



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**ESTUDIO DE LA RELACION DE FIERRO Y MANGANESO  
CON LA GERMINACION PREMATURA DEL MAIZ**

**T E S I S**

Que para obtener el título de  
**QUÍMICO FARMACEÚTICO BIÓLOGO**

**P R E S E N T A**

**ALFREDO CARLOS CASTRO IBARRA**

**MEXICO, D. F.**

**1983**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# INDICE

	Pág.
RESUMEN	1
I INTRODUCCION	3
I.1 Antecedentes	5
I.2 Objetivos	17
II PARTE TEORICA	21
III PARTE EXPERIMENTAL	28
III.1 Materiales	28
III.2 Reactivos	30
III.3 Equipo	30
III.4 Metodología	31
III.4.1 Muestras de maíz (granos)	31
III.4.2 Muestras de suelo	31
IV RESULTADOS Y DISCUSION	35
V CONCLUSIONES	44
VI APENDICES	46
APENDICE A: Tratamiento estadístico	46
APENDICE B: Calibración de Material	48
APENDICE C: Variedades susceptibles, resis- tentes a la germinación prematura	49
APENDICE D: Constantes condicionales	51
VII BIBLIOGRAFIA	54

## RESUMEN

La producción de maíz en los Estados de Puebla y Tlaxcala (México) se ve afectada, desde 1974, por efectos de la germinación prematura (GP) del grano en la mazorca de esta planta; este problema provoca grandes pérdidas económicas en la agricultura ya que los granos germinados no pueden ser utilizados para consumo humano ni animal.

Por lo anterior dentro del marco del Convenio de Colaboración Académica Colegio de Posgraduados, Chapingo - UNAM se estableció en 1980 un grupo interdisciplinario abocado al estudio de este problema.

Una de las posibles causas de la GP del maíz puede ser la deficiencia de micronutrientes en el suelo y particularmente algunos elementos con propiedades redox, tales como manganeso y fierro.

Este trabajo se realizó con el fin de investigar el contenido de manganeso y fierro por espectroscopia de absorción atómica en:

a) granos de maíz (Zea mays L.) en tres etapas de su proceso de maduración y con genotipos diferentes (H-139, criollo local y H-32). Los resultados obtenidos muestran que el manganeso mantuvo un patrón uniforme de variación mientras que en las determinaciones de fierro no se observó ninguna variación uniforme. Por otra parte, el mayor valor en la concentración de manganeso correspondió en todos los

casos al primer estadio de maduración.

b) en muestras de suelo donde el maíz fué cultivado. Las de  
terminaciones realizadas muestran una deficiencia de manga-  
neso en el suelo.

Los datos obtenidos permiten concluir que hay alguna rela -  
ción entre la cantidad de manganeso y el problema de la GP\_  
y que los suelos donde el maíz fué cultivado presentan defi  
ciencias de este elemento.

## I.- INTRODUCCION

Después del arroz y el trigo, el cultivo de maíz ocupa el tercer lugar en la producción mundial de cereales (tomando como criterio de clasificación tanto la superficie sembrada como la producción obtenida). Los principales países productores de maíz son: Estados Unidos de Norteamérica, China, Brasil, Unión de Repúblicas Socialistas Soviéticas, Yugoslavia, Rumanía, Argentina, India y Sudáfrica [ 8 ] México no se encuentra entre los principales productores; sin embargo éste cereal forma parte de la dieta básica del pueblo mexicano y, por tanto, es de suma importancia el control de su producción.

En muchas ocasiones, esta producción se ve afectada por diferentes factores (ambientales, genéticos y/o patógenos) que pueden provocar diversas alteraciones, tales como la germinación prematura del maíz [24]. Este problema consiste en que el maíz germina en la mazorca sin pasar por el estado latente (en el cual los procesos fisiológicos se encuentran casi suspendidos); como consecuencia, provoca grandes pérdidas económicas para los agricultores. Como ejemplo se tiene el caso expuesto por los trabajos del Dr. Ortiz Cereceres [23] en la localidad de San Antonio Tlacamilco, estado de Puebla México - que muestran que en el año de 1981 se perdieron 2560 Kg de maíz/ha y 386 Kg de maíz/ha para las variedades H139 y criollo, respectivamen-

te.

Actualmente en México el problema se presenta localizado en diversos Estados de la República y hay una tendencia a que se extienda a otros; para tratar de resolverlo se ha formado un grupo interdisciplinario, constituido por investigadores de varias instituciones\*, que se abocan al estudio del problema tomando en consideración los diversos factores que pueden causarlo.

Entre los factores de tipo ambiental se encuentra el contenido de macro y micro nutrientes y, dentro de éstos últimos, parecen tener especial interés los elementos con propiedades redox (particularmente manganeso y fierro) 31. Por tanto, en este trabajo se determinaron los niveles de estos dos elementos en: a) granos de maíz colectados en diversos estadios de la germinación de la planta y b) en muestras de suelo provenientes del sitio donde la planta se desarrolló.

---

\* División de Estudios de Posgrado Facultad de Química -- UNAM, Centro de Inv. de Estudios Avanzados IPN y Colegio de Posgraduados (Chapingo).

### I.1 Antecedentes

La germinación del grano de maiz es, según Jann [13], el resurgimiento en el eje embrionario de una serie de procesos que la llevan a un estado (del cual fué temporalmente suspendido) de actividad metabólica. Una vez alcanzado este estado se presentan los eventos fisiológicos y/o bioquímicos que pueden manifestarse en pocos minutos o muchas horas.

La germinación de la semilla sigue un patrón ordenado de procesos bioquímicos, morfológicos y fisiológicos que pueden ser esquemáticamente representados de la siguiente forma:

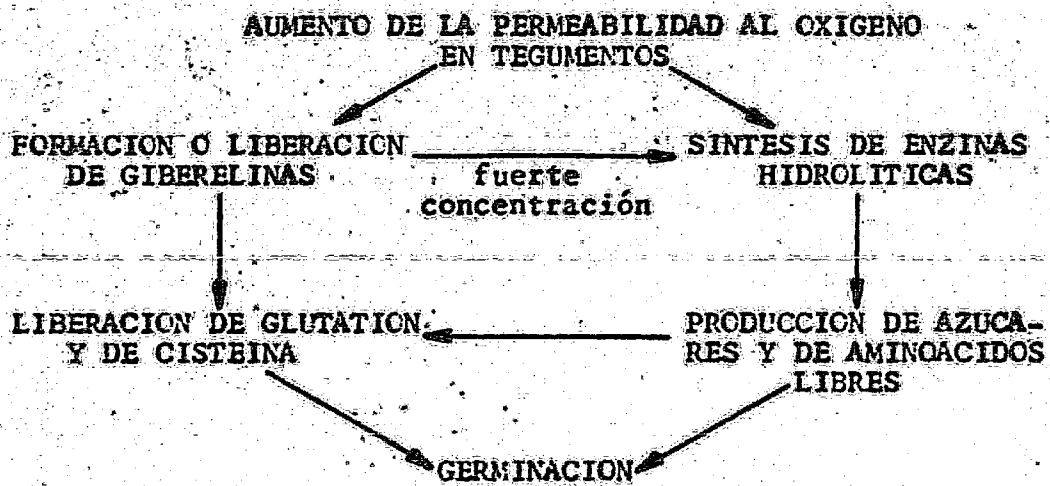


Figura I.1. Proceso bioquímico en la germinación en granos de cereales [ 31 ] .



Dentro de las actividades fisiológicas que se realizan durante la germinación de la semilla, la imbibición (absorción de agua) es esencial puesto que las semillas en el estado latente están generalmente deshidratadas. Una vez que el grano fué imbibido se manifiestan los primeros metabolismos bioquímicos tales como la actividad enzimática relacionada con un incremento en la respiración y síntesis de macromoléculas [13, 18].

Después de las primeras 24 horas de la imbibición se inicia el proceso de elongación de la célula provocando que la radícula (figura I.2) rompa el endospermo (protusión) y la división celular (mitosis) empiece, dando origen al crecimiento de una nueva planta [13].

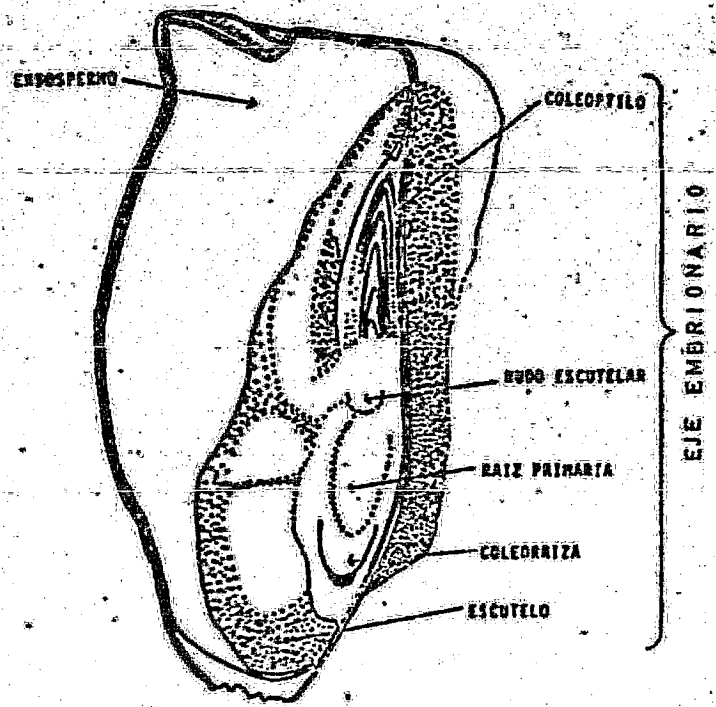


Figura I.2. Corte longitudinal del grano de maíz (*Zea mays* L.) mostrando sus partes fundamentales.

En un tipo de células (llamadas meristemáticas) del eje embrionario hay producción de la auxina\*, ácido indol acético (AIA), principalmente [19]; también hay evidencias de que en algunas plantas contienen otras auxinas, junto con el AIA, tal como el ácido indol 3- propiónico (AIP) y el ácido fenilacético (AFA) [35, 36]. Esta producción de auxinas se lleva a cabo en las células meristemáticas de otras áreas tales como las hojas tiernas, las flores, las inflorescencias y los pedúnculos [19].

Las auxinas son sintetizadas, en forma sucesiva, por los cotiledones y el embrión de la semilla [13].

La actividad fisiológica de las auxinas, cuando se encuentran en concentraciones bajas, produce un efecto estimulante en el crecimiento; por lo contrario, una concentración relativamente alta, causa inhibición [19].

~~En la vida latente, el grano no germina y pasa a la maduración gracias al equilibrio que se establece entre la actividad de las sustancias del crecimiento y la actividad de las sustancias que inhiben la germinación.~~

Los factores que inhiben la germinación son localizados en los tegumentos o en el embrión mismo y funcionando principalmente como barreras físicas que impiden cambios con el

---

\*Auxina.- Regulador del crecimiento.

medio externo. Esta inhibición tegumentaria puede quizás desaparecer como consecuencia de lesiones físicas o de la acción de temperaturas alternadas altas y bajas [18, 19]. Los inhibidores del crecimiento del embrión pueden ser de naturaleza variada como la presión hipertónica de la savia, los ácidos orgánicos (málico, tartárico y cítrico), los aldehidos (acético, benzóico y salicílico) y sustancias volátiles tales como amoniaco y etileno [19].

Similarmente, la acción de las sustancias del crecimiento es contrabalanceada en el embrión por el regulador de la vida latente: el ácido abscísico [19].

La resistencia de los cereales a la germinación prematura está en relación con: 1) las características genéticas y 2) el contenido del ácido beta indol acético, que es abundante en el grano en el estado lechoso y que disminuye al pasar al estado masoso; el ácido indol acético se degrada por acción oxidativa y da lugar al 3-metilenoxindol que es, según algunos autores [32], el inhibidor específico de la germinación prematura.

Los efectos inhibitorios del 3-metilenoxindol son atribuidos a su reactividad en los grupos -SH de las proteínas. La duración de esta respuesta inhibitoria puede ser controlada por la reducción del 3-metilenoxindol a el 3-metiloxindol [35].

Por otra parte Skytt-Andersen y Thimann entre otros han in

formado que el 3-metilenóxindol no tienen efectos negativos ni positivos sobre el crecimiento de las plantas [35]. La oxidación de la auxina puede llevarse a cabo por medio de dos tipos de reacciones: 1) Enzimáticas y 2) de fotooxidación. El proceso fisiológico oxidativo más importante es la destrucción enzimática, catalizada por una enzima conocida como AIA oxidasa; esta enzima es una peroxidasa, que actúa como una oxidasa (figura 1.3) [20].

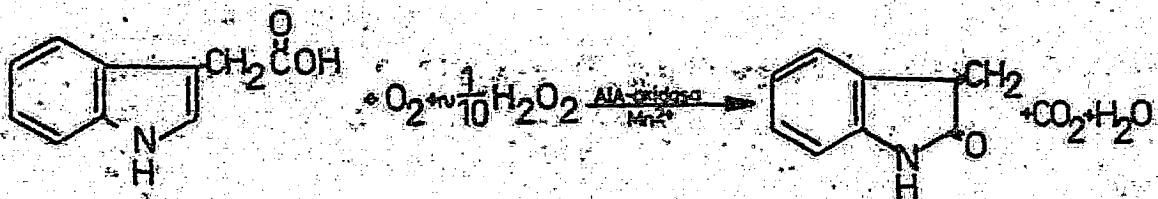


Figura 1.3. Reacción oxidativa del ácido indolacético.

La fotooxidación del AIA es muy diferente a la reacción enzimática y aparentemente tiene poco valor significativo. Los sistemas enzimáticos de oxidación del AIA requieren de cofactores orgánicos [15, 28] y de elementos con propiedades redox [16, 32].

Por otra parte, en las investigaciones realizadas por Galston, A. N. [35], se encontró que el manganeso es un cofactor para muchos sistemas AIA-oxidasa. Y que la nutrición -

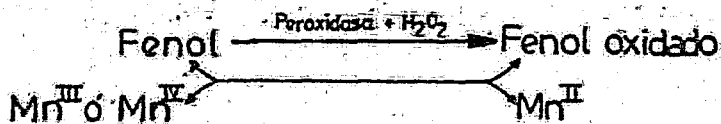
de manganeso en el algodón afecta los niveles de AIA-oxidasa en esta planta de la siguiente forma:

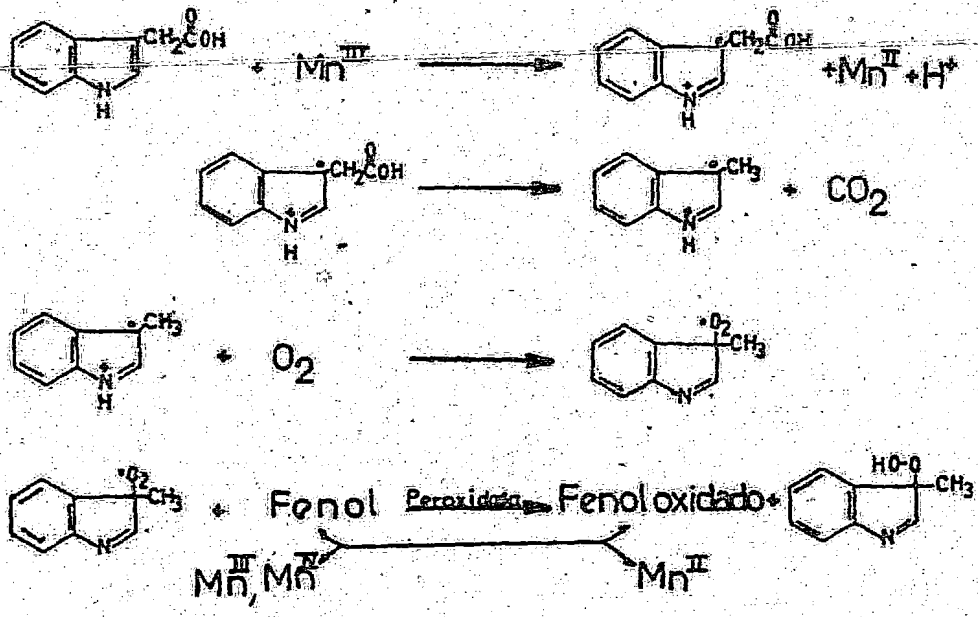
a) A niveles tóxicos de manganeso, la actividad de la AIA-oxidasa fué incrementada y su actividad inhibidora decreció.

b) Una deficiencia de manganeso en las plantas tuvo una actividad muy alta en la AIA-oxidasa, sin ser detectable su actividad inhibitoria, encontrándose en estas plantas deficientes de manganeso, un cofactor natural [35].

Por lo tanto, los niveles de manganeso en la planta pueden afectar la actividad de la AIA-oxidasa directamente o a través de su efecto sobre cofactores naturales e inhibidores del sistema [35].

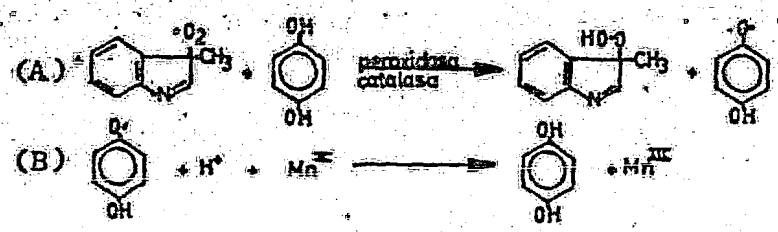
También se tiene evidencia [16] que el  $Mn^{2+}$  es empleado en procesos enzimáticos superiores de autooxidación. Kent y Mann [34] han observado que varios sistemas peroxidasa -  $H_2O_2$  pueden, en presencia de ciertos fenoles, oxidar al ión manganeso a niveles altos de valencia. El mecanismo de acción de este elemento según Maclachlan [16] es el siguiente:





Esta oxidación de la auxina (AIA) es más fuerte debido a la presencia de  $Fe^{3+}$ ,  $Co^{2+}$  [32] y del manganeso acomplexado con EDTA [1, 10 y 17].

Es un hecho conocido que una substancia que actúe como cofactor puede ser, o bien un subtrato para una peroxidasa y catalasa (reacción A), o un catalizador redox de la oxidación del manganeso (reacción B).



Un exceso de cofactores fenólicos puede competir con el AIA por los iones mangánicos; en 1980 Lee y colaboradores

[14 y 15] informaron de esta inhibición, demostrándose que estos cofactores son inhibidores naturales [36]. De igual forma Mackchlan [16] informó que con concentraciones de manganeso elevadas se presenta la inhibición a la oxidación del AIA.

Por otra parte los trabajos realizados hasta la fecha por diferentes grupos participantes en el problema de la germinación prematura del maíz, parecen también indicar que los metales con propiedades redox pueden ser parte esencial en los mecanismos de producción del inhibidor de la germinación (3-metilen oxindol) en el momento de maduración del grano [8, 24].

La cuantificación de diversos elementos realizada por espectroscopía de absorción atómica, en granos de maíz (variedades H-139, H-32 y criollo local) de la cosecha de 1981 de San Antonio Tlacamilco mostraron una disminución en el contenido de manganeso [7] que coincidía con el momento de la maduración; sin embargo, los otros elementos determinados (calcio, magnesio, zinc y fierro) no mostraron variaciones significativas. Por ésto, en las muestras de la cosecha de 1982 de San Antonio Tlacamilco, se determinaron únicamente el manganeso y el fierro. Este último elemento (aunque no había presentado variaciones apreciables en las anteriores determinaciones), fué también considerado, porque, debido a sus propiedades redox, podría tener un meca-

nismo similar al manganeso [32].

Cabe señalar que la disminución del ácido beta-indolacético, vía oxidativa, no depende solamente de la cantidad de los micronutrientes (fierro y manganeso) en el grano sino también de la acción de factores físicos y/o químicos (figura 1.4), que impidan que la planta los absorba y que, por esto, no se produzca la disminución de AIA (con la consiguiente germinación prematura del grano) [8, 24 y 30].

Los micronutrientes tienen varias propiedades en común; entre los más importantes son su conexión con la actividad de muchas enzimas esenciales. Estos micronutrientes son necesarios en cantidades pequeñas pero definidas y, con frecuencia, en concentraciones superiores resultan tóxicos.

El fierro y el manganeso son tomados del suelo por las raíces de la planta y distribuidos a través de ella por el floema.

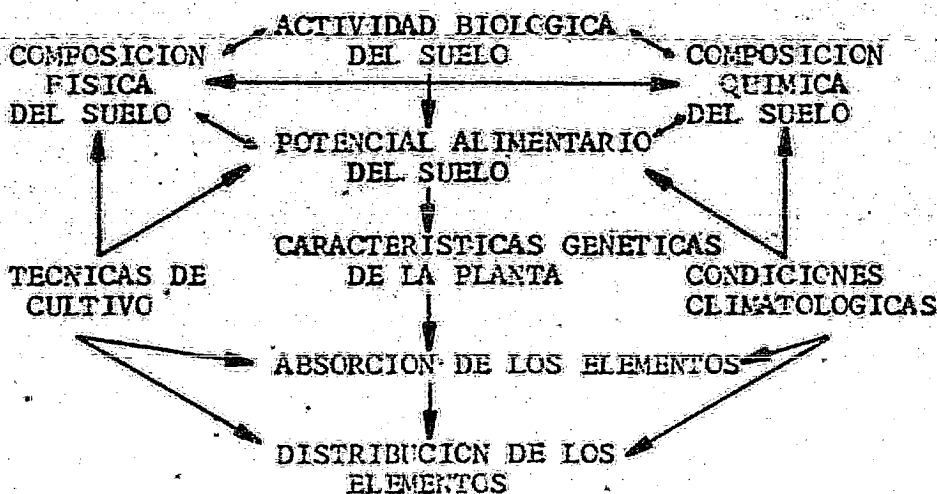


Figura 1.4. Factores que afectan la absorción de microelementos por la planta. Routchenko, W. [30].



### El hierro y el manganeso en el suelo.

El hierro se encuentra en los suelos en diferentes formas:

a) En forma trivalente formando óxidos e hidróxidos poco solubles, en los suelos no saturados de agua, que constituyen un sistema oxidante.

b) En forma de hierro divalente, en suelos inundados, especialmente que contengan materia orgánica y que den condiciones reductoras para el hierro. Un suelo ácido favorece esta reacción. En estas condiciones el elemento es muy soluble y puede haber pérdidas del mismo cuando la percolación es apreciable.

c) Una importante fracción del hierro (que puede alcanzar una tercera parte del total) se encuentra unido a la materia orgánica del suelo formando complejos muy estables con compuestos fenólicos, proteínas, aminoácidos y ácidos orgánicos [ 4 y 27 ].

El contenido total de manganeso en los suelos es muy variable.

Este elemento experimenta numerosos cambios en el suelo, según las condiciones ambientales y las prácticas agrícolas usadas.

En la figura I.5. se presenta el ciclo del manganeso que resumen estos procesos:

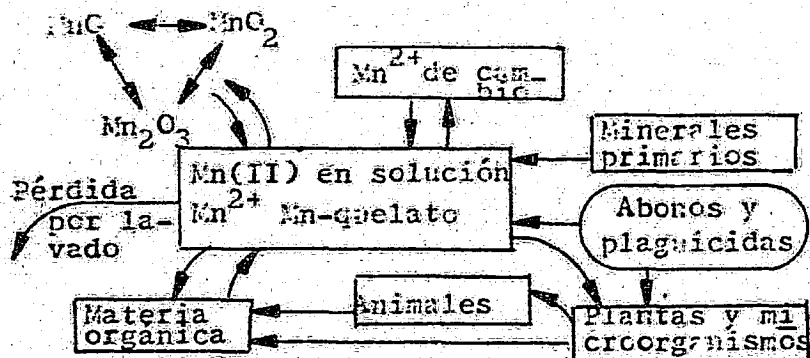
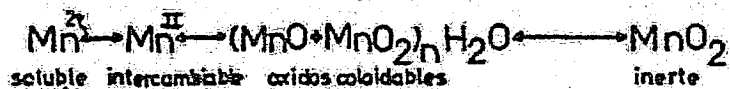


Figura 1.5. Ciclo del manganeso en el suelo [ 4 ] .

Los cambios en el estado de oxidación del suelo influyen sobre la disponibilidad del manganeso. Con un pH bajo y en condiciones reductoras se consiguen elevadas concentraciones de manganeso soluble mientras que, un pH alto y condiciones oxidantes, son favorables a la formación de  $MnO_2$  in soluble.

En los suelos existen equilibrios de las formas divalentes, trivalentes y tetravalentes del manganeso en los que los microorganismos desempeñan un papel importante, como lo muestra la siguiente reacción:



En condiciones anaerobias, los óxidos coloidales se reducen por acción bacteriana a manganeso divalente.

Según A. Cottenie [ 6 ] la cantidad de fierro tiende a incre

mentarse y la de manganeso a decrecer con la profundidad del suelo.

Por otra parte, como Routtchenko W. [ 32 ] menciona, la proporción entre  $Fe^{3+}$  y  $Fe^{2+}$  se debe, en gran parte, a la actividad de manganeso. Esto da por resultado que las características oxidantes o reductoras del suelo afecten en forma diferente a cada uno de estos elementos.

## I.2 Objetivos

En el presente trabajo se han determinado los niveles de manganeso y fierro en granos de maíz y en los suelos en que éstos se cultivaron, con el propósito de encontrar algún patrón de variación entre el contenido de ambos que pudiera relacionarse con el fenómeno de la germinación prematura.

Uno de los problemas fundamentales en este tipo de estudios es el de seleccionar una variedad genética resistente al fenómeno y que pueda ser considerada como patrón de referencia.

En los trabajos realizados en el año de 1981, y en base a los resultados de los años anteriores (V. Cap. VI), se consideró como variedad susceptible al criollo local y como tolerante al H-139. Sin embargo, en ese año se tuvo una incidencia mayor de germinación prematura en la variedad H-139 que la obtenida en el criollo local; en cambio la incidencia al problema sobre la variedad H-32 fué prácticamente nula.

Por este motivo, al elegir las variedades que se sembrarían y estudiarían en 1982, se decidió considerar los tres genotipos y realizar los estudios tomando ahora como patrón de referencia, la variedad H-32.

Por tanto en el presente trabajo se utilizaron muestras de suelo proveniente del lugar donde dichas mazorcas habían

sido colectadas.

El trabajo ha sido dividido en dos partes:

I.- En relación al estudio de las mazorcas, determinar los niveles de concentración de manganeso y fierro en granos de maíz correspondientes a tres estadios de maduración clasificados de acuerdo al estado que presenta el endospermo en este proceso, como se puede observar en el siguiente cuadro:

ETAPA	ESTADO DEL GRANO	ESTADO DEL EMBRION	DIAS DESPUES DE LA FECUND.
I	Lechoso	Inmaduro	21
II	Lechoso-masoso	Apto para germinar	35
III	Madurez comercial	Apto para germinar	100

II.- En relación al estudio de los suelos donde se cultivaron las mazorcas de maíz, determinar los niveles de concentración de manganeso y fierro.

Cabe señalar que las muestras de suelos fueron tomadas una vez que la cosecha había sido levantada y que, por tanto, no se puede hacer una correlación entre el contenido de los minerales en suelo y en mazorcas para cada estadio. Sin embargo, se trata de verificar si el contenido de fierro y manganeso en estos suelos es o no suficiente y si pudiera haber alguna relación con el contenido de estos elementos en la planta.

Para determinar en suelos los niveles de concentración de manganeso y fierro, se requiere extraerlos previamente del mismo; para lograrlo se siguieron dos procedimientos:

1o. Basado en extracciones a pH igual a 10.5. En estas condiciones el valor de la constante condicional del complejo Mn-EDTA en agua (V, Cap. VI), permite suponer que la extracción es cuantitativa y que es posible, por lo tanto, conocer el contenido total de manganeso en el suelo. Contrariamente, en el caso de fierro y dado que es factible que este elemento se encuentre predominantemente en forma de fierro (III), es muy probable que su extracción no sea total en este valor de pH y que deba ser realizada en medio ácido.

No obstante, el objetivo fundamental de este trabajo se ha centrado en el manganeso ya que la influencia de este elemento parece ser más relevante en la incidencia de la germinación prematura.

2o. Extracciones a pH igual al del suelo. El objetivo de realizar una extracción de micronutrientes con esta concentración de iones  $H^+$ , ha sido el determinar el contenido de manganeso, y también de fierro, que pudieran ser extraídos por la planta en dichas condiciones de pH.

Cabe señalar que la cantidad de complejación de manganeso con EDTA en este valor de pH es mejor que la correspondiente al de 10.5 y que por tanto, la extracción de este ele-

debe ser menor. Sin embargo, esto no implica de ninguna manera que las condiciones de extracción en el laboratorio y aquellas en las que la planta actúa para incorporar estos elementos a sus procesos biológicos sean iguales. De hecho, se ignora cual es el mecanismo que utiliza la planta para tenerlos y, por otra parte, los fluidos de la misma no pueden tampoco ser considerados como medios acuosos.

En estas condiciones los valores de las constantes pueden diferir totalmente; sin embargo, consideremos que en esta forma se puede tener un mayor grado de comparación para estudiar si el contenido de manganeso en suelo es o no suficiente.

## II.- PARTE TEORICA.

### Absorción atómica.

La determinación de los microelementos (Fe y Mn) fué realizada por espectroscopía de absorción atómica cuyo fundamento se describirá brevemente a continuación:

El espectro atómico se origina en las transiciones de los electrones en los niveles externos de los átomos y esto ocurre en las regiones del espectro electromagnético correspondiente al ultravioleta y al visible.

Se dice que los átomos están en su estado normal o basal - cuando estos electrones se encuentran en el nivel energético más bajo; cuando el electrón se excita pasa a niveles energéticos superiores dependiendo de las cantidades de energía que absorba. El tiempo de vida media del estado excitado es muy corto ( $\sim 10^{-14}$  seg) y el electrón vuelve a su estado normal, de mínima energía, liberando cantidades discretas de energía a medida que cae de una orbita a otra - [21] .

Las transiciones electrónicas dan lugar a tres tipos de espectros:

- 1) Continuo, en el cual todas las longitudes de onda aparecen en forma constante y ordenada y proviene de sólidos y líquidos incandescentes.
- 2) De bandas complejas y sistema ondulatorio de líneas que son características de la unión entre átomos (moléculas y

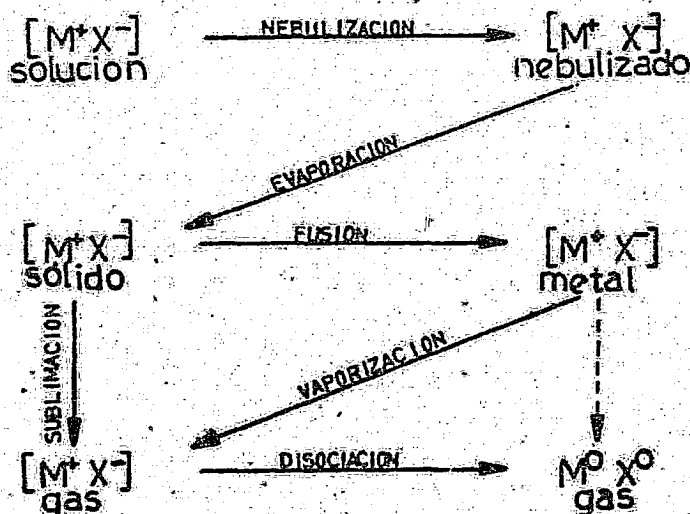


radicales).

3) De líneas, es decir cada línea definida y espaciada de los otros debida a los átomos libres formados en un gas caliente.

Como en los átomos no hay niveles vibracionales asociados, las transiciones electrónicas sólo dan lugar a espectros de líneas y este es el requerido en la técnica de espectroscopía de absorción atómica, que se basa en el siguiente proceso:

Se hace pasar, a través de la flama, la radiación de una fuente externa de luz que emita exactamente con la energía necesaria para lograr la transición electrónica del estado normal al estado excitado. La flama es el medio para colocar al elemento de interés como átomos libres y no excitados capaces de absorber de la fuente externa. La radiación no absorbida (de la línea espectral elegida por el monocromador) se detecta con una fotocelda y el fotomultiplicador envía la señal amplificada al detector. La cantidad de radiación absorbida depende de la población de átomos en estado normal la cual a su vez es proporcional a la concentración de la solución rociada en la flama [40].



Esquema II.1. Proceso de atomización. La muestra en solución es esparcida hacia la flama que se encuentra en la senda de la luz del espectrofotómetro. En la flama las partículas se descomponen y forman átomos gaseosos metálicos

[ 2 ].

La utilidad de la absorción de radiación para fines de análisis cuantitativo se conocía muchos años antes de que el proceso de absorción fuera totalmente entendido.

En 1730, Lambert y Bouger postularon la relación entre el poder radiante y el camino que recorre a través de un medio absorbente. En 1852, Beer añade un postulado que concierne a la concentración de material absorbente en el medio. La expresión matemática de estos postulados lleva el nombre de ley de Lambert Bouguer-Beer o simplemente, ley de Beer y es la siguiente:

$$\log \left( \frac{I_0}{I_t} \right) = kcl = A$$

Donde =

A= Absorbancia.

$I_0$ = Intensidad de la radiación incidente.

$I_t$ = Intensidad de la radiación transmitida.

c= Concentración de las especies presentes.

l= Distancia del paso de absorción.

k= es la constante de proporcionalidad que depende de las condiciones de trabajo y de la naturaleza de la sustancia; se relaciona con la probabilidad de transición entre dos niveles energéticos e indica la fuerza de la banda de absorción. Se designa por una gran variedad de nombres siendo el de absorptividad el actualmente reconocido.\*

Los métodos de determinación utilizados usualmente en absorción atómica son:

1) Curva de calibración.- Consiste en preparar una serie de disoluciones de concentraciones variadas de manera tal que las absorbancias de las mismas correspondan al intervalo de 0.2 a 0.7 (donde se obtienen valores mínimos de error -

---

\*Cuando la concentración se expresa en moles/lit, k se ab - sortividad molar, se denota por  $\epsilon$  y tiene unidades de mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>. lit.

relativo).

Con un sistema de coordenadas lineales se representa la absorbancia en función de la concentración de las disoluciones (figura II.2a.). La gráfica puede perder sus características de linealidad a determinados valores de absorbancia y, de ser así, el número de disoluciones deberá ser aumentado en esta región.

Con la gráfica obtenida, la concentración de la muestra puede ser calculada por interpolación.

2) Método de adición patrón.- Cuando no es posible eliminar o reproducir las interferencias por completo de los elementos de la matriz o cuando la muestra tiene baja concentración del elemento a determinar, se puede recurrir al método de adición patrón (a condición que la ley de Beer se cumpla en el intervalo de concentración involucrado).

El método se basa en adicionar a la muestra una concentración conocida de esta solución se denotará  $A(x+a)$ .

Por otra parte, se mide la absorbancia del patrón sólo ( $Ax$ ). De esta manera

$$\begin{aligned} Ax &= klcx \\ A(x+a) &= kl(cx+ca) \end{aligned}$$

Y la concentración de la muestra ( $cx$ ) puede ser calculada por la relación siguiente:

$$\left[ \frac{Ax}{A(x+a)} - 1 \right] ca = cx$$

Similarmente, puede prepararse una curva de calibración cuyos estándares contengan también el patrón. La representación de la absorbancia en función de las concentraciones totales (Fig. II.2b) permite determinar la concentración de la muestra cuando se extrapola al eje de las Xs.

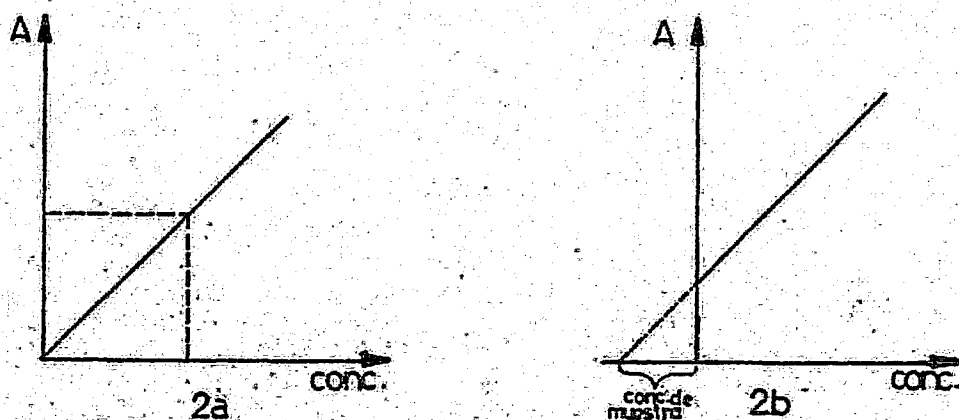


Figura II.2a Gráfica del método de curva estandar.

2b Gráfica del método de adición patrón.

#### Instrumentación de la absorción atómica.

Un espectrofotómetro de absorción atómica es un sistema - que permite medir la absorbancia para una muestra en particular y relacionarla con la concentración del elemento estudiado.

El equipo básico (figura II.3) consiste de:

- a) Una lámpara de cátodo hueco (ésta se encarga de emitir la radiación electromagnética adecuada para que absorba la muestra).

- b) Celda; compuesta por una cámara de aspersion (sirve para nebulizar la muestra, mezclarla con los gases y atomizarla en la flama).
- c) Monocromador (su función es seleccionar la longitud de onda adecuada a la cual se va a medir el elemento deseado)
- d) Fotomultiplicador (recibe la señal, amplifica la respuesta y la transmite al detector).
- e) Detector (es la parte electrónica que da los valores de absorbancia).

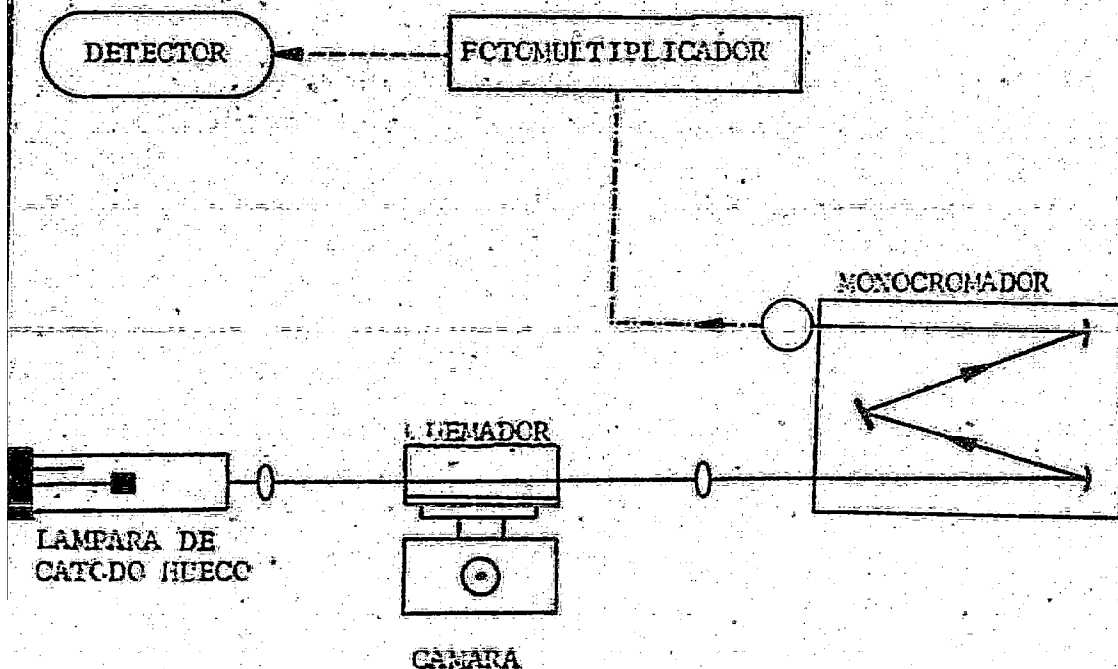


Figura 11 3.- Esquema básico del espectrofotómetro de absorción atómica.

### III. PARTE EXPERIMENTAL.

#### III.1. Materiales.

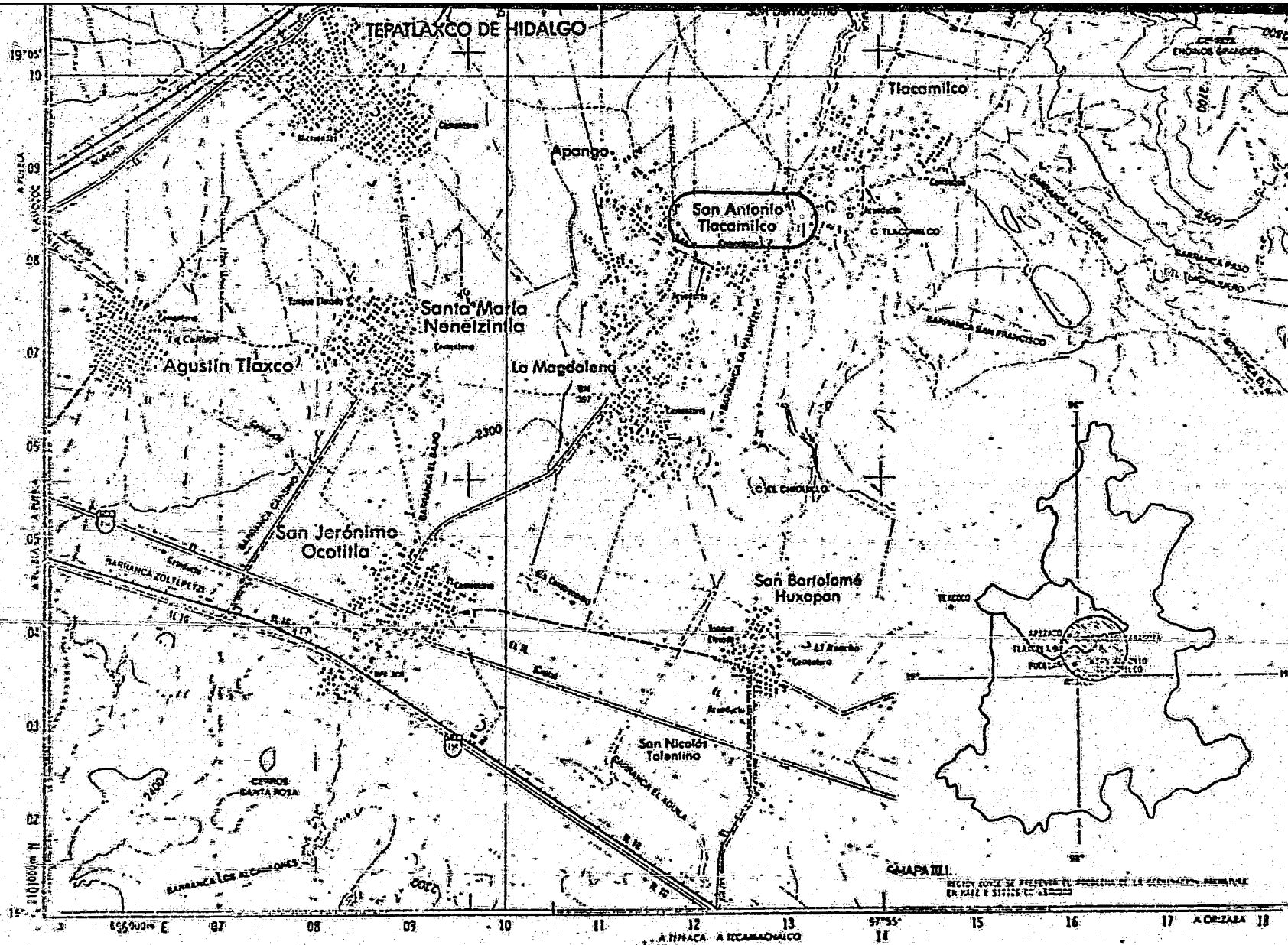
a) Granos de maíz, correspondientes a las cosechas del año de 1982 y a las variedades genéticas H-139, H-32 y criollo local. Se tomaron muestras de los estadios del proceso evolutivo correspondientes a las siguientes etapas:

ETAPA	ESTADO DEL GRANO	ESTADO DEL EMBRION	DIAS DESPUES DE LA FECUND.
I	Lechoso	Inmaduro	21
II	Lechoso-masoso	Apto para germinar	35
III	Madurez comercial	Apto para germinar	100

b) Muestras de suelo de las parcelas donde se sembraron las variedades de maíz H-139, H-32 y criollo local. Las muestras se tomaron el 13 de diciembre de 1982, una vez que la cosecha había sido levantada.

Las mazorcas de maíz y las muestras de suelo fueron colectadas en parcelas situadas en la localidad de San Antonio Tlacamilco, municipio de Acajete, Estado de Puebla, México (Mapa III.1) cuyas coordenadas son (N 19° 04', E 97° 55'). Las mazorcas fueron proporcionadas por el Dr. Joaquín Ortiz C. del Centro de Genética del Colegio de Posgraduados y el muestreo de los suelos formó parte de este trabajo.

c) Matraces volumétricos de 10 ml y material de vidrio de uso común calibrado.





d) Tamiz n° 250 N° 60 (USA. Standar testing sieve A STEM.11 Specification).

e) Papel filtro marca Whatman #3.

f) Agitadores y barras magnéticas.

### III.2. Reactivos.

a) Solución titrisol Merck de 1000 ppm de fierro.

b) Solución titrisol Merck de 1000 ppm de manganeso.

c) Acido clorhídrico Merck (reactivo analítico).

d) Amoniaco líquido Merck (Para análisis).

e) Acido etilendiaminotetraacético, sal tri-potásica (EDTA) Sigma (Grado reactivo).

f) Acido etilendiaminotetraacético, sal di-sódica Harvack chemical (Químicamente puro).

g) Agua desionizada.

h) Solución de EDTA  $5 \times 10^{-2}$  M llevada a pH=6.48 con HCl

i) Solución de EDTA  $5 \times 10^{-2}$  M llevada a pH=10.50 con  $\text{NH}_3$

### III.3. Equipo.

a) Espectrofotómetro de absorción atómica marca Varian modelo AA6.

b) Balanza analítica marca Mettler tipo H15.

c) Estufa marca W.C. Heraeus GMBH, HANAU.

d) Molino marca SPEX Industries Catálogo #8000 (recipiente de tungsteno).

e) Mufla marca Hevi-Duty.

f) Potenciómetro marca Minisis con electrodo combinado de vidrio.

### III.4. Metodología.

#### III.4.1. Muestras de maíz (granos).

a) Para cada estadio, se eligieron 10 mazorcas de cada variedad.\*

b) Se tomaron, al azar, 10 granos de cada mazorca, correspondiente a la parte central de la misma, donde hay más homogeneidad en el estado de madurez del grano. Los granos resultantes se unieron en una muestra única.

c) Se determinó el peso total de los granos y se secaron en una estufa a una temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$ .

d) Una vez que los granos perdieron una gran proporción de humedad, se les trituroó en un molino hasta obtener un tamaño de partícula uniforme, y el producto obtenido se secó en la estufa hasta obtener peso constante.

e) Se tomó un gramo de cada uno de los productos y se calcinó en mufla a una temperatura de  $1000^{\circ}\text{C}$ .

f) Cada una de las muestras calcinadas se disolvió en un ml. de ácido clorhídrico concentrado R.A., se pasó a una matraz volumétrico de 10 ml. previamente calibrado, completando el volumen hasta el aforo con agua desionizada.

g) Se determinaron los elementos a estudiar (fierro y manganeso) por espectroscopía de absorción atómica, empleando se el método de curva estándar para el fierro y el método de adición patrón para el manganeso. (V. Cap. II).

#### III.4.2 Muestras de suelo.

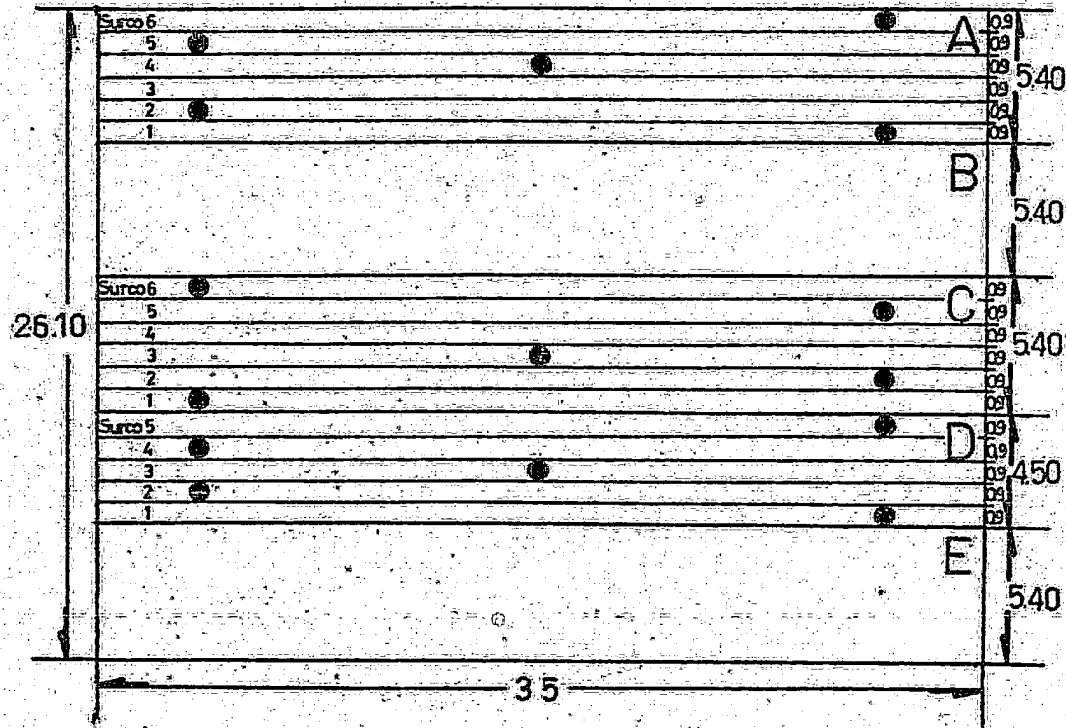
---

\* Una de las determinaciones se realizó con 11 mazorcas.

Para que los resultados fueran estadísticamente representativos se procedió de la siguiente manera:

- a) Seleccionar el número de muestras.
- b) Seleccionar la zona de muestreo de acuerdo al patrón -  
mostrado para cada parcela en la figura III.2.
- c) Localizar la zona en la cual se encuentran las raíces -  
de la planta de maíz (aproximadamente 20 cm.) y tomar las  
muestras de suelo a esta profundidad.
- d) Guardar las muestras de suelo en bolsas de polietileno -  
(para evitar alteraciones en el pH).
- e) Tamizar las muestras de suelo para obtener un tamaño de  
partícula uniforme (0.25 mm).
- f) Secar las muestras en estufa a una temperatura de 100°C\*
- g) En una suspensión 1:2 tierra-agua según 11, manteniend  
do con una agitación constante durante treinta minutos, de  
terminar el pH potenciométricamente.
- h) Determinar en una suspensión 1:2 tierra-solución EDTA, -  
el tiempo requerido para que la extracción se lleve al --  
100%. Para esto, se tomaron a intervalos variables, alicu  
tas de solución sobrenadante y se determinó en ellas el -  
contenido de manganeso y fierro.
- i) Se realizó la extracción de todas las muestras con las

\* A pesar de que la pérdida de sustancias volátiles podría haber modificado el pH del suelo, se comprobó que las modificaciones no eran apreciables ( $\Delta \text{pH}_{\text{máximo}} = 0.29$ )



PARCELA	CULTIVO (Zea mays L.)
A	Variedad H-139
B	Variedad H-30
C	Variedad H-32
D	Variedad Criollo local
E	Variedad Zaragosa

ZONA DE MUESTREO (●)	
LOCALIDAD: SAN ANTONIO TLACAMILCO	
MUNICIPIO: ACAJETE	
ESTADO DE PUEBLA, MEXICO	
ESCALA 1:25	ACOTACION: metros

FIGURA III.2

dos disoluciones de EDTA, previa agitación de la suspensión durante treinta minutos, (Tiempo de extracción determinado en h).

j) Filtrar mecánicamente con papel filtro Whatman del #3 - las suspensiones.

k) Cuantificar el manganeso y fierro en el líquido filtrado, por medio de espectroscopía de absorción atómica empleando el método de curva estandar (V. Cap. II).

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

Los resultados obtenidos en las determinaciones efectuadas en granos de maíz se encuentran resumidos en las tablas (IV.1 y 2).

Los valores estadísticos correspondientes al manganeso -- (promedio de concentración en ppm., desviación estandar y límite de confianza con una confiabilidad del 90%, así como el contenido de humedad para cada genotipo y estadio -- fueron calculados, en la mayoría de los casos, a partir de 10 muestras. Las únicas excepciones en que sólo se contó con 7 muestras corresponden al estado lechoso de las variedades H-32 y criollo local.

Generalmente, el número de determinaciones realizadas para encontrar los correspondientes valores estadísticos para el fierro fué 7; con algunas muestras de las que se tenía poco material se realizaron únicamente 4 determinaciones.

Los datos de concentración de manganeso y de fierro, se encuentran representados esquemáticamente en la figura IV.1 (en forma de histogramas) para cada uno de los procesos evolutivos de las tres variedades.

Al comparar los histogramas de las tres variedades, puede observarse un patrón constante de variación del contenido de manganeso. Inicialmente en los granos de maíz, correspondientes al estadio lechoso, se tiene el máximo valor de concentración de este elemento; en el estado lechoso nasc-

so se observa una disminución de la misma y al llegar a la madurez comercial el contenido de manganeso vuelve a aumentar sin alcanzar el valor inicial.

Puede notarse que la mínima concentración de manganeso corresponde al estadio en la cual debe comenzar la degradación oxidativa (vía enzimática) del AIA.

Estos datos concuerdan con los informados por Stojanovic y colaboradores 35 para granos de maíz híbridos 75-0<sub>2</sub>; en estos datos el contenido de manganeso en granos se incrementa hasta el fin de la madurez fisiológica, desde 5.09 ppm al empezar la madurez lechosa hasta 6.74 ppm. Sin embargo los mismos autores señalan que un incremento en el contenido de manganeso en el suelo incrementa el nivel de manganeso en el grano.

También puede observarse que, la variedad H-139, que en esta ocasión se consideró genotípicamente susceptible a la germinación prematura presenta concentraciones mayores de manganeso en el estadio lechoso que las variedades más resistentes a la germinación (H-32 y criollo local).

En las mismas condiciones de comparación el contenido de fierro en el grano, de las tres variedades estudiadas, no presentó ninguna conducta similar.

Por lo contrario, la relación de concentraciones entre manganeso y fierro es análogo en los tres casos considerados y para cada uno de los estadios. El mayor valor de esta re

lación (en el estadio lechoso) se presenta en la variedad H-139 considerada susceptible a la germinación.

Sin embargo, no es posible establecer ninguna relación entre el contenido de manganeso en las variedades genéticamente resistentes y las susceptibles ya que en la cosecha de 1982 no se presentó el problema de germinación en ninguno.

Cabe señalar al respecto, que la precipitación pluvial en el año fue escasa y que, por tanto, la humedad relativa no fue suficiente ni para el desarrollo normal de la planta.

Por otra parte, en esas condiciones climatológicas el desarrollo del hongo Fusarium moniliforme (que de acuerdo a los trabajos realizados por el Dr. Galindo [9] pudiera ser el agente patógeno de la germinación prematura), se ve muy limitado.

De igual forma, los resultados de concentración de manganeso y fierro en las muestras de suelo (por surco y por parcela donde cada variedad fue sembrada) se muestran en las tablas (IV.4 y 5) que corresponden a la extracción de estos elementos con EDTA a pH de 6.48 y en las tablas (IV. 6 y 7) que se refieren a la extracción de manganeso y fierro con EDTA a pH=10.56.

Los datos de concentración de estos elementos (por surco y por la parcela donde cada variedad fue sembrada), así como la desviación estandar y el límite de confianza con una -



confiabilidad del 90% están reunidos en las tablas y representados gráficamente en forma de histogramas en la figura IV.2.

La información obtenida a partir de las gráficas muestra que la extracción de manganeso con solución de EDTA =  $5 \times 10^{-2}$  M a un valor de pH=6.48, es más cuantitativa que cuando se efectúa con la misma solución pero a pH=10.56.

Contrariamente a lo que nosotros esperábamos, la extracción de manganeso fue más cuantitativa al pH del suelo, que al pH alcalino, este hecho puede quizás ser explicado si se considera que a pH=10.5 se extraen otros elementos (como calcio y magnesio) que se encuentran en concentraciones superiores [7 y 2]; en estas condiciones hay una competencia por la cantidad de reactivo complejante presente y es factible que la cantidad de EDTA añadido no sea suficiente para la extracción cuantitativa de manganeso, sin embargo, es posible establecer una comparación entre los niveles de manganeso obtenidos (al pH del suelo) en este trabajo y los publicados por Ure M. A. y colaboradores [36]. Estos autores consideran que la deficiencia de manganeso en suelos puede esperarse cuando el contenido de manganeso extraíble con EDTA es menor de 50 ppm; sin embargo los mismos autores señalan que muchos suelos ácidos de Escocia con un contenido menor (30 ppm en valor promedio) no muestran deficiencia de este metal en los cultivos.

Variedad de maíz ( <i>Zea mays</i> L.)	H-139			H-32			Criollo local		
ESTADIO	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial
% de humedad	19.73	20.81	5.36	20.65	17.51	7.30	22.14	25.00	6.12
ppm de Fe	26.28	25.51	26.44	36.58	67.78	48.11	31.34	41.65	40.22
Desviación estandar (s)	9.62	11.42	10.89	9.00	31.62	17.00	6.61	25.72	16.69
Límite de con- fianza ( $\mu$ ).t=90%	7.88	6.71	6.56	9.80	15.82	10.00	7.20	12.87	10.06

Tabla IV.1

Variedad de maíz ( <i>Zea mays</i> L.)	H-139			H-32			Criollo local		
ESTADIO	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial
ppm de Mn	3.23	4.27	5.11	6.96	5.18	5.60	6.66	5.07	6.34
Desviación estandar (s)	8.91	2.29	0.95	1.12	3.01	2.87	3.46	2.55	2.85
Límite de con- fianza ( $\mu$ ).t=90%	4.46	1.00	0.52	0.75	1.32	1.34	2.08	1.12	1.25

Tabla IV.2

Variedad de maíz ( <i>Zea mays</i> L.)	H-139			H-32			Criollo local		
ESTADIO	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial	Lechoso	Lechoso masoso	Maduro comercial
Relación de concentración entre Mn y Fe (Mn/Fe).	0.50	0.17	0.19	0.19	0.08	0.12	0.21	0.12	0.16

Tabla IV.3

Tabla IV. Datos de concentración y valores estadísticos para hierro y manganeso, determinados por espectroscopia de absorción atómica en granos de maíz.

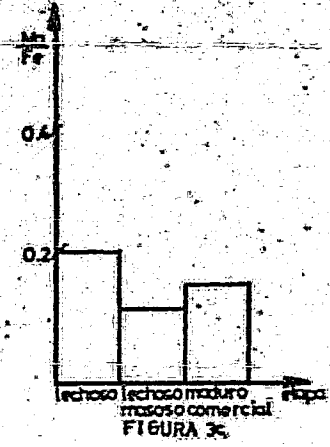
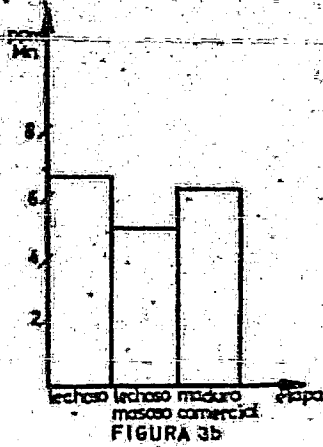
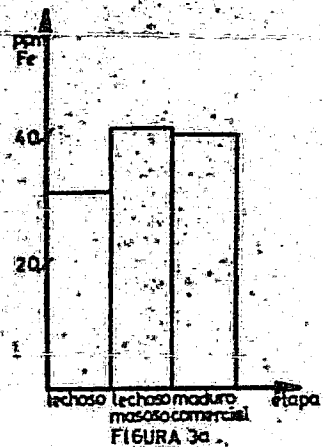
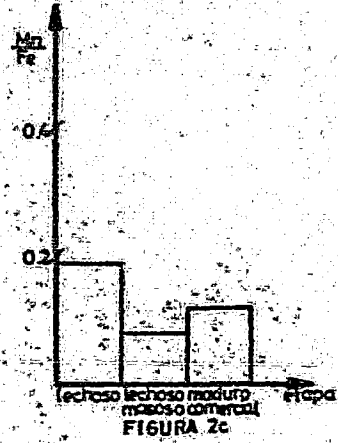
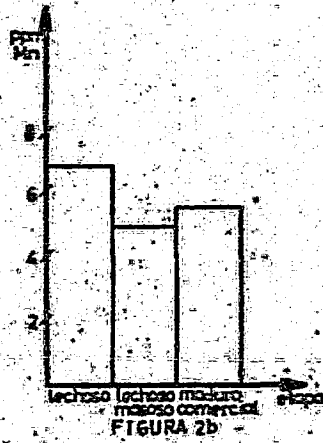
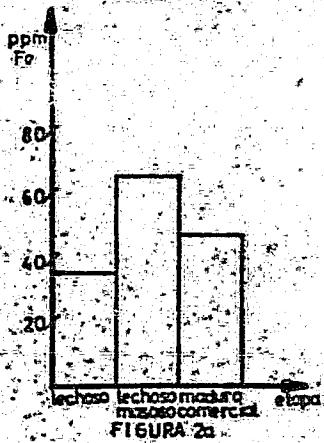
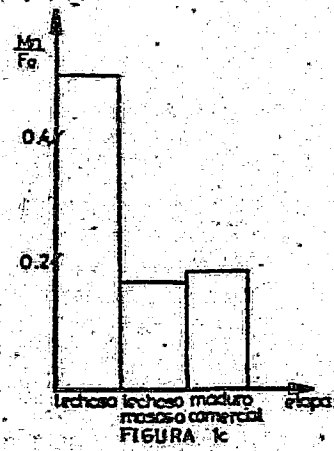
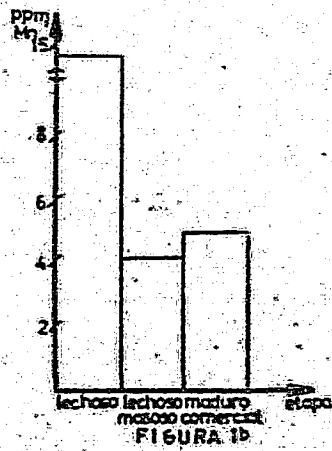
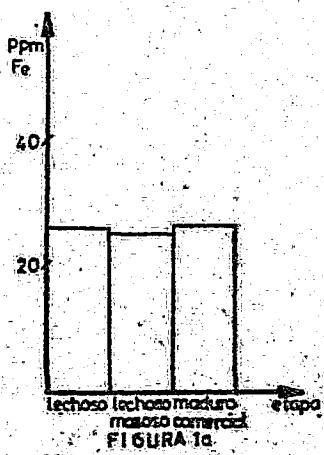


Figura IV.1 Los histogramas (1a-c), (2a-c) y (3a-c) corresponden a las variedades H-139, H-32 y criollo local, respectivamente.

Muestra de suelo	H-139					H-32					Criollo local				
SURCO	1	2	4	5	6	1	2	3	5	6	1	2	3	4	5
ppm de Fe	2.12	1.46	2.10	2.09	2.40	2.28	2.42	2.11	1.85	3.07	2.26	2.60	2.84	2.10	2.92
Desviación estándar(s).	0.405	0.504	0.151	0.370	0.532	0.626	0.714	0.505	0.572	0.378	0.267	0.295	0.70	0.472	0.628
Límite de confianza ( $\mu$ ), t=90%	0.189	0.239	0.070	0.172	0.294	0.292	0.332	0.239	0.266	0.176	0.124	0.137	0.331	0.220	0.292
ppm de Fe	2.03					2.35					2.55				
Desviación estándar(s)	0.346					0.457					0.353				
Límite de confianza ( $\mu$ ), t=90%	0.237					0.313					0.242				

Tabla IV.4

Muestra de suelo	H-139					H-32					Criollo local				
SURCO	1	2	4	5	6	1	2	3	5	6	1	2	3	4	5
ppm de Mn	102	142	174	204	128	198	170	225	136	284	103	217	251	158	212
Desviación estándar(s).	0.102	0.160	0.782	0.259	0.225	0.535	0.370	0.426	0.409	0.423	0.123	0.252	0.339	0.874	0.352
Límite de confianza ( $\mu$ ), t=90%	0.047	0.175	0.171	0.154	0.172	0.322	0.223	0.257	0.246	0.256	0.157	0.152	0.204	0.527	0.212
ppm de Mn	1.50					2.03					1.88				
Desviación de estándar(s).	0.400					0.562					0.581				
Límite de confianza ( $\mu$ ), t=90%	0.274					0.385					0.398				

Tabla IV.5

Las tablas IV.4 y 5 corresponden a los valores de concen - tración para fierro y manganeso extraidos con EDTA a pH = 6.48

Muestra de suelo	H-139					H-32					Criollo local				
SURCO	1	2	4	5	6	1	2	3	5	6	1	2	3	4	5
ppm de Fe	336	1.89	200	234	352	146	210	173	235	161	290	161	234	192	209
Desviación estándar (s)	0.579	0.180	0.243	0.233	0.266	0.166	0.258	0.182	0.544	0.062	0.393	0.197	0.399	0.184	0.219
Límite de confianza ( $\mu$ ), t=90%	0.397	0.123	0.167	0.163	0.464	0.123	0.177	0.125	0.373	0.056	0.269	0.135	0.273	0.126	0.150
ppm de Fe	2.62					1.85					2.17				
Desviación Estándar (s)	0.767					0.366					0.486				
Límite de confianza ( $\mu$ ), t=90%	0.526					0.251					0.333				

Tabla IV.6

Muestra de suelo	H-139					H-32					Criollo local				
SURCO	1	2	4	5	6	1	2	3	5	6	1	2	3	4	5
ppm de Mn	0.580	0.654	0.562	0.710	0.660	0.395	0.710	0.714	0.902	0.545	0.637	0.493	0.570	0.532	0.856
Desviación estándar (s)	0.059	0.087	0.011	0.078	0.055	0.030	0.053	0.064	0.095	0.170	0.031	0.038	0.100	0.059	0.040
Límite de confianza ( $\mu$ ), t=90%	0.040	0.061	0.070	0.052	0.040	0.020	0.047	0.044	0.065	0.117	0.034	0.059	0.069	0.036	0.027
ppm de Mn	0.633					0.633					0.618				
Desviación estándar (s)	0.061					0.162					0.143				
Límite de confianza ( $\mu$ ), t=90%	0.042					0.111					0.098				

Tabla IV.7

Las tablas IV.6 y 7 corresponden a los valores de concentración para hierro y manganeso extraídos con EDTA a pH=10.50

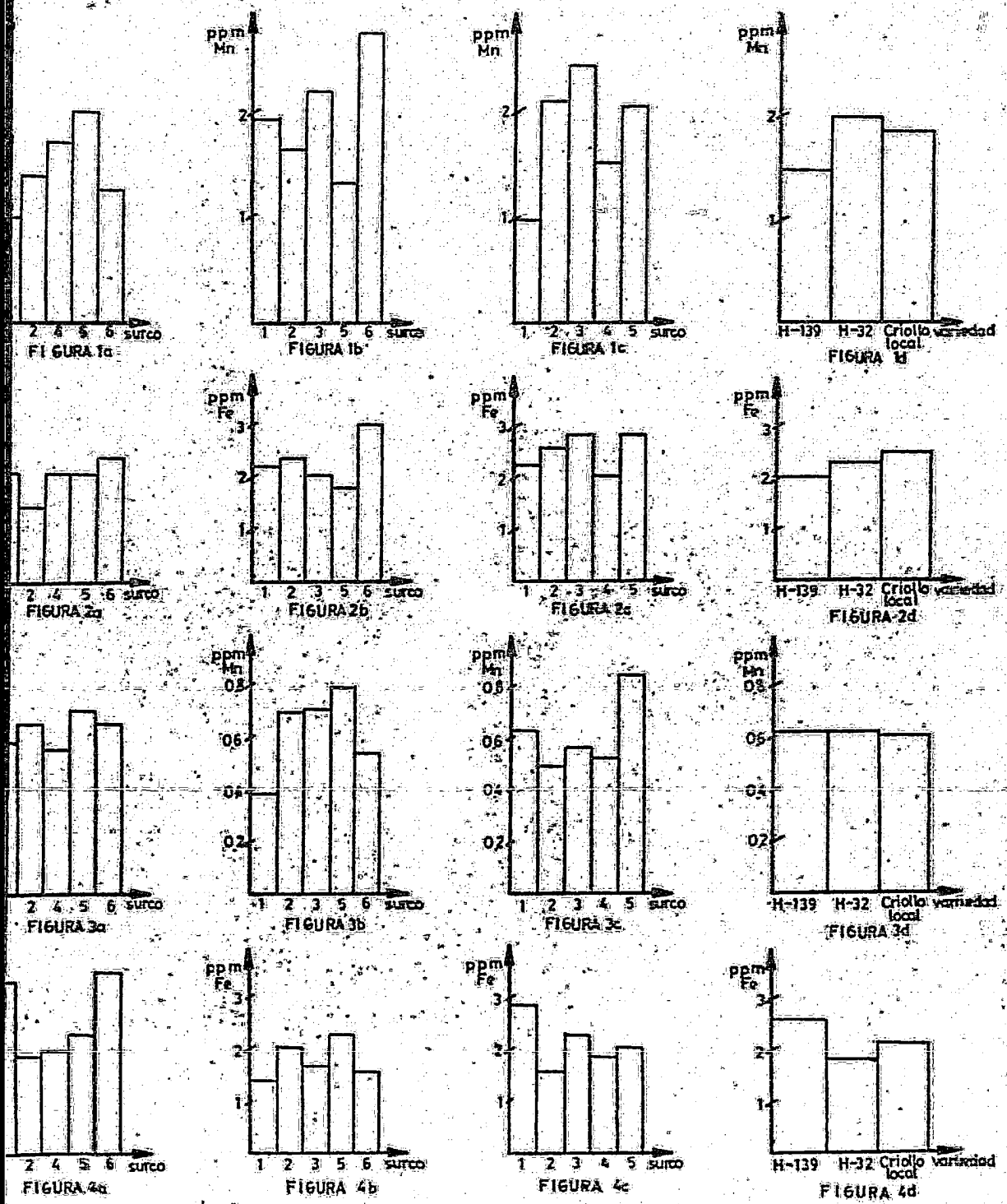


Figura IV.2 Los histogramas a, b y c corresponden a las variedades H-139, H-32 y criollo local respectivamente. Los histogramas 1 y 2 representan la extracción con EDTA a pH= 6.48 y los 3 y 4 la extracción con EDTA a pH=10.5

## V.- CONCLUSIONES.

- Las variaciones en concentración de manganeso permiten sugerir que este elemento está ligado al proceso de evolución de la planta en ciertos estadios que pudieran coincidir con la germinación prematura.
- La extracción del manganeso y del fierro del suelo, para su posterior determinación por espectroscopía de absorción atómica, puede hacerse al pH del suelo utilizando EDTA  $5 \times 10^{-2}$  (esta concentración representa un exceso de reactivo igual a 1667 veces mayor con respecto al manganeso y de 875 veces mayor con respecto al fierro).
- Contrariamente a lo esperado, la extracción del manganeso (II) a pH alcalino y con solución de EDTA del mismo orden de concentración da como resultado valores menores del contenido de manganeso que los obtenidos a pH más ácidos. El hecho puede ser explicado por la competencia de reacciones entre el EDTA y los otros cationes.
- Lo anterior podrá ser confirmado con posteriores determinaciones empleando un exceso de reactivo mayor que el utilizado.
- En base al criterio de Ure M. A. [26], se deduce que los suelos estudiados son deficientes en manganeso (menores de 50 ppm). De este hecho no prede inferirse que la

---

planta deba mostrar señales de deficiencia.

- Como una continuación a este trabajo se propone el estudiar únicamente la variación del contenido de manganeso en granos germinados y no germinados.
- Se propone también el estudio del contenido de manganeso en los suelos, antes de ser iniciados los cultivos.
- Otra forma de enfocar el problema de germinación prematura pudiera ser también el realizar experiencias en invernaderos a fin de controlar el mayor número de variables.  
(V. Cap. I).



## VI.- APÉNDICE.

## APÉNDICE A) TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

El tratamiento estadístico aplicado a las muestras fue el siguiente:

- Media aritmética o promedio ( $\bar{x}$ ) la suma de un conjunto de valores divididos entre el número de estos.

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

- Desviación estándar (s) la raíz cuadrada del promedio de los cuadrados de la desviación de observaciones individuales de una media aritmética.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

- Intervalo de confianza ( $\mu$ ) el intervalo dentro del cual se puede decir que se encuentra en un parámetro que se está estimando, con determinado grado de probabilidad.

$$\mu = \frac{s \cdot t \text{ student}}{n}$$

- Análisis de regresión.- Un método para establecer la relación entre dos variables, donde la variación de una medida es considerada, mientras que la otra es mantenida fija. Esta relación puede ser lineal o no lineal, las fórmulas utilizadas son:

$$a = \frac{\bar{xy} - \bar{x}\bar{y}}{\bar{x}^2 - (\bar{x})^2} \quad b = \bar{y} - a\bar{x}$$

donde: a=representa la pendiente de la recta de regresión.

b=la ordenada al origen de la recta de regresión.

$\bar{x}$ =la media de la sustancia absorbentes.

$\bar{y}$ =media de la absorbancia.

$\bar{xy}$ =media de la concentración de la sustancia absorbente por la lectura de absorbancia correspondiente.

$\bar{x}^2$ =media de los cuadrados de x.

- Coeficiente de determinación ( $r^2$ ) es una medida característica de la calidad de una regresión. Mientras más se aproxima  $r^2$  a la unidad, mejor es la regresión.

$$r^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

donde: a= pendiente de la recta de regresión.

x= los valores de concentración.

y= los valores de absorbancia.

$\bar{x}$ = el promedio de los valores de concentración.

$\bar{y}$ = el promedio de los valores de absorbancia.

- Dato aberrante. Es el criterio estadístico que indica si la observación más grande o más pequeña está significativamente distante al grueso de los datos o no.

Para su determinación se empleó el método de Dixon, que -

consiste en arreglar los datos en un orden de incremento ( $x_1 < x_2 < x_3 \dots x_{n-1} < x_n$ ). Se emplea la fórmula de acuerdo a  $n$  (donde  $n$  es el tamaño de la muestra).

Si:  $3 \leq n \leq 7$   $r_{10}$   
 $8 \leq n \leq 10$  emplear la fórmula  $r_{11}$   
 $11 \leq n \leq 13$   $r_{21}$   
 $14 \leq n \leq 25$   $r_{22}$

si  $x_n$  es el valor sospechoso si  $x_1$  es el valor sospechoso

$$r_{ij} = \frac{(x_n - x_{n-1})}{(x_n - x_1)} \quad \frac{(x_2 - x_1)}{(x_n - x_1)}$$

$$r_{10} = \frac{(x_n - x_{n-1})}{(x_n - x_{n-2})} \quad \frac{(x_2 - x_1)}{(x_n - x_1)}$$

$$r_{21} = \frac{(x_n - x_{n-2})}{(x_n - x_2)} \quad \frac{(x_3 - x_1)}{(x_{n-1} - x_1)}$$

$$r_{22} = \frac{(x_n - x_{n-2})}{(x_n - x_3)} \quad \frac{(x_3 - x_1)}{(x_{n-2} - x_1)}$$

Si  $r_{ij} > r_{\alpha/2}$ , se rechaza la observación sospechosa con  $(1 - \alpha)$  por ciento de confianza. Los valores de  $r_{\alpha/2}$  se obtienen en las tablas de criterio para rechazar las observaciones sospechosas.

#### APENDICE B) CALIBRACION DE MATERIAL.

EL material volumétrico se calibra generalmente por pesada de la cantidad de agua pura que contiene a una temperatura determinada.

Conociendo la densidad (a la temperatura de trabajo y a la presión de la Ciudad de México que es de 585 mm de Hg) y la masa, contenida en el material por calibrar, obtenemos el volumen real empleando la siguiente ecuación:

Volumen masa  
densidad

Se compara el límite de error de nuestro material calibrado con el informado en tablas, para ver si éste está dentro de especificaciones.

APENDICE C) VARIEDADES SUCEPTIBLES Y RESISTENTES A LA  
GERMINACION PPEMATURA.

En la localidad de San Antonio Tlacamilco (que se ubica en las faldas del volcán la Malinche) en el año de 1981 se sembraron 31 genotipos específicos para la zona; de acuerdo a la rapidez de germinación las 31 variedades se agruparon en dos experimentos que incluían los genotipos tardíos o intermedios y otros que incluían los precoces.

En la tabla VII.1. se presenta el porcentaje promedio de mazorcas con grano germinado de las variedades de maíz probadas en San Antonio Tlacamilco, Puebla durante 1981.

De acuerdo con los resultados obtenidos en los experimentos se encuentra que la variedad H-139 resultó el genotipo más susceptible a la germinación y las variedades H-137, H-30 y el criollo de San Antonio Tlacamilco se consideraron las más resistentes para el año de 1981.

TABLA VII.1

Experimento	Genotipo	Porcentaje de mazorcas con granos germinados
T - I	H-139	73.85
T - I	*H-28	62.74
T - I	H-137E	56.43
T - I	*VS-22	48.53
T - I	*H -30	47.01
T - I	H -129	44.12
T - I	H -141	38.33
T - I	H -135E	37.90
T - I	H -127	35.57
T - I	H -131	35.10
T - I	H -136E	29.70
T - I	H -138E	25.19
T - I	Criollo Sn Antonio	23.74
T - I	H -24	27.73
T - I	Salvatori	22.13
T - I	H - 125	14.28
T - I	H -133E	14.28
P	*H - 30	15.97
P	636-2	13.93
P	Tlaxcala	10.74
P	*Criollo Sn Antonio	10.83
P	686 - 1	11.38
P	Sta. Ana	11.32
P	657 - 1	10.40
P	565 - 4	9.68
P	657 - 2	9.37
P	*VS - 22	7.59
P	Huamantla	7.71
P	*H - 28	7.77
P	646 - 1	6.90
P	686 - 2	6.47
P	565 - 2	4.64
P	650 - 3	2.92
P	650 - 3	2.92
P	H - 32	0.00

TI: Experimento de variedades tardías e intermedias.

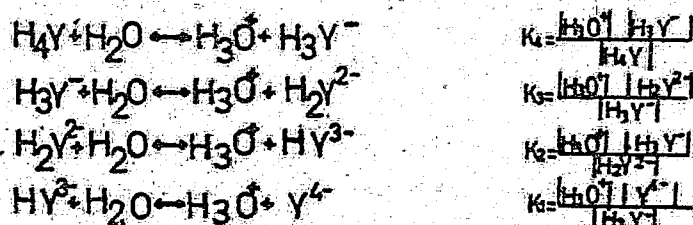
P: Experimento de variedades precoces.

\*: Genotipo incluido en ambos experimentos

#### APÉNDICE D) CONSTANTES CONDICIONALES.

La formación de complejos se ve muchas veces afectada por el pH de la solución, en particular cuando el ligando y/o el catión del complejo tienen propiedades de ácidos o bases débiles.

Tal es el caso del ácido etilendiaminotetracético EDTA representado por  $Y^4$ , cuyos equilibrios ácido-base son:



Y la constante global del equilibrio es:

$$K_{\text{global}} = \frac{[H_3O^+]^4 [Y^{4-}]}{[H_4Y]}$$

Al realizar el balance total de materia a partir de la concentración analítica de EDTA se tiene:

$$CY = [Y^{4-}] + [HY^{3-}] + [H_2Y^{2-}] + [H_3Y^-] + [H_4Y]$$

Y al sustituir las concentraciones de las distintas especies en función de sus constantes de equilibrio se obtiene:

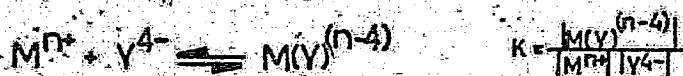
$$CY = Y^{4-} \left[ 1 + \frac{[H_3O^+]}{K_1} + \frac{[H_3O^+]^2}{K_1 K_2} + \frac{[H_3O^+]^3}{K_1 K_2 K_3} + \frac{[H_3O^+]^4}{K_1 K_2 K_3 K_4} \right]$$

La función de pH que se encuentra dentro del parentesis se designa como  $\alpha$ . Por tanto:

$$[Y^{4-}] = \frac{CY}{\alpha}$$

la cual representa la disponibilidad del ligando para propósitos de formación de complejos. Resulta evidente que esta disponibilidad será función de la magnitud de  $\alpha$ , la cual a su vez es función de  $[H^+]$  y que cuanto mayor sea el valor de  $[H^+]$  tanto menor será la disponibilidad de  $Y^{4-}$ .

Considerérese la reacción de formación de complejos ion metálico ligando 1:1 donde se tiene con la constante de equilibrio:



Al sustituir el valor de  $Y^{4-}$  por  $CY/\alpha$  se tiene:

$$\frac{K}{\alpha} = \frac{[M(Y)^{(n-4)}]}{[M^{n+}]}$$

El valor de  $K/\alpha$ , denominado constante de formación condicional, varía con el pH.

Así, conforme disminuye el pH, aumenta el valor de  $\alpha$  y disminuye el valor de la constante de formación condicional;

La reacción se torna entonces menos cuantitativa. Al aumentar el pH,  $\alpha$  se aproxima a la unidad, y la constante condicional tiende al valor de la constante de estabilidad en esta forma la reacción alcanza un grado de avance dictado por la magnitud de dicha constante.

De esta manera la formación de un complejo en fase homogénea alcanza su máximo valor a pH alcalino.

Sin embargo, cuando los cationes dan lugar a la formación de hidróxidos inestables se tiene un equilibrio heterogéneo en la que compiten dos constantes. Como por ejemplo el caso de Fe (III), cuyo equilibrio en disolución será:



$$K_{\text{global}} = \frac{K_{\text{SOLUBILIDAD}}}{K_{\text{COMPLEJACION}}}$$



## VII. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Abramovitch, R.A. and Ahred, I.L. (1961). Oxidative - Descarboxylation of Indol-3-acetic acid by Mangani - Versene and by Wheat Leaf Enzyme. Nature 192:259-260.
- 2.- Allan, J.E. (1971). The preparation of agricultural - samples for analysis by atomic absorption spectroscopy. Varian Techtron Pty Ltd, Springvale Australia. p. 1-14.
- 3.- Bohn, R.L. (1970). Comparisons of Measured and Theoretical  $Mn^{2+}$  Concentrations in Soil Suspensions. Soil - Sci. Soc. Amer. Proc. 14:195-197.
- 4.- Bornemisza, E. (1983). Introducción a la química de - suelos. Monografía #25. Editado por OEA. Washington, - D. C.
- 5.- Collins, J. F. and Buol, S.W. (1970) Effects of fluctu - ations in the Eh-pH environment on iron and/or man - ganese equilibria. Soil Science 110 (2):111-119.
- 6.- Cottenie, A., Keng, B.T., Nickens, I. and Sajjanongee A. (1981). Micronutrient status. In Characterization - and management for crop production example from some - areas of the humid tropics. (ed. Greenland, D. J., - pp. 149-63. Ed. Clarendon Press, Oxford U. K.)
- 7.- Dosal Gómez M.A. y Saldivar de Pueda L. (1983). Deter - minación de elementos menores en grano y hojas de --

- maíz y su relación con la germinación prematura. Informe de actividades. Convenio de colaboración académica Colegio de Posgraduados (Chapingo)-INIA pp.13-18
- 8.- Félix, G.R. (1981). Germinación prematura del maíz en México Tesis de Maestría en Ciencias (Fitopatología). Colegio de Posgraduados, Chapingo, Méx.
- 9.- Galindo Am'S. Romero (1982) Fusarium moniliforme as the cause of Pre-Harvert Sprouting of Maize in México In Third International Symposium on Pre-Harvert Sprouting in Cereals. (Ed. James E. Kruger and D. E. Laberge). Westview Press USA. pp 213-217.
- 10.- Hinman R.L. And Lang J. (1965). Peroxidase - catalyzed Oxidation of Indole -3- acetic Acid. Biochemistry 4(1):144-158.
- 11.- Jackson, M.L. (1967). Análisis Químico del suelo. Ed. Omega. Tercera edición. Barcelona España pp.67-90
- 12.- Lee, T.T. (1980). Effects of phenolic substances on metabolism of exogenous indole -3- acetic acid in maize stem. - Physic. Plant. 50:107-112.
- 13.- Jann, R.C. and Amen R.D. (1977). What is germination? In The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. (Ed. Khan A.A.) Elsevier/ North Holland Biomedical Press, Amsterdam, The Netherlands.

- 14.- Lee, T.T., Starratt N.A., Jevniker J.J. and Stoesst A. (1980). New phenolic inhibitors of the peroxidase catalysed oxidation of indol -3- acetic acid. *Phytochemistry* 19: 2277-2280.
- 15.- Lee, T.T., Starratt, N.A., and Jevnikar J.J. (1982). Regulation of enzymic oxidation of indol -3- acetic acid by phenols: structure-activity relationship. *Phytochemistry* 21(3):517-523.
- 16.- Laclachlan, G.A. and Waygood, E.R. (1956). Kinetics of the enzymically-catalyzed oxidation of indolacetic acid. *Canad. J. Biochem.*, 34(54):1233-1250.
- 17.- Martell, A.E. and Khan, T. (1973). Metal ion catalysis of reaction of molecular oxygen. In *Inorganic Biochemistry* (Ed. Gunther L. Eichhorn) pp.654-670. Elsevier Scientific Publishing USA.
- 18.- Mayer, A.N. and Poljaloff-Mayber, A. (1975). The germination of seeds. 2<sup>st</sup> ed., Pergamon Press, U.S.A. pp. 72-75.
- 19.- Miller, E.V. (1967). *Fisiología Vegetal*. Editorial LITSA México. pp.205-211.
- 20.- Moore, C.T. (1979). *Biochemistry and Physiology of Plant Hormones*. Ed. Springer Verlag. New York USA pp 48-50.
- 21.- Norris, S. (1978). *Absorption Spectroscopy*. Ed. -

John Wiley & Sons. USA.

- 22.- Kervell, J.A. and Lindsay, W.L. (1966). Reactions of EDTA complexes of Fe, Zn, Mn, and Cu with soil. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 33:86-91
- 23.- Ortiz Cereceres, J. (1973). Algunos aspectos agronómicos y genotécnicos de la germinación prematura del maíz. Informe de actividades. Convenio de colaboración académicas Colegio de Posgraduados (Chancingo) - UNAM pp.19-30.
- 24.- Ortiz Delgado, M.L. Carbohydrates and Germination Inhibitors During Corn Seed Maturation and Germination In Third International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals. (Ed. James E. Kruger and D. E. Laberge) W. Westview Press. USA pp.181-187.
- 25.- Pawluk, S. (1967). Soil analysis by atomic absorption spectrophotometry. Atomic Absorption Newsletter 6:53-56.
- 26.- Pinta, M. (1971). Spectrometrie D'Absorption Atomique Tome I, II. Masson et C<sup>ie</sup>, Editeurs. Paris France.
- 27.- Frirc, Y.E. y Carrasco B.M. (1973). Química Agrícola (3 vols.) Ed. Alhambra, Madrid España. pp.49-53, 220-235, 254-261 y 358-363.
- 28.- Fay, P.M. (1960). The destruction of indolacetic acid

III. Relationships between peroxidase action and in  
cel acetate acid oxidation. Arch. Biochem. Biophys.  
17:19-30.

- 29.- Ringbom, A.J. (1979). Formación de complejos en Química Analítica Ed. Alhambra. España.
- 30.- Routchenko, W., (1967). Appréciation des conditions de la nutrition minérale des plantes basés sur l'analyse des sucs extraits des tissus conducteurs. Ann. Agron. 18(4):361-402.
- 31.- Routchenko, W. et. Soyer, J.P. (1971). Sur les causes de la germination sur plante des grains immatures de maïs. Résultats préliminaires. Ann. Agron. 22 (2):241-255.
- 32.- Rotchenko, W. et Soyer, J.P. (1972). Causes de la germination sur plante de grains immatures de maïs. Données complémentaires. Ann. Agron. 23(4):445-459.
- 33.- Salisbury, F.B. et Ross, C.W. (1978). Plant Physiology Wadsworth Publishing Company, Belmont California - USA p. 64-92
- 34.- Saunders B.C. (1973). Peroxidases and catalases. In Inorganic Biochemistry (Ed. Gunther I. Eichhorn) pp 1014. Elsevier Scientific Publishing USA.
- 35.- Schneider, E.A. and Wighman, F. (1974). Metabolism of auxin in higher plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 25:487-513.

36.- Schneider, E.A. and Wightman F. (1978)/

In Phytohormones and related compounds: A Comprehensive treatise. V.I. (Ed. D.S. Letham, P.B. Goodwin and T.J.V. Higgins) pp.29-105. Elsevier/North Holland Biomedical Press. Amsterdam, The Netherlands.

37.- Stojanovic, D., Durdevic, M. and Vuckovic, M. (1981)

Study of the dynamics of zinc and manganese deposition in the grain of opaque 75-0<sub>2</sub> hybrid maize. Arh. Poljopr. Nauke. 42(145):23-29. C.A. 95:217759a.

38.- Ure, A.M. and Berrow, M.L. (1970). Analysis of EDTA

absorption spectrophotometry with a mechanically separated flame. Analytica Chimica Acta 52:247-257.

39.- Viets Jr., F.G. and Lindsay, M.L. (1973). Testing

soil for zinc, copper, manganese and iron. In soil testing and plant analysis (ed. L.M. Walsh and J. D. Beaton), pp.153-72 Soil Science Society of America,

Madison Wisconsin USA.

40.- Willard, H.H., Merritt, L.L. y Dean, J.A. (1980).

Métodos instrumentales de análisis. Compañía editorial Continental, S.A. México D. F. pp. 383-422.