativa y significativa con las variables longitud media de radícula (LMR) ($r=-0.843^{**}$) y con el peso seco de plúmula (PSP) ($r=-0.659^{*}$).

La longitud media de plúmula (LMP), presentó una correlación significativa con las variables longitud media de radícula (LMR) ($r=0.881^{**}$) y con el peso fresco de radícula (PFR) ($r=0.616^{*}$), indicando que un buen desarrollo radicular se refleja en una plúmula más

vigorosa. La longitud media de radícula (LMR), presentó una correlación significativa ($P \leq 0.05$) con el peso fresco de radícula (PFR) ($r=0.628^*$), esto es a mayor acumulación de agua en los tejidos de la raíz, mayor es la longitud de la misma.

Tanto el peso fresco de plúmula (PFP) como el peso fresco de la radícula, presentaron correlación significativa con el peso seco de radícula, con valores de $r=0.634^*$ y $r=0.800^{**}$, respectivamente. Indicando en ambos casos, que una raíz vigorosa, propicia la absorción y acumulación de agua en las células de toda la plántula.

Cuadro 4.6. Coeficientes de correlación entre las variables evaluadas en la prueba de envejecimiento acelerado.

Variables	PA (%)	SSG (%)	LMP (cm)	LMR (cm)	PFP (mg/pl)	PFR (mg/pl)	PSP (mg/pl)	PSR (mg/pl)
GER	-0.078	-0.958**	0.667*	0.901**	-0.377	0.515	0.545	0.060
PA		-0.206	-0.337	-0.132	-0.120	-0.410	0.423	-0.644*
SSG			-0.555	-0.843**	0.430	-0.367	-0.659*	0.140
LMP				0.881**	0.078	0.616*	0.210	0.325
LMR					-0.145	0.628*	0.428	0.207
PFP						0.535	0.362	0.634*
PFR							0.020	0.800**
PSP								-0.325

GER= Germinación; PA= Plántulas Anormales; SSG= Semillas sin Germinar; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PFP= Peso Fresco de Plúmula; PFR= Peso Fresco de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; *,**= Niveles de Significancias al 0.05 y 0.01%, respectivamente.

Estudio II. Invernadero

Los cuadrados medios del análisis de varianza para atributos de calidad evaluados en invernadero, en el cuadro 4.7 se muestran diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en la fuente de variación variedad, para las variables LMP, PSP y PSR; así mismo para IVE que muestra diferencias significativas ($P \leq 0.05$). El IVE nos indica la velocidad de ocurrencia en la emergencia de las plántulas, en otras palabras, es un índice que representa que tan rápido

ocurre esto y la importancia radica en que se tendrán mayores probabilidades de establecimiento en invernadero, e incluso, también en el campo.

Cuadro 4.7. Cuadrados medios del análisis de varianza para el ensayo del invernadero.

FV	GL	IVE	ET	LMP	LMR	PSP	PSR
			(%)	(cm)	(cm)	(mg/pl)	(mg/pl)
Variedad	3	2.63*	188.44	98.66**	151.73**	1660.27**	26.20**
Error	8	0.45	62.67	3.09	12.26	118.01	2.35
CV (%)		13.60	9.13	15.34	29.54	16.27	26.45

FV= Fuente de Variación; GL= Grados de Libertad; IVE=Índice de Velocidad de Emergencia; ET= Emergencia Total; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PFP= Peso Fresco de Plúmula; PFR= Peso Fresco de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; *, **= Niveles de Significancias al 0.05 y 0.01 %, respectivamente.

En la comparación de medias por variedad para variables evaluadas en invernadero (Cuadro 4.8), se observa que la variedad CIAN Precoz presentó un comportamiento estadísticamente superior a las variedades DP448B y DP491 en las variables IVE y LMP con valores de 6.0 y 13.4 cm, respectivamente. La variable índice de velocidad de emergencia (IVE), presentó valores con un rango de 4.0 a 6.0, sobresaliendo CIAN Precoz, es decir, entre variedades se presentan diferencias en la emergencia diaria de las plántulas. Así mismo, la variable emergencia total (ET) en la variedad CIAN Precoz (96.0 %), superó numéricamente a las variedades DP449BG/RR (89.33 %), DP448B (84.00 %) y DP491 (77.33 %); estos resultados indican que entre variedades hay semillas más sensibles a las condiciones del invernadero, por lo tanto, no emergieron en el conteo final de la evaluación. Osorio (2010) encontró que la variedad CIAN Precoz obtuvo 2.79 en índice de velocidad de emergencia (IVE) y 97.77 % de emergencia total (ET) con una diferencia del 5.77 % con respecto a Fiber Max y 4 % para NuCOTN 35B, así mismo, deduce que los transgénicos y los convencionales poseen el mismo vigor de semilla. Los resultados difieren de los estudios realizados por Montenegro (2000) y Arias (2001), donde mencionan que los materiales transgénicos (NuCOTN 33B y NuCOTN 35B) presentaron superioridad a los convencionales (DP5690, DP5415 y DP675) en IVE y ET; concluyeron que los transgénicos son más vigorosos que los convencionales.

Cuadro 4.8. Comparación de medias por variedad para el ensayo del invernadero.

Variedad	IVE	ET (%)	LMP (cm)	LMR (cm)	PSP (mg/pl)	PSR (mg/pl)
CIAN Precoz	6.0a	96.0a	13.4a	13.9a	55.0 bc	4.8 b
DP491	3.8 b	77.3a	9.1 c	8.7 b	70.4ab	5.8ab
DP448B	4.7 b	84.0a	11.3 b	11.9a	95.1a	9.7a
DP449BG/RR	5.0ab	89.3a	11.9ab	12.7a	40.0 c	2.6 b
\bar{X}	4.9	86.6	11.4	11.8	65.1	5.7
Tukey	1.7	20.6	1.1	2.3	28.4	4.0

IVE=Índice de Velocidad de Emergencia; ET= Emergencia Total; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; Valores con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales.

Los coeficientes de correlación (Cuadro 4.9) entre las variables del estudio realizado en invernadero muestran para el índice de velocidad de emergencia (IVE), una correlación altamente significativa con las variables relacionadas con el vigor, tales como la longitud media de plúmula (LMP) ($r=0.883^{**}$) y la longitud media de radícula (LMR) ($r=0.825^{**}$) de igual manera con la emergencia total (ET) ($r=0.9479^{**}$). Estos resultados indican que las semillas vigorosas desarrollan estructuras de mayor longitud, mostrando un metabolismo más activo hasta la iniciación de la actividad fotosintética, permitiendo la emergencia y establecimiento de las plántulas en el invernadero; ya que estas condiciones son similares a las del campo.

La emergencia total (ET) presentó una correlación altamente significativa ($P \leq 0.01$) con la variable longitud media de plúmula (LMP) ($r=0.787^{**}$) y con la longitud media de radícula (LMR) ($r=0.872^{**}$). La emergencia de plántulas en semillas de algodón, está relacionado con el crecimiento de la plúmula a través del suelo; el epicotilo es corto a casi nulo y lo que se alarga es el hipocotilo, apareciendo las primeras hojas verdaderas que son los órganos de la planta que fotosintetizan. Es por lo anterior que se da la correlación entre ET y LMP.

Cuadro 4.9. Coeficientes de correlación entre las variables evaluadas en la prueba de invernadero.

VARIABLES	ET (%)	LMP (cm)	LMR (cm)	PSP (mg/pl)	PSR (mg/pl)
IVE	0.947**	0.883**	0.825**	-0.423	-0.245
ET		0.787**	0.872**	-0.494	-0.331
LMP			0.777**	-0.377	-0.210
LMR				-0.295	-0.128
PSP					0.971**

IVE=Índice de Velocidad de Emergencia; ET= Emergencia Total; LMP= Longitud Media de Plúmula; LMR= Longitud Media de Radícula; PSP= Peso Seco de Plúmula; PSR= Peso Seco de Radícula; *, **= Niveles de Significancias al 0.05 y 0.01%, respectivamente.

La longitud media de plúmula (LMP), presentó una correlación altamente significativo ($P \leq 0.01$), con la variable de longitud media de radícula (LMR) ($r=0.777^{**}$). Esto quiere decir, que hay una correlación directa, entre el desarrollo de la plúmula y el crecimiento de la raíz. Por último, la variable peso seco de plúmula (PSP), presentó una correlación altamente significativa ($P \leq 0.01$) con la variable peso seco de radícula (PSR) ($r=0.971^{**}$), por lo tanto, al acumular mayor materia seca en la plúmula, mayor es la cantidad de materia seca contenida en la radícula.

Con base en los resultados a nivel de laboratorio e invernadero, se observó en general que el material convencional CIAN Precoz, provee algunas ventajas sobre los materiales transgénicos (DP449BG/RR y DP448B), lo anterior de acuerdo a los resultados de la prueba de germinación estándar, donde se presentó un rango de 84 a 94.6 %, obteniendo CIAN Precoz el mayor valor. Bajo situaciones más drásticas o de estrés, en las pruebas de vigor en donde las semillas fueron sometidas a altas temperaturas y con 90 % de humedad relativa por 72 horas, se observó que la variedad DP491 es altamente susceptible al deterioro, ya que el porcentaje de germinación presentó una reducción a 5.3, en comparación con CIAN Precoz que se mantuvo en 92 %. Así mismo, se observó con el comportamiento de las plántulas en el invernadero, el índice de velocidad de emergencia (IVE) y en emergencia total (ET), donde la variedad CIAN Precoz presentó una mayor capacidad fisiológica durante la emergencia. La

variable índice de velocidad de emergencia (IVE) presentó valores con un rango de 4.0 a 6.0, sobresaliendo CIAN Precoz, es decir, entre variedades se presentan diferencias en la emergencia diaria de las plántulas. Así mismo, en la variable emergencia total (ET) la variedad CIAN Precoz (96.0 %), superó numéricamente a las variedades DP449BG/RR (89.33 %), DP448B (84.00 %) y DP491 (77.33 %); estos resultados indican que entre variedades hay semillas sensibles a las condiciones del invernadero, por lo tanto, no emergieron en el conteo final de la evaluación. No obstante, en el peso seco de plúmula (PSP) se encontró diferencias a favor de la variedad transgénica DP448B, tanto en las pruebas de envejecimiento artificial y en el invernadero. En el ensayo de germinación se observó relación alta en el porcentaje de germinación y las variables relacionados con el vigor. Por otra parte, en el invernadero se obtuvo correlación positiva entre IVE y ET, así como, con LMP y LMR.

V. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos e interpretación de los mismos, se deducen las siguientes conclusiones:

Las pruebas de laboratorio e invernadero utilizadas para la evaluación fisiológica de semillas de algodón, permitieron identificar diferencias estadísticas de calidad entre variedades transgénicas y convencionales, sobresaliendo la variedad CIAN Precoz.

El ensayo de envejecimiento acelerado resultó ser la prueba fisiológica más eficiente para detectar diferencias entre variedades de algodón.

En las variedades transgénicas DP448B, DP449BG/RR y la convencional DP491, al ser sometidas a estrés fisiológico, se reduce su capacidad germinativa y su vigor.

Se observó correlación entre vigor y variables asociadas como la longitud media de plúmula, longitud media radícula, peso seco de plúmula y peso seco de radícula.

VI. LITERATURA CITADA

Antuna G., O., F. Rincón Sánchez, E. Gutiérrez del Río, N.A. Ruiz Torres y L. Bustamante García. 2003. Componentes genéticos de caracteres agronómicos de semillas en líneas de maíz. Revista de Fitotecnia Mexicana. Sociedad Mexicana de Fitotecnia, A.C. ISSN: 0187-7380. México. Disponible en la página web: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/610/61026102.pdf>. Fecha de consulta 14/01/2012.

AOSA. 2011. Rules change proposal 1. Disponible en la página web: http://www.aosaseed.com/docs/2011_Rule_Proposals_Approved_All.pdf. Fecha de consulta: 31/01/2011.

Arias C., I. 2001. Análisis comparativo de calidad fisiológica de semillas de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) transgénico y convencional. Tesis de Licenciatura. Ingeniero agrónomo en producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 52 p.

Bautista P., L.J. 2010. Determinación de la calidad fisiológica de semilla de maíz criollo mejorado obtenida bajo diferentes estrategias de producción. Tesis de Maestría en Tecnología de Granos y Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 48 p.

Bayer. 2011. Solicitud de permiso para la liberación al ambiente de algodón genéticamente modificado Bollgard II[®]/solución Faena Flex[®]. (mon-15985-7 x mon-88913-8) en programa piloto en el estado de Chihuahua, durante el ciclo agrícola p-v 2012. Disponible en la página web: <http://www.senasica.gob.mx/?id=1344>. Fecha de consulta: 18/01/2012.

BIAGRO. 2007. Análisis de semillas. Disponible en la página web: http://www.analisisdesemillas.org/descargas/revista_analisis_1_1.pdf. Fecha de consulta: 14/01/2012.

CIBIOGEM. 2011. Manejo de la resistencia asociada al cultivo de organismos genéticamente modificados en México: el caso del algodón. Disponible en la página web: www.conacit.Gob.mx/cibiogem/Documentos/CIBIOGEM_Bioseguridad_2011_DemandasEspecificas-1.pdf. Fecha de consulta: 12/01/2012.

Copeland L.O. y M.B. McDonald. 1985. Principles of seed science and technology. MacMillan Publishing Company, New York; Second edition. 321p.

Copeland L.O. and M.B. McDonald. 2001. Principles of seed science and technology. Kluwer academic publishers. Fourth edition. 467p.

De la Fuente M., J.M. 2005. Adopción de cultivos genéticamente modificados en la práctica agrícola. Monsanto Comercial. Disponible en la página web: http://octi.guanajuato.gob.mx/octigto/formularios/ideasconcyteg/archivos/07042006_adopcion_cultivo_genetico_agricola.pdf. Fecha de consulta: 12/01/2012.

FAO. 2004. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Disponible en la página web: http://www.fao.org/es/esa/pdf/sofa_flyer_04_es.pdf. Fecha de consulta: 14/01/2012.

Flores H., A. 2004. Introducción a la tecnología de las semillas. Universidad Autónoma Chapingo 160 p.

Gianessi, L.P., Silvers, C.S., Sankula, S. and Carpenter, J.E. 2002. Plant biotechnology: Current and potential for improving pest management in U.S.A. An Analysis of 40 Case Studies. National Center for Food & Agricultural Policy, Washington, D.C. Disponible en la página web: <http://www.ncfap.org/40casestudies.htm>. Fecha de consulta: 31/01/2012.

INFORURAL. 2011. Noticias agropecuarias. Disponible en la página web: http://www.inforural.com.mx/noticias.php?&id_rubrique=182&id_article=72173. Fecha de consulta: 12/01/2012.

ISAAA. 2010. The status of Bt cotton -the silver sixth – In Myanmar, 2010. Disponible en la página web: http://www.isaaa.org/india/media/Myanmar-ThestatusofBt-cotton-in_Myanmar-2010.pdf. Fecha de consulta: 15/01/2012.

ISTA. 2004. International rules for seed testing. International Seed Testing Association. Zurich, Suiza. 243 p.

ISTA. 2011. Rules proposals for the International Rules for Seed Testing, 2011 Edition. Disponible en la página web: <http://www.seedtest.org/upload/cms/user/05-2010-OMRulesProposalsfor2011Edition.pdf>. Fecha de consulta: 14/01/2013.

Krattiger, A.F. 1997. Insect resistance in crops: a case study of *Bacillus thuriangiensis* (Bt) and its transfer to developing countries. ISAAA Briefs No2. ISAAA: Itahaca, NY. pp.42.

Lajolo, F.M. y Nutti, M.R. 2003. Transgénicos: Bases Científicas da sua segurança. Sao Paulo: SBAN.112 p.

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci. pp.176-177.

Marcos, F.J., Cicero, S.M., Silva, W.R. 1987. Avaliação da qualidade das sementes. 230 p. Disponible en la página web: <http://www.tcc.cca.ufsc.br/agronomia/ragr90.pdf>. Fecha de consulta: 30/01/2012.

Monsanto. 2011. Algodón solución Faena Flex® (evento Mon-88913-8). Solicitud de permiso de liberación al medio ambiente en etapa experimental. Disponible en la página web: <http://www.senasica.gob.mx/?id=1344>. Fecha de consulta: 18/01/2012.

Monsanto Agricultura España. 2002. Seguridad del algodón Bollgard® Evento 531, genéticamente protegido contra las orugas de las cápsulas. Cuaderno Técnico No. 4. Madrid. 44 p.

Montenegro T., H. 2000. Bioseguridad en cultivos y evaluación de semillas transgénicas de algodón y variedades criollas de maíz. Tesis Doctoral. Ciencia agrícola. Área producción agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 199 p.

Moreno E.M. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Tercera edición. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria. México, D.F. 393 p.

Osorio M., S. 2010. Efecto del sistema de siembra en la calidad de semillas de algodón transgénico y convencional. Tesis de Maestría en Tecnología de Granos y Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 51 p.

Palomo G., A, A. Gaytán Mascorro, A. Espinoza Banda, H. Javier Martínez y D. Jasso Cantú. 2003. Dosis de nitrógeno y número de riegos en el rendimiento y la calidad de la semilla de algodón. Disponible en la página web: <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/26-2/4a.pdf>. Fecha de consulta: 17/05/2012.

Pérez M., C., A. Hernández Livera, F. Valerio González, G. García de los Santos, A. Carballo Carballo, T. R., Vásquez Rojas y M. del R., Tovar Gómez. 2006. Tamaño de semilla y relación con su calidad fisiológica en variedades de maíz para forraje. Agricultura Técnica en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. ISSN (versión impresa: 0568-2517). Disponible en la página web: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/608/60832310.pdf>. Fecha de consulta: 14/01/2012.

Perry, D. A. 1973. Seed vigour and stand establishment. 342 p.

Popinigis, F. 1985. Fisiología de semente. 2da ed., Agiplan, Brasilia. 289 p.

Sánchez M., T. 2008. Plantas transgénicas. Biotecnología y alimentación. Disponible en la página web: <http://www.uned.es/experto-biotecnologiaalimentos/TrabajosSelecc/TrinidadSanchez.pdf>. Fecha de consulta: 13/01/2012.

SAS Institute. 2005. SAS/STAT® 9.1 User`S Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. USA. 5121p.

Tekrony, D.M. 1995. Accelerated ageing. Congress of the International Seed Testing Association. 24., Copenhagen. Seed Vigour Testing: Contributions to a Seminar. Zurich: International Seed Testing Association. pp. 816-822.

Temas Públicos. 2011. Transgénicos: la Ciencia Silenciada. Disponible en la página web: http://www.lyd.org/wpcontent/files_mf/tp1030transgenicoslacienciasilenciada09092011.pdf. Fecha de consulta: 13/01/2012.

UNAM. 2010. Centro de Documentación e Información. Instituto de Investigaciones Económicas. Alistan venta de algodón transgénico. Disponible en la página web: http://Biblioteca.iiec.unam.mx/index.php?option=com_content&task=view&id=1032&Itemid=146. Fecha de consulta: 12/01/2012.

Wanjura. D.F., Hudspeth, J.R., Billbro J.R., J.D. 1969. Emergence time, seed quality and planting depth effects on field and survival of cotton (*G. hirsutum*, L.). 61 p. Disponible en la página web: <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1979/v1n1/artigo11.pdf>. Fecha de consulta: 31/01/2012.