

EL 2, 3, 5-TRIFENIL, CLORURO TETRASODICO EN LA DETERMINACION DE LA GERMINABILIDAD DE LAS SEMILLAS

DANIEL MESA BERNAL

INTRODUCCION

Los fisiólogos interesados en semillas vienen buscando, desde hace muchos años, un método sencillo para conocer, rápidamente, el porcentaje de germinación.

El sistema empleado hasta el presente es el de germinación, el cual, aunque preciso, tiene el inconveniente de ser muy lento, especialmente cuando se trata de semillas cuyo período de latencia es largo; con esta clase de semillas es difícil averiguar rápidamente, y con exactitud, cuál es el porcentaje de vitalidad.

Un método que por su rapidez y exactitud permita averiguar, en corto tiempo, el porcentaje de vitalidad de las semillas, tiene que ser, sin duda alguna, de gran utilidad para agricultores e industriales; ya se trate de estudiar semillas con largo período de latencia o semillas cuyo período de germinación es inferior a quince días, como son las de los cereales.

Estos dos aspectos, rapidez y precisión, son muy importantes, pues todo el mundo sabe que muchas veces es necesario conocer, en el término de horas o de dos o tres días, las condiciones de vitalidad de una muestra de semillas; pero es claro que este dato no se puede obtener en uno o dos días, cuando el estudio se hace por el método de germinación.

Estas consideraciones han hecho que muchos hombres de ciencia se dediquen a buscar un sistema que permita determinar las condiciones de las semillas, en un momento dado. Sobre las investigaciones realizadas en este campo de la Biología Vegetal hablaremos en la parte de este trabajo destinada a la Revisión de Literatura.

Sin embargo, antes de entrar en materia, podemos decir que el empleo de sustancias químicas se muestra muy prometedor, especialmente algunas sales que colorean el embrión, debido a la acción reductora de algunos compuestos derivados de la actividad vital del embrión. Entre las sales que han dado mejores resultados, hasta ahora, se encuentran las de selenio y las tetrasódicas. Estas sustancias tienen la propiedad de colorear, únicamente, las células de los tejidos vivos.

Varios investigadores han indicado que las sales tetrasódicas pueden ser reducidas por la acción de algunas enzimas. Recientemente, el empleo de la sal orgánica 2, 3, 5 *Trifenil, Cloruro tetrasódico*, ha despertado mucho interés entre los investigadores de semillas. Este compuesto químico es incoloro,

pero cuando se pone en contacto con tejidos vivos toma un color rojo vivo.

En la mayor parte de los trabajos, adelantados con esta sal, se han usado embriones extraídos de semillas, siguiendo la técnica aconsejada por varios autores, entre ellos Lakon quien ha demostrado, claramente, la conveniencia de usar este producto.

Recientemente, la Bayer de Inglaterra lanzó al mercado esta substancia, con el nombre de Terazol, con la cual se hicieron los trabajos de la presente investigación.

REVISION DE LITERATURA

Como son muchos los trabajos que se han hecho, con el objeto de buscar un sistema que permita deducir rápidamente el porcentaje de vitalidad de una muestra de semillas, en este capítulo sólo se presentan los que parecen de mayor importancia.

Para dar mayor claridad a este trabajo, se han dividido las referencias en varios grupos, de acuerdo con el criterio y orientación de los investigadores. Es obvio que estas referencias se pueden clasificar en otra forma pero, para el objeto de este estudio, parece más conveniente separar los métodos fisiológicos, propiamente dichos, de los sistemas químicos y físicos que se han ideado para comprobar la vitalidad de los embriones. Además, los procedimientos físicos se han clasificado en varios grupos, de acuerdo con la naturaleza de los agentes que se emplean para diferenciar los embriones utilizables de los que no lo son.

Se ha querido destacar algunos aspectos, por ser ellos los que tienen mayor relación con esta investigación; dichos capítulos son los siguientes: apreciación de la vitalidad de las semillas por la actividad respiratoria, por el empleo de varios compuestos químicos y por la actividad o concentración de algunas sustancias orgánicas presentes en las simientes.

1—*Por la apreciación de la actividad respiratoria.*

En 1906 Qvan (93), indicó la relación entre el poder germinativo y la actividad inspiratoria y expiratoria de las semillas.

Se ha observado (14) que la vitalidad puede ser apreciada por dicha función, dado que esta actividad fisiológica es un indicador de la vida.

Dolk y van Slogteren (26) encontraron dificultades para apreciar este índice en bulbos de jacinto enfermos, debido a la acción respiratoria de las bacterias que produjeron la afección.

Leach (68) observó que en las semillas de trigo, cuando están colocadas en condiciones impropias para la germinación, la producción de bióxido de carbono es motivada por los microorganismos presentes en ellas.

Según Milner (78), cuando los granos exceden en humedad, la producción de bióxido de carbono es mayor por la actividad respiratoria de los microorganismos. Milner y Geddes (79) llegaron a idénticos resultados trabajando con soya.

Nabokich (83) llegó a las siguientes conclusiones en frijoles: las semillas desinfectadas y luego humedecidas con agua efectuaron sus intercambios gaseosos a una velocidad 16 a 25 por ciento superior a las que no recibieron este tratamiento.

Fernández (32) en sus trabajos con alverja, halló que en las semillas sometidas a la acción del cloruro mercúrico la respiración decrecía, aparentemente.

Denny (23) empleó diversos procedimientos químicos para desinfectar seis clases de semillas. Comparó estas muestras con los controles y la diferencia en la actividad respiratoria del trigo y del centeno fue un 10 por ciento mayor en las no tratadas, lo cual es muy significativo.

Este sistema es difícil de aplicar en semillas que poseen período latente o de reposo porque muestran muy bajo índice de bióxido de carbono y los microorganismos que crecen en ellas inducen, frecuentemente, a que se haga una apreciación errónea, cuando en realidad la semilla está muerta.

Sin embargo, varios sistemas, como el de Tanashev (101) y en general los que actúan con colorantes, se basan en esta actividad.

2—Con el empleo de sustancias químicas.

La mayoría de estos métodos se basan, esencialmente, en la función de respiración; en la mayor o menor actividad de la permeabilidad de las células (43, 53, 44); y, en algunos casos, en la transparencia del pericarpio.

En 1876 Dimitriewicz (24) empleó sustancias químicas para determinar el poder germinativo de las semillas. Adelantó sus investigaciones sometiendo secciones de granos a la acción del ácido sulfúrico, y así determinó que en las semillas vivas aparecía una coloración rosada de los dos a los cinco minutos y, en cambio, en las muertas se presentaba después de los 15 minutos.

Lessage (71, 72) determinó el porcentaje de germinabilidad de una muestra de *Lepidium sativum*, en el término de cuatro horas, humedeciendo las semillas en ciertas concentraciones de carbonato de potasio. Encontró que cuando se colocan en soluciones de distinto título se produce decoloración si las semillas están muertas, y que, en cambio, este fenómeno no se presenta, o se presenta débilmente cuando ellas están vivas.

Hibbard y sus colaboradores (54, 55) refieren que al emplear una solución débil de permanganato de potasio, ésta se decolora en proporción al número de semillas muertas.

Neljubow (86) ensayó varios teñidores orgánicos—anilinas— para determinar la vitalidad. Dichas sustancias no penetran en el tejido vivo, pero lo hacen fácilmente en el muerto. Es muy conocido el hecho de que las soluciones penetran en las células muertas, en cambio las vivas son poco permeables, por lo tanto la penetración es mayor en el primer caso. Neljubow encontró que una solución de carmín de Indigo fue la mejor, en la proporción de 1:2.000.

Sakata (95) llegó a obtener idénticos resultados humedeciendo por largo tiempo algunas semillas en el mismo colorante. Dentro de este grupo han sido muy estudiados: el carmín de Indigo y el azul de metileno (57, 103, 106). La relación entre el grado de teñimiento y la germinabilidad debe ser estudiada para cada especie (80).

Gurewitsch y Weise (49, 112) emplearon las sustancias denominadas para y orto dinitrobenceno con el fin de obtener el porcentaje de vitalidad. Enders (31) recomienda dicho método. Este sistema se basa en la actividad respiratoria de las células, mediante la cual se reducen los compuestos químicos, dando una coloración característica en presencia de amonio.

De acuerdo con Seheurlen (citado por Eidmann 29), la bacteria Anthrax, reduce los compuestos de telurio y selenio, lo cual es fácilmente identificable por su color.

Klett (citado por Eidmann 29) indicó que la rapidez de la reducción de tales sales aumenta con la vitalidad de las bacterias.

Sakata (95) y Hasegawa (53) informaron que obtuvieron resultados satisfactorios al investigar dichas sustancias con semillas de pino japonés, cedro y ciperus.

Han sido muy estudiados los compuestos de selenio y otras sales incoloras, las cuales toman una coloración característica, cuando son reducidas por acción de los tejidos vivos (7, 43, 59, 94, 109).

Eidmann (30) prefirió entre varias sales las de selenio. Hao (50) encontró que la reacción del selenio depende de varios factores como son la actividad respiratoria, la temperatura y el azufre contenido en las semillas.

Lakon (63) y otros (28, 81) escriben sobre el uso de las sustancias de selenio y telurio en solución, para determinar la germinabilidad de las semillas, por la coloración del embrión.

Kuhn y Jerchel (61) analizaron la reducción de varias sales tetrasódicas por acción de los tejidos. Colocaron las semillas de *Lepidium sativum*, sobre papel de filtro húmedo con soluciones al uno por ciento de sales de 5 metil y 5 hedeyl 2, 3, difenil. La germinación fue normal pero las hojas y otras partes de la plántula nacieron coloreadas de rojo.

Lakon (64) en 1942, comparó los resultados que obtuvo con semillas germinadas de avena, trigo, cebada, centeno y maíz y las tratadas con una solución de 2, 3, 5 trifenil cloruro tetrasódico. Anotó que para teñirse los embriones de trigo, centeno y cebada necesitaron 8 horas y que los de avena requirieron 24 horas.

En la investigación que adelantó con embriones de maíz (65) encontró que fue necesario un período de 24 horas para que colorearan y, por lo tanto, para ser examinados. La técnica que empleó antes del teñimiento fue la siguiente: colocó las semillas durante 18 horas en agua con el fin de humedecerlas, después las cortó longitudinalmente en dos mitades y finalmente quitó la superficie hasta obtener el embrión.

Goodsell (46) indicó que el tetrasodio puede ser satisfactorio para apreciar, en las semillas de maíz, los daños mínimos motivados por las heladas.

Bennett y Loomis (6), en sus trabajos con semillas de maíz afectadas por la acción de las bajas temperaturas, hallaron que las semillas tratadas con 2, 3, 5 trifenil, dieron mayor porcentaje de vigor que los controles y que, por lo tanto, el método no es recomendable.

Lakon (64, 65, 66, 67) para determinar la germinabilidad se basa en la reducción del cloruro tetrasódico por acción de la actividad respiratoria del embrión. Este compuesto es incoloro pero cuando es reducido (hidrogenado), por acción de la actividad respiratoria, tiñe gradualmente las células vivas, con una coloración rojo carmín. Por tal motivo es un indicador de la actividad respiratoria en el cual los radicales hidrógeno son transferidos al cloruro tetrasódico. Las dos sales tiñen de rojo carmín a los tejidos específicos y la coloración es estable y no difusible. El teñimiento de las células por el cloruro tetrasódico, es un indicador definido de la germinabilidad porque las células necróticas permanecen incoloras.

En 1945 Lakon suministró la información a Porter et al. (92), de Iowa Agricultural Experiment Station, para que adelantaran investigaciones con la sustancia obtenida por el cuerpo de Chemical Warfare Service de Alemania; las conclusiones a que llegaron fueron en algunos casos satisfactorias. En otros trabajos se les presentaron dificultades para extraer el embrión, por lo cual les fue imposible determinar las simientes anormales y, por lo tanto, no lo encontraron exacto en varios aspectos.

Forward (40) trabajó con semillas de varios cereales. En avena halló mejores resultados cuando fueron humedecidas durante 24 horas en soluciones al uno y dos por ciento de 2, 3, 5 trifenil, cloruro tetrasódico. Observó que la avena sin cáscara coloreó inmediatamente.

Shuel (97) en sus investigaciones usó granos de avena y cebada e indicó que la rapidez en el teñimiento es igual en semillas con cáscara o sin ella.

Los resultados que obtuvo en trigo fueron satisfactorios en las frescas, pero en las viejas la relación fue menos exacta debido a la gran diversidad de coloraciones, pues éstas variaban de rosado claro a carmín. Además, no encontró relación entre la coloración pálida y un desarrollo pobre.

Cottrell (10) trabajó con granos de cereales y de alverja. Los resultados obtenidos con el tetrasódico fueron satisfactorios. Dice que el grado de teñimiento está asociado con la germinación y que, por lo tanto, los casos de anormalidad y latencia pueden ser asociados.

Muller (82) empleó el 2, 3, 5 trifenil, con simientes pertenecientes a varios géneros de plantas y encontró que las de *Agrostemma* y *Lepidium* nacieron después de haber sido tratadas con soluciones de uno al dos por ciento de dicha sustancia y que las de *Triticum* no brotaron.

Nadvornik (84) examinó con las sales 2, 3, 5 trifenil cloruro tetrasódico y 2, 3 difenil, 5 metil cloruro tetrasódico varias clases de semillas de árboles y arbustos, y encontró buena relación con los controles.

Franck (41) utilizó el tetrasodio y otras sales para determinar la germinabilidad de varias clases de semillas.

Waugh (111) analizó los tallos de varios árboles y arbustos con el 2, 3, 5 trifenil; concluyó que la acción respiratoria de los tejidos animales y vegetales lo reducen.

Kuhn y Jerchel (61) examinaron con el 2, 3, 5 trifenil varias bacterias y fermentos.

Mattson et al. (76) emplearon el 2, 3, 5 trifenil, para estudiar diversas partes de la flor, fruto, etc. y en varios trabajos relacionados con células animales como la esperma del toro y el blastodermo de huevos de gallina.

Varias sustancias sirven como agentes reductores de las sales tetrasódicas, tales son: el polvo de zinc (61) algunos aceites (28) y las enzimas, posiblemente las dehidrogenasas (76).

Es bien conocido el concepto de Wieland sobre el proceso que envuelve la célula viva, de desprender y aceptar hidrógeno, el cual es reducido. Thumberg (102) dio a este grupo de enzimas el nombre de dehidrogenasas. Dichas sustancias determinan oxidaciones por dehidrogenación del sustrato (52).

Thumberg analizó un buen número de semillas para determinar la habilidad de los extractos para reducir (dehidrogenar) varias sustancias y encontró que muchas semillas los contienen.

La dehidrogenasa ha sido descubierta por Basu y Damodaran (16, 4, 5) en semillas germinadas. También se ha encontrado en las de cereales (60, 100, 48), en semillas secas de legumbres (25, 58) y en muchas otras (102). En las semillas húmedas esta sustancia es más sensible a la temperatura que en las secas (62, 70).

Flemion y Pool (39) sugieren que es interesante si el tetrasodio sirve para determinar la dehidro-

genasa en las semillas e indican además que no sería sorprendente si dicha sustancia no sirve para determinar el nacimiento de toda clase de semillas, dado que la constitución química de ellas es muy diferente.

Dufrenoy y Pratt (28) indicaron que en los tallos de la caña de azúcar la reducción de este compuesto generalmente coincide con la localización de gotas de aceite.

3—Con el empleo de agentes plasmolíticos

Doroschenko (27) y otros (72, 91) utilizaron el método plasmolítico para determinar el poder germinativo de las semillas.

4—Por la actividad o concentración de sustancias orgánicas.

Niethammer (90, 91) encontró que existe relación entre el contenido de azúcar y la bondad de las semillas.

Davidson y otros (18, 19, 2, 70, 90, 88, 77, 98, 47, 69, 8) han estudiado la actividad de las enzimas en relación con la aparición de brotes; entre dichas sustancias se han hecho estudios especialmente con la catalasa, pirovidasa, amilasa y fenolasa.

Nemec y Duchon (88, 89) en 1921 y Davis (21) concluyeron que la bondad puede ser determinada por la cantidad de catalasa presente en ellas. Se ha indicado (88, 89) que la relación catalasa en semillas muertas y vivas, sirve para determinar su vitalidad.

Según Crocker y Harrington (12) no hay relación entre la actividad de la catalasa y el vigor de las semillas de *Amaranthus* y *Johnson grass* (*Sorghum halepensis* L.). Consideran que dicha sustancia no es necesariamente destruida con la pérdida de la germinabilidad y que a veces permanece intacta por muchos años después de que la semilla ha muerto.

Vilmorin (108) comenta que es difícil conocer el porcentaje de brotación de las simientes por la cantidad de catalasa, debido a que esta sustancia se conserva en las muertas.

De acuerdo con Davis (21, 22) en diversas variedades de lechuga (*Lactuca sativa* L.) la relación catalasa y vitalidad no es un índice seguro de germinabilidad, debido a que en los granos muertos frecuentemente la cantidad de dicha enzima es tan alta que indica un regular nacimiento. Además refiere que al someter las semillas en agua tibia o sea a una temperatura que no afecte el embrión, la catalasa de las muertas decrece rápidamente y aumenta en las vivas, con lo cual se obtienen muy buenos resultados para su determinación. Otros, en cambio (12, 85), opinan que no es correcto por la dificultad anotada.

Mar (75) ha demostrado que la actividad de la amilasa en la avena humedecida está en relación definida con su vigor.

Varios (45, 56, 107) consideran muy posible que la vitalidad esté en proporción con el número de ácidos grasos.

Liang (73) ha sugerido que el valor interno del pH es un factor importante en la vitalidad.

5—Con las aplicaciones de corriente eléctrica.

Waller (110) y Fraser (42) advirtieron que el poder germinativo puede ser apreciado mediante una respuesta a la corriente eléctrica, a la cual responden los granos germinables y no los muertos.

Fick y Hibbard (33) encontraron correspondencia entre el paso de la corriente y el vigor de las semillas. El porcentaje de vitalidad es estimado midiendo la disminución de la energía a través del agua destilada donde se encuentran las simientes, ya que el paso de la corriente es proporcional al número de granos muertos.

Nelson y Burr (87) hallaron relación entre la lectura del potencial eléctrico y la germinabilidad en granos de maíz.

6—Por medio de los rayos fluorescentes y ultra violeta.

Según Chiapelli (15) la pérdida del desarrollo en arroz puede ser estimada por observaciones con luz fluorescente.

Linchin y Mercer (74) observaron que las semillas infértiles de rye-grass son detectadas con rayos ultra violeta.

7—Por estimación del calor emanado.

Dersie, Elliot y Pierce (17) concluyeron que el vigor puede ser indicado por la cantidad de calor desarrollado bajo condiciones propias para la germinación. Para calcular la temperatura perfeccionaron los frascos plateados Dewar, los cuales mantuvieron en condiciones adecuadas.

8—Por germinación del embrión extraído.

Este sistema ha sido especialmente recomendado para semillas que poseen período latente. Tukey y Barrett (105) hallaron que si se colocan los embriones en un medio de agar en condiciones esterilizadas el porcentaje de nacimiento en duraznos se obtiene en el término de siete días.

Davidson y Tukey (18, 19, 104, 105) han descrito este método para obtener plántulas de cerezas y embriones de durazno.

Flemion (34, 35, 36, 37, 38) y Barton (3) han señalado que el poder germinativo de las semillas, que poseen período latente, puede ser determinado en un período de cinco a diez días, extrayendo los embriones y colocándolos sobre papel de filtro húmedo en platillos de Petri, a la temperatura del Laboratorio. En muchos casos los brotes fueron poco desarrollados (12, 13, 99). Generalmente se observa un nacimiento débil y que los cotiledones toman una coloración verde (51, 11, 20). Anotan, además, los métodos para obtener los embriones en condiciones satisfactorias. Este sistema para determinar

la vitalidad de las semillas con período latente, es de gran valor pero requiere considerable cuidado.

Afanasiev (1) sugiere que el desarrollo de las semillas de *Magnolia acuminata*, puede ser calculado por la presencia de un pigmento verde que se forma en el endospermo cuando es lastimado y guardado bajo condiciones favorables.

9—Por la gravedad específica.

Clark (9) y Schmorl (96) no encontraron relación satisfactoria entre la gravedad específica y la germinabilidad.

MATERIALES Y METODOS

Las semillas de cereales, con las cuales se hizo este trabajo, fueron facilitadas por la Granja Experimental "Francisco José de Caldas" del Ministerio de Agricultura.

La investigación se limitó a estudios con 2, 3, 5 trifenil, cloruro tetrasódico, el cual se obtuvo con el nombre de Terazol, de la Bayer Products Ltda., de Londres, y fue suministrado por Colinagro Ltda., de Bogotá.

Investigaciones con Trigo, Cebada y Avena

El estudio comprende diversas variedades de dichas plantas, las cuales se anotan en los cuadros correspondientes a los resultados. En total fueron 17 muestras de trigo cosechadas en el año de 1950, y 10 cuya fecha de cultivo se ignora, por haber sido encontradas en los depósitos de la Granja Experimental "Francisco José de Caldas". Según se calculó, estas últimas podían tener unos 15 años. Se investigaron 19 variedades de Cebada y una de Avena —la denominada Marion— las cuales se obtuvieron de los cultivos del mismo año.

Doscientas semillas de cada variedad se sembraron cuidadosamente en arena, con el fin de obtener un índice seguro de germinación.

Con el fin de obtener otro control, se colocaron 200 granos en papel secante húmedo, y se conservaron a la temperatura ambiente de Bogotá. Entre los 7 y 9 días siguientes, se tomó el primer índice de nacimiento, el cual asignamos a las semillas consideradas como vigorosas; un segundo examen se hizo entre los 10 y 15 días y el resultado obtenido se indicó en la columna de simientes tardías.

Los resultados de estos primeros ensayos sirvieron de control para comparar las muestras de granos tratados con 2, 3, 5 trifenil, cloruro tetrasódico.

Los trabajos que se adelantaron con el Terazol, en dichos cereales, consistieron en averiguar si existía relación entre la germinación y la coloración que tomaban las semillas en presencia de este producto.

Dos muestras de 100 semillas enteras, de cada una de las variedades, fueron colocadas en solución de esta substancia. Otras doscientas semillas se partieron longitudinalmente, con cuidado, por el

centro del embrión, y luego se sometieron a la acción del Terazol.

Al partir a lo largo la semilla, por el centro del embrión, se tuvo cuidado de que cada mitad quedara con una parte de la plúmula y la radícula.

Según las indicaciones de Lakon (67), las semillas se humedecieron en agua durante algunas horas, con el fin de ablandarlas para que fuera fácil partirlas, y con el objeto de que se iniciara el proceso de germinación.

Los granos de trigo con que se trabajó permanecieron en estas condiciones durante 16 horas, es decir, de las 5 p. m. a las 9 a. m. del siguiente día.

En el caso de la cebada y de la avena los granos se colocaron en agua corriente de las 4 p. m. hasta las 9 a. m. del día siguiente; esta medida se tomó con el fin anotado anteriormente y para quitarles fácilmente las envolturas.

Generalmente, en el trigo el pericarpio es menos permeable y opaco, lo cual hace que la substancia penetre lentamente y sea difícilmente observable. Basándose en estas consideraciones, recomiendan partir la semilla antes de ser tratada. Sin embargo, como se tuvieron en cuenta las indicaciones de la casa Bayer de Inglaterra, se resolvió averiguar si los granos se colorean sin necesidad de seccionarlos, y si el porcentaje de teñimiento coincide con los controles.

Lakon, dice, que el pericarpio de la avena, por su transparencia, permite hacer tales observaciones, sin necesidad de seccionar el grano. Sin embargo, se partieron longitudinalmente 200 semillas de avena, para ver la facilidad de realizar esta operación, y con el fin de comparar los datos con las semillas que germinaron en la arena y en el papel secante húmedo.

En cebada se realizaron idénticos trabajos, es decir, con semillas enteras y partidas. Los controles se obtuvieron en la forma anotada y con igual número de granos que para el trigo y la avena.

En el primer caso, o sea con las semillas enteras, se hizo el examen después de 24 horas de estar en la solución. Según el grado de coloración se agruparon en fuertes, regular y débilmente teñidas. Los matices correspondientes fueron clasificados así: en el primer caso, púrpuras, rojo-oscuros y rojas; en el segundo grado, rosadas; y en el último, las débilmente teñidas, y las que no colorearon. Dichas agrupaciones se hicieron con el fin de averiguar si existía relación entre el número de semillas tardías en germinar y las débilmente coloreadas.

En el segundo caso, o sea con la mitad de las semillas se anotaron las indicaciones sobre coloración, que se mencionaron para los granos enteros, pero los análisis correspondientes se efectuaron después de que las semillas permanecieron de 3 a 4 horas en la solución de Terazol.

Al tomar las muestras respectivas para los tratamientos, se observó que las simientes estuvieran

enteras, pues las muertas tenían muchos granos quebrados.

Examen en leguminosas

Los métodos empleados con las leguminosas fueron semejantes a los que se siguieron y se han descrito para los cereales, es decir, con simientes enteras y medias. Las semillas en el segundo caso fueron cortadas por entre los cotiledones, y la radícula se biseccionó longitudinalmente.

Las leguminosas tratadas fueron alverjas, frijoles, soya comestible, soya forrajera, habichuelas y lentejas. El número de semillas tratadas fue en todos los casos de doscientas. Las simientes que se cortaron longitudinalmente por el centro, se colocaron en agua desde las 4 p. m. hasta las 8 y 30 a. m. del siguiente día. Luégo se quitó cuidadosamente la cáscara y se partieron por el centro, teniendo cuidado de que una parte quedara en condición satisfactoria para ser tratada.

Examen en semillas de maíz

Para examinar los granos de maíz se siguió el mismo procedimiento que se describió al hablar de las investigaciones en las semillas de trigo y cebada. Es decir, que antes de tratar las simientes con Terazol, se tuvo el cuidado de dejarlas en agua durante algún tiempo, que en este caso fue de 11 horas y media, pues las semillas se pusieron en agua a las 5 de la tarde y se colocaron en la solución de Terazol a las 9:30 de la mañana del día siguiente, después de haber sido seccionadas.

Siguiendo estas indicaciones, se examinaron cinco muestras de maíz, cada una de las cuales estaba compuesta de 200 granos. Lo que da un total de 1.000 granos de maíz tratados con Terazol.

Para controlar los resultados se tomaron 200 granos de maíz, los cuales fueron colocados sobre papel secante húmedo, según se indicó en la parte referente al trigo. En otras palabras, las indicaciones del Terazol fueron controladas por el método de germinación, exactamente como se controló el índice de vitalidad de los embriones de trigo.

Al examinar las semillas se tomó un segundo grupo con el cual se trató de aumentar la precisión del método extrayendo los embriones, con el fin de que el Terazol obrara sobre ellos únicamente.

Para extraer los embriones se colocaron 100 granos de maíz en agua durante once horas y media, siguiendo la técnica aconsejada por Lakon (67).

SISTEMAS GENERALES

El Terazol se empleó a una concentración del 2 por ciento (2 grms. de Terazol en 100 c.c. de agua corriente) de acuerdo con las indicaciones de los fabricantes. Sin embargo, se hicieron otros ensayos con el fin de averiguar si ésta era la mejor concentración. Sobre estos trabajos se dan detalles más adelante.

Siguiendo las recomendaciones de varios autores y de la Bayer, una vez colocados los granos en la solución se guardaron en un lugar oscuro. Fuera de esto, y para seguir las indicaciones de la Bayer, siempre se empleó una solución fresca, de menos de diez días de preparada. En ninguna ocasión se usaron soluciones demasiado recientes, pues el Terazol requiere varias horas para disolverse completamente.

RESULTADOS

INVESTIGACIONES SOBRE LA COLORACION DEL TRIGO, LA CEBADA Y LA AVENA

Respecto a la coloración de las simientes y a su germinación, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

1ª—Se presentaron dificultades al diferenciar los colores, pues es muy difícil indicar exactamente los tonos de los mismos para agrupar las semillas en diferentes grupos, de acuerdo con la intensidad del color.

2ª—Otro obstáculo que se encontró en algunos granos consistió en que la coloración apareció en ciertas zonas del embrión en forma de manchas. Esto se observó especialmente en los granos enteros.

3ª—En las semillas se aprecian, frecuentemente, zonas teñidas en la superficie. Estas manchas superficiales se presentan, especialmente, en los granos sucios, lo cual hace pensar que esas coloraciones localizadas pueden ser debidas a agrupaciones de micro-organismos, que obran sobre el Terazol.

4ª—Cuando las semillas seccionadas permanecen en la solución durante un tiempo más o menos largo, otras zonas diferentes del embrión se colorean, lentamente, y toman un tinte oscuro, con lo cual se hace difícil hacer una separación adecuada según la intensidad del color.

5ª—De los trabajos adelantados, con simientes enteras se deduce que en unos casos la coloración puede apreciarse fácilmente, en tanto que en otros se presenta cierta dificultad. La intensidad de la coloración está asociada a la variedad del trigo. En unas, es fácilmente perceptible, y en otras es poco notoria.

6ª—En los granos que se trataron enteros se observó en algunos una coloración débil, pero al cortar los embriones longitudinalmente se vió que éstos habían sido teñidos normalmente. La dificultad para apreciar el color, en el grano entero, era debida a la opacidad del pericarpio. Para clasificar las semillas enteras siempre es necesario cortarlas longitudinalmente, en los casos dudosos, con el fin de hacer una apreciación correcta de la intensidad del color del embrión.

7ª—Algunas de las semillas, que después de 23 horas no colorearon, se colocaron en papel secante húmedo, para observar si germinaban.

Después de 15 días un 12 por ciento presentaron una radícula bien formada con una longitud de 0.5 hasta 4 centímetros, pero generalmente sólo emitieron ligeros brotes de 3 a 5 milímetros de largo.

8ª—Un centenar de semillas de trigo, con un tinte rosado y rojo intenso fueron colocadas para que germinaran en las mismas condiciones de las muestras anteriores; después de quince días se pudo apreciar que sólo 37 semillas presentaban pequeños alargamientos que variaban entre 2 y 3 milímetros, los cuales correspondieron a los embriones coloreados de rosado.

Se debe indicar que los brotes presentaron, en general, una pigmentación normal; en unos pocos casos se observaron tonos rojizos y rosados, pero ellos fueron desapareciendo a medida que la radícula se desarrollaba.

9ª—Los resultados, expresados en forma de porcentaje, se anotan en los cuadros respectivos. Debido a la heterogeneidad de la germinación en algunas muestras, especialmente en aquellas en donde se encontraron diferencias mayores del 10 por ciento, se repitieron los exámenes hasta obtener índices aproximados, tanto en los controles como en las semillas que se investigaron con Terazol. La solución cubrió siempre toda la simiente. (Ver cuadro página siguiente).

En las variedades de trigo se anota cuáles fueron tratadas y cuáles no. Las primeras, es decir las tratadas, fueron espolvoreadas con azufre durante todo su período vegetativo, con el fin de controlar las tres especies de *Puccinia* prevalentes en la Sabana de Bogotá, y demás zonas cultivadas, (*Puccinia glumarum*, *Puccinia graminis tritici* y *Puccinia rubigo-vera tritici*); las otras no recibieron ninguna aplicación.

OBSERVACIONES GENERALES SOBRE LA SOLUCION

Se hicieron algunas observaciones referentes a las soluciones de Terazol; ellas fueron las siguientes:

1ª—Las soluciones con menos del 2 por ciento (2 gramos de dicho producto, en 100 c.c.) actúan lentamente en la coloración de las semillas. En otras palabras, la intensidad de la coloración disminuye en relación directa con la concentración del Terazol, lo que quiere decir que cuando la concentración es baja el color no pasa del rosado pálido, y aún puede llegar a ser imperceptible. Además, el tiempo de coloración varía en proporción inversa a la concentración de la solución, es decir, que las semillas colocadas en soluciones débiles necesitan mayor tiempo de tratamiento que las colocadas en la solución al 2 por ciento.

2ª—Se pudo observar que la solución empleada en los trabajos (solución al 2 por ciento), cambió de color cuando las semillas permanecieron largo tiempo en contacto con ella, o después de que actuó sobre un gran grupo de semillas; este cambio de

tono variaba entre el rosado pálido y el rojo intenso o púrpura. Al permanecer quieta durante varias horas se nota una sedimentación del mismo color.

PRACTICA ACONSEJABLE EN CEBADA Y EN AVENA

Para poder observar el embrión de las semillas de cebada y avena es necesario quitarles las envolturas florales. Esta operación es difícil cuando las semillas están secas, pero se efectúa fácilmente cuando han permanecido durante varias horas en agua. En estas investigaciones, para facilitar la operación y ganar tiempo, las semillas eran colocadas en agua durante la noche, y preparadas al día siguiente, por la mañana. Una vez despojada la semilla de su envoltura, la coloración y apreciación del embrión es fácil, debido a la transparencia del pericarpio en dichos cereales.

Resultó de fácil operación el cortar longitudinalmente las semillas después de sumergirlas varias horas en agua y luego someterlas a la acción de la substancia, pues así se colorea el embrión en forma rápida y notoria.

ENSAYO CON SEMILLAS MUERTAS

Se trataron 50 granos de diversas variedades de trigo con agua hirviendo, durante algunos minutos, y 25 de ellos fueron sometidos enteros, a la acción de la solución, y los otros se cortaron longitudinalmente, antes de que fueron colocados en la solución de Terazol, durante 24 horas. Los granos enteros permanecieron sin colorearse; en ellos no se apreciaron ni ligeras manchas o sombras. En algunas de las mitades se presentó un tinte rosado muy claro, pero la mayoría no tomaron el color. El ligero matiz que presentaron unas pocas, sirvió en otros casos, como guía para saber si las semillas deberían ser clasificadas como muertas, cuando presentaban dicha coloración.

TRIGOS CON UNOS 15 AÑOS DE COSECHADOS

Se analizaron los granos de 10 variedades de trigo, las cuales tenían unos 15 años de cosechados.

Un centenar de semillas de cada variedad fueron colocadas en papel secante húmedo y se conservaron convenientemente a la temperatura de Bogotá. Otra muestra, con el mismo número de granos enteros, se sometió a la acción de la solución, y un centenar de semillas cortadas longitudinalmente, como se indicó anteriormente, se trataron con una solución de Terazol.

Varias observaciones se hicieron, durante veinte días, en las semillas colocadas en papel secante y en ninguna de las variedades se observó germinación.

Al finalizar la segunda semana muchos granos estaban podridos y un gran número de hongos se encontraban sobre ellos.

**CUADRO COMPARATIVO DE LOS PORCENTAJES DE GERMINACION EN TRIGO
Y EL NUMERO DE SEMILLAS COLOREADAS CON TERAZOL**

VARIETADES DE TRIGO	% DE GERMINACION EN SECANTE				% Total de germinación en arena	% DE SEMILLAS ENTERAS COLOREADAS CON TERAZOL				% DE SEMILLAS MEDIAS COLOREADAS CON TERAZOL			
	Vigorosas	Tardías	Malas	% Total de germinación		Rojas	Rosadas	Blancas	% Total de coloración	Rojas	Rosadas	Blancas	% Total de coloración
Bola Barcino. Ipiates. Sin tratar*.....	80.0	12.5	7.5	92.5	91.0	58.0	22.0	20.0	80.0	83.5	6.0	10.5	89.5
Bola Barcino. Ipiates. Tratadas*	84.5	5.0	10.5	89.5	90.0	53.0	8.5	38.5	61.5	75.0	17.0	8.0	92.0
Bola la Vega. Sin tratar	83.5	7.0	9.5	90.5	90.5	44.5	28.5	27.0	73.0	82.0	8.5	9.5	90.5
Bola la Vega. Tratado	80.0	4.5	15.5	84.5	80.0	58.5	26.0	15.5	84.5	78.0	14.0	8.0	92.0
Bola Pasto. Sin tratar	94.5	2.0	3.5	96.5	98.0	65.0	14.0	21.0	79.0	82.5	12.0	5.5	94.5
Bola Pasto. Tratado	81.0	10.0	9.0	91.0	90.0	73.0	12.5	14.5	85.5	73.5	14.5	12.0	88.0
Africano. Guachucal. Sin tratar	83.5	9.5	7.0	93.0	91.0	64.0	7.0	29.0	71.0	89.0	4.0	7.0	93.0
Africano. Guachucal. Tratado	76.5	5.0	18.5	81.5	81.5	78.0	8.0	14.0	86.0	72.0	9.0	19.0	81.0
Frontana 3671. Sin tratar	81.0	2.0	17.0	83.0	83.0	57.0	26.0	17.0	83.0	73.0	10.0	17.0	83.0
Frontana 3671. Tratado	86.5	6.0	7.5	92.5	89.0	68.0	18.0	14.0	86.0	92.5	0.0	7.5	92.5
Ble Tendre. Sin tratar	89.5	6.0	4.5	95.5	94.0	59.5	22.5	18.0	82.0	83.0	7.0	10.0	90.0
Ble Tendre. Tratado	85.0	6.5	8.5	91.5	91.0	73.5	10.0	16.5	83.5	85.5	5.5	9.0	91.0
Caucano Mutico. Sin tratar	88.5	2.0	9.5	90.5	92.0	69.0	12.0	19.0	81.0	83.0	6.5	10.5	89.5
Caucano Mutico. Tratado	84.0	7.5	8.5	91.5	91.0	39.0	24.5	36.5	63.5	70.5	21.0	8.5	91.5
Colorado Subachoque. Sin tratar	74.5	4.0	21.5	78.5	76.5	62.0	16.0	22.0	78.0	65.0	8.0	27.0	73.0
Colorado Subachoque. Tratado	70.0	3.0	27.0	73.0	70.5	40.0	28.0	32.0	68.0	44.5	11.5	44.0	56.0
Mentana	83.0	16.0	10.0	99.0	100.0	45.0	36.5	18.5	81.5	81.5	17.0	1.5	98.5

* = Estas semillas se obtuvieron de plantas espolvoreadas con azufre, para controlar las diferentes Royas. Las sin tratar no recibieron ninguna aplicación.

**CUADRO COMPARATIVO DE LOS PORCENTAJES DE GERMINACION DE CEBADA
Y EL NUMERO DE SEMILLAS COLOREADAS CON TERAZOL**

VARIETADES DE CEBADA Y AVENA	% DE GERMINACION EN SECANTE				% Total de germinación en arena	% DE SEMILLAS ENTERAS COLOREADAS CON TERAZOL				% DE SEMILLAS MEDIAS COLOREADAS CON TERAZOL			
	Vigorosas	Tardías	Malas	% Total de germinación		Rojas	Rosadas	Blancas	% Total de coloración	Rojas	Rosadas	Blancas	% Total de coloración
Trebheig 51	17.5	10.5	72.0	28.0	28.5	11.5	18.0	70.5	29.5	27.0	2.0	71.0	29.0
Trebheig 118	58.0	8.0	44.0	66.0	64.5	72.0	6.0	32.0	78.0	59.0	6.0	35.0	65.0
Trebheig 158	76.0	7.5	16.5	83.5	82.0	76.0	8.0	16.0	84.0	68.0	17.0	15.0	85.0
Trebheig 167	63.0	9.5	27.5	72.5	70.5	65.0	8.5	27.5	73.5	65.5	6.0	28.5	71.5
Trebheig 168	75.0	11.0	14.0	86.0	85.5	76.5	10.5	13.0	87.0	85.0	2.0	13.0	87.0
Trebheig 182	80.5	8.0	11.5	88.5	88.5	72.0	16.5	11.5	88.5	80.0	8.5	11.5	88.5
Trebheig 186	60.0	6.5	33.5	66.5	74.0	56.5	10.5	33.0	67.0	70.5	6.0	33.5	76.5
Trebheig 195	58.5	4.0	47.5	62.5	51.5	45.0	8.0	47.0	53.0	60.0	3.0	47.0	63.0
Trebheig 271	78.0	2.5	19.5	80.5	78.5	79.0	2.0	19.0	81.0	73.0	7.5	19.5	80.5
Trebheig 289	83.0	5.0	22.0	88.0	89.0	83.5	4.5	12.0	88.0	80.5	8.5	11.0	89.0
Trebheig 297	26.5	9.5	64.0	36.0	35.5	34.0	3.0	63.0	37.0	33.5	4.5	72.0	38.0
Trebheig 301	54.0	7.0	39.0	61.0	60.5	56.0	4.0	40.0	60.0	59.0	2.5	38.5	61.5
Trebheig 313	76.0	4.0	20.0	80.0	76.0	65.0	16.0	19.0	81.0	70.5	10.0	19.5	80.5
Trebheig 316	80.5	2.0	17.5	82.5	82.5	89.0	4.0	7.0	93.0	75.5	8.0	16.5	83.5
Trebheig 317	20.0	0.0	80.0	20.0	23.5	19.0	5.0	76.0	24.0	20.0	3.0	77.0	23.0
Trebheig 323	64.0	24.0	12.0	88.0	76.0	70.0	5.5	24.5	75.5	72.0	4.0	24.0	76.0
Fresia	70.5	8.5	21.0	79.0	78.0	72.5	8.0	19.5	80.5	88.5	2.0	49.5	90.5
Betghe	45.0	5.0	50.0	50.0	50.0	38.5	13.5	48.0	52.0	56.0	4.0	40.0	60.0
Hannchen	54.5	3.5	42.0	58.0	71.0	66.0	8.0	30.0	70.0	56.0	4.0	40.0	60.0
Avena Marlón	58.0	8.0	34.0	66.0	67.5	55.0	11.0	34.0	66.0	59.5	5.5	35.0	65.0

SEMILLAS

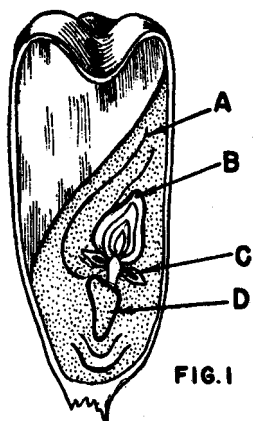


FIG. 1

MAÍZ

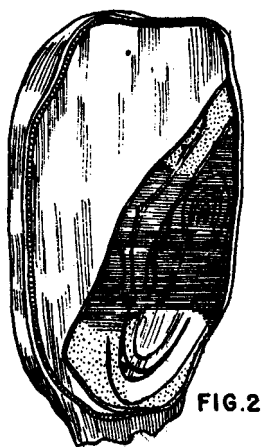


FIG. 2

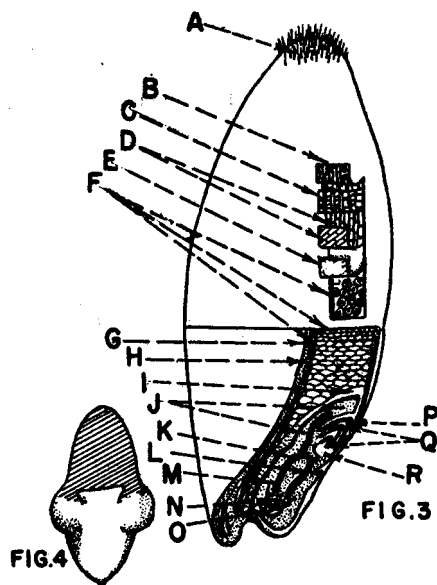


FIG. 4

TRIGO

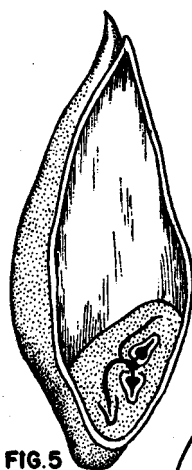


FIG. 5

CEBADA

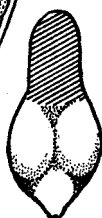


FIG. 6

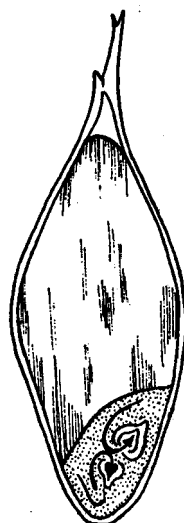


FIG. 7

AVENA

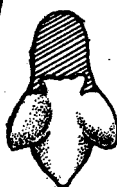


FIG. 8



FIG. 9

ARROZ

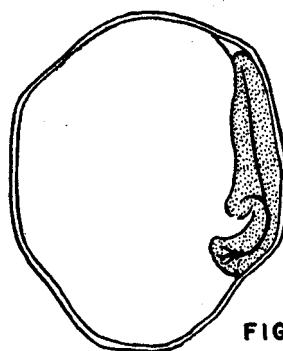


FIG. 10

ARVEJA

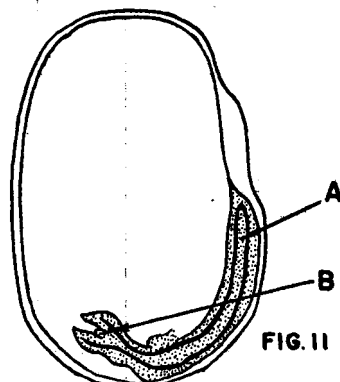


FIG. 11

SOYA



FIG. 12

FRIJOL

Dib. COP. G. V. M. S. /

Las simientes enteras tratadas con Terazol fueron examinadas después de que permanecieron sumergidas, durante 28 horas, en la solución. Los resultados fueron negativos, pues ningún embrión se coloreó, ni siquiera débilmente.

En las semillas seccionadas se hizo un análisis después de 16 horas de permanecer en la solución; en ellas se encontró que el embrión presentaba en varios casos un débil teñimiento rosado muy claro. Dicha coloración fue semejante a las semillas que se trataron con agua hirviendo, se cortaron por el centro del embrión y se sumergieron en la solución.

Como los porcentajes de coloración varían notablemente, se anotan los resultados:

NOMBRE DE LA VARIEDAD	PORCENTAJE DE SEMILLAS COLOREADAS
Estados Unidos	40
Argentina M/A.	60
Abejorral	6
San Miguel	26
Mentana	60
Ruby	94*
Marquis	26
Kota	16
Vitanco	13
Caucano	30

RELACION ENTRE LA TEMPERATURA Y LA APARICION DE LA COLORACION

Con el fin de estudiar si temperaturas más altas que las del medio ambiente en Bogotá, aceleraban

* De las cuales 35 presentaron una coloración más definida.

la coloración de las semillas, se hicieron varios exámenes con trigo y cebada a las temperaturas de 20, 25 y 30 grados centígrados y se encontró que, cuando éstas fueron constantes, el tiempo en aparecer la coloración fue más rápido.

LEGUMINOSAS

Se ha tratado de investigar si varias de estas semillas podían cortarse sin humedecerlas y fue imposible, pues su dureza dificulta el corte y hace que muchas se dañen.

En todos los casos se ha observado que los cotiledones van tiñéndose hasta presentar un color rojo oscuro, por lo cual no deben permanecer mucho tiempo en la solución. La iniciación de la coloración de los cotiledones es casi simultánea con la de la plúmula y la radícula.

Dificultades se presentan en las semillas cortadas, las cuales pueden resumirse así: a) es imposible cortar longitudinalmente la plúmula o hipocotilo; b) es difícil biseccionar la raíz; c) la coloración de los cotiledones dificulta en algunos casos la apreciación; d) es difícil clasificar las semillas en que sólo se colorean partes de la radícula, y en otras en donde se tiñe la plúmula y no la radícula o al contrario.

En cuanto a las semillas enteras, se indica que es fácil de observar la radícula en la alverja, pero se considera que el hecho de que tiña o no esta parte del embrión no indica que la planta puede germinar y dar origen a un vegetal. Se ha encontrado tam-

EXPLICACIONES DE LOS DIBUJOS

Cortes longitudinales de algunas semillas

Los dibujos representan varios cortes longitudinales de algunas semillas, en las cuales se puede apreciar la forma de los embriones.

Fig. 1 = Corte longitudinal de un grano de maíz.

Las letras significan:

- A = Brote primario.
- B = Coleoptilo.
- C = Raíces adventicias.
- D = Raíz primaria.

Fig. 2 = Sección longitudinal de una semilla de maíz. La zona marcada con líneas transversales es la que debe colorearse en las simientes vivas, después de haber sido tratadas con una solución de 2, 3, 5 Trifenil, Cloruro Tetrasódico. (Según Lakon).

Figs. 3 y 4 = Grano de trigo con sus diferentes partes, y el embrión extraído. Las letras que corresponden a los órganos importantes son:

- P = Coleoptilo.
- Q = Hojas foliares.
- O = Cofia.

N = Apice de la raíz.

M = Haz vascular.

J = Escutelo.

K = Primer nudo.

L = Epiblasto.

H = Surco de células diferenciadas.

Las siguientes letras corresponden a otras regiones de la simiente:

B = Epidermis exterior.

C = Epidermis interior.

D = Tegumento.

E = Nucelo.

F = Aleurona.

Figs. 5 y 6 = Semilla biseccionada de cebada y su embrión. En el germen se indica con líneas la parte que se tiñe con el Terazol.

Figs. 7 y 8 = Corte longitudinal de una simiente de avena y su embrión.

Fig. 9 = Sección longitudinal de arroz.

Fig. 10 = Corte biseccional de alverja.

Figs. 11 y 12 = Cortes de soya y frijol.

La letra A corresponde a la radícula y la B a la plúmula.

bién que diferentes manchas o zonas se colorean en los cotiledones y además se observó esta dificultad en la radícula, en la cual aparecieron zonas

coloreadas y no teñidas. En las otras semillas es imposible hacer observaciones que valgan la pena, puesto que la radícula no se aprecia.

CUADRO COMPARATIVO DE LOS PORCENTAJES DE GERMINACION EN LEGUMINOSAS Y EL NUMERO DE SEMILLAS COLOREADAS CON TERAZOL

LEGUMINOSAS	% Germinación en secante	% Germinación en arena	% DE SEMILLAS MEDIAS COLOREADAS CON TERAZOL					% de semillas enteras coloreadas con Terazol
			Radícula Blanca	Plúmula Blanca	Embrión Blanco	Malas	% Total de coloración	
Soya comestible	98,5	95,0	1,0	0,0	0,5	1,5	98,5	
Soya Laredo, forrajera.....	90,0	89,5	3,0	4,0	3,0	10,0	90,0	
Frijol Mantequillo	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	
Frijol	93,0	94,0	1,5	1,5	1,0	4,0	96,0	
Frijol	96,0	96,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	
Alverjas (compradas en el mercado) .	78,5	78,0	2,0	3,0	5,0	10,0	90,0	82,0
Alverjas de La Picota.....	85,0	84,0	5,0	4,0	8,5	17,5	82,5	82,5
Habichuela gigante, sin fibra.....	88,5	90,0	4,0	6,0	0,0	10,0	90,0	
Habichuela	90,0	100,0	3,5	2,0	1,0	6,5	93,5	
Lentejas	100,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0	

RESULTADOS EN MAIZ

a) Los experimentos con maíz muestran un alto índice de germinación, que no concuerda con los obtenidos por el método de germinación.

b) El cortar las semillas por la línea media del embrión presenta el inconveniente de que la radícula no queda claramente visible, lo que dificulta la apreciación.

c) La extracción de los embriones presenta dificultades; esto quita valor práctico al método preconizado por Lakon, a pesar de que el sistema es más exacto, pues el agente colorante obra directamente sobre el embrión, sin ninguna interferencia que perjudique su actividad y porque es más fácil apreciar las distintas zonas del embrión.

d) Las semillas que tomaron una coloración rosada no fueron clasificadas, porque se pensó que esa clasificación era innecesaria, ya que casi todas las semillas tomaron un color rojo intenso.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Muestra N°	% de germinación en papel secante	% de medias semillas coloreadas con Terazol
1	85.5	90.0
2	90.0	91.0
3	91.0	100.0
4	83.5	96.0
5	87.0	87.0

DISCUSION

En los experimentos llevados a cabo, se encontró que el empleo del 2, 3, 5 Trifenil, Cloruro Tetrasódico (base del producto que se empleó, y el cual es conocido comercialmente con el nombre de Terazol), permite determinar, en corto tiempo, el porcentaje de germinabilidad de las semillas de trigo, cebada y, posiblemente, avena.

En las Leguminosas, se encontró que en algunos casos el embrión se coloreó por zonas, lo cual dificultó la apreciación. Sin embargo, cuando alguna región del embrión quedó sin teñirse, este hecho se tomó como base suficiente para clasificarlas como muertas. Los resultados finales parecen indicar que en esta forma es un indicador de la germinabilidad.

En el maíz se encontraron índices superiores de germinación en las semillas tratadas con Terazol, al compararlas con los controles. Se quiso averiguar si las simientes enteras teñidas con estas sustancias germinaban, para comprobar la asociación entre coloración del embrión y germinabilidad, pero fue imposible comprobarlo, ya que la sustancia es tóxica para el embrión.

El sistema estudiado tiene, aparentemente, el inconveniente de que indica el porcentaje de granos que pueden germinar, pero no da ningún dato sobre el número de simientes que dan origen a plantas normales o anormales.

Varios autores, y estos trabajos indican que con el Terazol se aprecia mayor porcentaje de germinabilidad en relación con los controles, especialmente en maíz.

Una dificultad que se presenta es la presencia de zonas teñidas, las cuales corresponden a diversas partes de la simiente; estas manchas parecen ser causadas por agrupaciones de bacterias o fermentos. Esto se observa especialmente cuando se emplea sustancia usada con anterioridad, o si las semillas permanecen durante algún tiempo en ella.

Se sabe que las bacterias se multiplican rápidamente en la solución, y que son teñidas por la sustancia. Las agrupaciones o colonias de bacterias puede adherirse al embrión, lo cual lo opaca e induce a que se hagan apreciaciones erróneas. En algunos casos, dichos depósitos pueden ser removidos.

Al analizar el sistema estudiado se encuentra que tiene las siguientes ventajas:

1.—Por el método descrito, es posible conocer, en corto tiempo, el porcentaje de germinabilidad de un lote de semillas de trigo, cebada y, posiblemente, avena.

2.—No se necesita espacio ni aparatos especiales; con sólo unos pocos recipientes es suficiente. Esto quiere decir que no se necesita de un laboratorio especial y que en cualquier lugar se pueden determinar los índices de germinación de las semillas.

3.—Los resultados obtenidos concuerdan con la realidad, especialmente en las semillas mencionadas antes.

Con el fin de saber, ampliamente, cómo actúa la sustancia, es necesario conocer en detalle cómo obra en relación con la respiración y las enzimas. Se notó, que algunas semillas de trigo se colorearon débilmente, sin tener poder germinativo, por lo cual se supuso que el reactivo podía colorear a determinadas sustancias del embrión, que puedan ser las enzimas.

Este producto no se debe utilizar para determinar, comercialmente, el grado de germinabilidad de una semilla, sin haber investigado antes la estructura, edad, grado de latencia, tiempo que debe durar en la solución, etc. Por lo tanto, no se puede decir que la sustancia sirva para averiguar la vitalidad de todas las simientes, ya que es necesario estudiar previamente cada semilla, y determinar si con el 2, 3, 5 Trifenil, Cloruro Tetrasódico es posible conocer su grado de germinabilidad.

RESUMEN

Se adelantó una serie de experimentos con el fin de averiguar si por medio del 2, 3, 5 Trifenil, Cloruro Tetrasódico, base del producto comercial denominado Terazol, era posible determinar, rápidamente, el porcentaje de germinabilidad de las semillas. En

estos trabajos se hicieron algunas observaciones interesantes, las cuales se presentan a continuación, en una forma resumida.

1º—En las semillas frescas, el Terazol da a los embriones fértiles un color rojo intenso; los embriones de los muertos toman un color rosado pálido, o no se tiñen.

2º—En general, al comparar los resultados obtenidos con los dos sistemas, el de Terazol y el de germinación, se vió que los índices de vitalidad determinados por el primer método coincidían con los del segundo; en algunos casos se observó un mayor índice de germinación en las simientes tratadas con Terazol.

3º—Para obtener resultados más uniformes, es conveniente seccionar las semillas (trigo, cebada, avena, leguminosas y maíz) longitudinalmente. Haciendo este trabajo previo se obtienen dos ventajas, a saber: a) El Terazol obra más directamente sobre el embrión, y b) Los resultados de la reacción se pueden observar rápidamente.

4º—Al examinar 10 variedades de trigo, de 15 años de cosechadas, se observó que los embriones se colorearon débilmente y que los controles no germinaron. La débil coloración de los embriones puede explicarse, talvez, como debida a la acción de una enzima.

5º—El Terazol debe disolverse al 2%, según lo indican los fabricantes, pues las soluciones más débiles no tiñen bien los embriones, o demoran mucho en dar una coloración adecuada.

6º—La temperatura de la solución de Terazol influye sobre la actividad de la sustancia, ya que el aumento de unos pocos grados acelera la tensión de los gérmenes.

7º—No es fácil extraer los embriones del maíz y, en este grano, la técnica presenta ciertas dificultades que la hacen imprecisa y, por lo tanto, poco aconsejable.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—**Afanasyev, Michel.** A physiological study of dormancy in seed of *Magnolia acuminata*. New York (Cornell) Agric. Exp. Sta. Mem. 208. 37 pp. 1937.
- 2.—**Baldwin, Henry I.** Catalase activity as a measure of viability of tree seeds. *Amer. Jour. Bot.* 22: 635-644. 1935.
- 3.—**Barton, Lela V.** Storage of elm seeds. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 10: 221-223. 1939.
- 4.—**Basu, K. P. and J. N. Karkun.** Glucose dehydrogenase from germinated seeds of green and black grams (*Phaseolus radiatus* and *P. mungo* L.). *Jour. Indian. Chem. Soc.* 20: 229-238. 1943. (Abstr. in *Chem. Soc.* 38: 2352-2353. 1944).
- 5.—..... Succinic acid dehydrogenase from cucumber seeds. *Jour. Indian. Chem. Soc.* 20: 277-281. 1943. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 38: 2352-2353. 1944).
- 6.—**Bennett, Norah, and W. E. Loomis.** Tetrazolium Chloride as a Test reagent for freezing injury of seed corn. *Plant Physiol.* 24: 162-174. 1949.
- 7.—**Bishop, L. R.** Second memorandum on barley germination. *Jour. Inst. Brew* 51 (5): 215. 1945. (Abstr. in *Biol. Abstr.* 20: 21111. 1946).

- 8.—**Brocq-Rousseau, et Edmond Gain.** Sur la durée des peroxydiastases des graines. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)* 146: 545-548, 1908.
- 9.—**Clark, V. A.** Seed selection according to specific gravity. New York (Genova) *Agric. Exp. Sta. Bull.* 256: 367-425, 1904.
- 10.—**Cottrell, H. J.** Tetrazolium salt as a seed germination indicator. *Nature (London)* 159: 748, 1947.
- 11.—**Crocker, William.** Longevity of seeds. *Bot. Gaz.* 47: 69-72, 1909.
- 12.—**Crocker, William, and George T. Harrington.** Catalase and oxidase content of seeds in relation to their dormancy, age, vitality, and respiration. *Jour. Agric. Res.* 15: 137-174, 1918.
- 13.—**Crocker, William, and Lela V. Barton.** After-ripening, germination, and storage of certain rosaceous seeds. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 3: 385-404, 1931.
- 14.—**Curtis, Otis F., and Daniel G. Clark.** An Introduction to Plant Physiology. pp. McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, 1950.
- 15.—**Chiapelli, R.** Wood's rays and the physiological selection of rice seed. *Giorn. Riscultura* 22: 171-173, 1932. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 27: 1657, 1933).
- 16.—**Damodaran, Manayath, and Kesavapillay, Ramakrishnan Nair.** Glutamic acid dehydrogenase from germinating seeds. *Biochem. Jour* 32: 1064-1074, 1938.
- 17.—**Darsie, Marvin L., Charlotte Elliott, and George J. Pierce.** A study of the germinating power of seeds. *Bot. Gaz.* 58: 101-136, 1914.
- 18.—**Davidson, O. W.** The germination of "non-viable" peach seeds. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 30 (1933): 129-132, 1934.
- 19.—..... Growing trees from "non-viable" peach seeds. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 32 (1934): 308-312, 1935.
- 20.—**Davis, Wilmer E., and R. Catlin Rose.** The effect of external conditions upon after-ripening of the seeds of *Crataegus mollis*. *Bot. Gaz.* 54: 49-62, 1912.
- 21.—..... The use of catalase as a means of determining the viability of seeds. *Proc. Assoc. Off. Seed Anal. N. Amer.* 18: 33-39, 1926.
- 22.—**Davis, W. C.** Phenolase activity in relation to seed viability. *Plant Physiol.* 6: 127-138, 1931.
- 23.—**Denny, F. E.** The role of the surface micro-flora in measurements of respiration rate of germinating seeds. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 15: 211-227, 1938.
- 24.—**Dimitriewez, Nicolaus.** Über die Methoden der Samenprüfung landwirt Schaftlicher Kulturpflanzen (Métodos para examinar las semillas de plantas agrícolas). *Ianung. diss Leipzig.* 34. pp. 1876.
- 25.—**Dodonova, E. V.** Variations in the dehydrogenase content of pea seeds. *Enzymologia* 9: 373-379, 1941 (Abstr. in *Chem. Abstr.* 36: 798, 1942).
- 26.—**Dolk, H. E. und E. van Slogteren.** Über die Atmung und die Absterbe erscheinungen bei Hyacinthezwiebeln bei höheren Temperaturen im Zusammenhang mit der Bekämpfung der Gelbkrankheit. (Sobre la respiración y los síntomas de pudrición con temperaturas más altas, en bulbos de jacinto, y su relación en la lucha contra la enfermedad amarilla). *Cartenbauwiss* 4: 113-158, 1930-1931. Citado por Denny, F. E. *Boyce Thompson Inst.* 15: 211-227, 1948.
- 27.—**Doroshenko, A. V.** Plasmolytic method of determining the germinating capacity of seeds. *Bull. App. Bot. Genet. & Plant breed. Ser. IV Seed Test* 2: 119, 1937.
- 28.—**Duffrenoy, Jean, and Robertson Pratt.** Histo-physiological localization of the site of reducing activity in stalks of sugar cane. *Amer. Jour. Bot.* 35: 33-334, 1948.
- 29.—**Eidmann, Franz Erich.** Saatgutprüfung auf biochemischen Wege. (Examen de las semillas por el sistema bioquímico). *Zeitschr. Frost-u Jagdwesen* 68: 442-443, 1936.
- 30.—..... Eine neue biochemische Methode zur Erkennung der Aussaaten von Samen. (Un nuevo método bioquímico para determinar la germinabilidad de las semillas). *Proc. Internat Seed. Test. Assoc.* 10: 203-209, 1938.
- 31.—**Enders, C. A. Pfahler, and F. Schneebeuer.** Rapid method for estimating the germinative capacity of barley and malt. *Wochenschr. Brau.* 54: 297-300, 1937. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 32: 2571, 1938).
- 32.—**Fernández, D. S.** Aerobe und anaerobe Atmung bei Keimlingen von *Pisum sativum*. (Respiración aerobia y anaerobia en semillas de *Pisum sativum*). *Rec. Trav. Bot. Neerland.* 20: 107-256, 1923.
- 33.—**Fick, G. George L., R. P., and Hibbard.** A method for determining seed vitality by electrical conductivity measurements. *Mich. Acad. Sci. Arts. and Letters.* 5: 95-103, 1926.
- 34.—**Flemion, Florence.** A rapid method for determining the germinative power of peach seeds. *Boyce Thompson Inst.* 8: 289-293, 1936.
- 35.—..... A rapid method for determining the germinative power of dormant seeds. *Amer. Jour. Bot.* 24: 734-735, 1937.
- 36.—..... A rapid method for determining the viability of dormant seeds. *Boyce Thompson Inst.* 9: 229-351, 1938.
- 37.—..... Further studies on the rapid determination of the germinative capacity of seeds. *Boyce Thompson Inst.* 11: 455-464, 1941.
- 38.—..... Reliability of the excised embryomethod as a rapid test for determining the germinative capacity of dormant seeds. 15: 229-241, 1948.
- 39.—**Flemion, Florence, and Harriet Poole.** Seed viability test with, 2, 3, 5-tri-phenyltetrazolium chloride. *Boyce Thompson Inst.* 15: 243-358, 1948.
- 40.—**Forward, B. F.** Chemical tests for seed viability. *News Letter Assoc. Off. Seed Anal.* 21 (2): 25-26 May 1947.
- 41.—**Franck, W. J.** A short chat about the government's seed testing station Wagenigee (the Netherlands) *News Letter Assoc. Off. Seed Anal.* 22 (1): 11-13, Feb. 1948.
- 42.—**Fraser, Mary T.** Parallel tests of seeds by germination and by electrical response. *Ann. Bot.* 30: 181-189, 1916.
- 43.—**Gadd, Ivar, and Arne, Kjaer.** Über die Verwendbarkeit der Selen und Indigokarmin methoden bei der Prüfung von Frost und Fusariumgeschädigtem Getreide. (El empleo del Selenio y el Carmin de Indigo en el examen de los cereales afectados por las heladas y el Fusarium). *Int. Seed Test Assoc. Proc.* 12: 140-149, 1940.
- 44.—**Gadd, Ivar.** Vital Colouring of pea seeds by means of malachite green. *Proc. Int. Seed. Test. Assoc.* 13: 5-76, 1941/43.
- 45.—**Göksin, Adil.** Altersermittlung beim Saatgut der Fichte und Kiefer. (Apreciación de la edad de las semillas del pino común y rodeno). *Frostwiss. Centralbl.* 64: 111-117, 1942. (Abstr. in *Biol. Abstr.* 17: 22456, 1943).
- 46.—**Goodsell, Samuel F.** Triphenyltetrazolium chloride for viability determination of frozen seed corn. *Jour. Amer. Soc. Agron.* 40: 432-442, 1948.
- 47.—**Guha Thakurta, A., and B. K. Dutt.** Investigation on the catalase activity of jute seeds (*Altorius* and *capsularis*). *Trans Bose Res. Inst., Calcutta.* 13: 83-92, 1937-1938.
- 48.—**Gurchot, Charles.** Apricot seeds as a source of dehydrogenases. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 33: 285-287, 1935/36.
- 49.—**Gurewitsch, Alexander.** Über eine Methode zur Bestimmung der Keimfähigkeit ohne Keimprüfung. (Método para determinar el poder germinativo sin prueba de germinación). *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 53: 303-318, 1935.
- 50.—**Hao, Kin-Shen.** Über Saatgutprüfung auf biochemischen Wege. (Análisis de las semillas por el sistema bioquímico). *Zeitschr. Forstu. Jagdwesen* 71: 141-156; 187-204; 249-269, 1939.
- 51.—**Harrington, George T., and Bertha C. Hite.** After-ripening and germination of apple seeds. *Jour. Agr. Res.* 23: 153-161, 1923.
- 52.—**Harrow, Benjamín.** Tratado de Bioquímica y Manual de Prácticas de Bioquímica. pp. Editorial Atlántic. México, D. F. 1946.
- 53.—**Hasegawa Kozo.** On the determination of vitality in seeds by reagents. *Proc. Internat. Seed Test. Assoc.* 7: 148-153, 1935.
- 54.—**Hibbard, R. P., and E. V. Miller.** Biochemical studies on seed viability. 1. Measurements of conductance and reduction. *Plant Physiol.* 3: 335-352, 1928.
- 55.—**Hibbard, R. P., and O. E. Street.** 11. Chemical constituents operating in reduction. *Mich. Acad. Sci. Arts, and Letters.* 9: 139-162, 1929.

- 56.—**Hoffpauir, Carroll L., Dorothy H. Petty, and John D. Guthrie.** Germination and free fatty acid in individual cotton seeds. *Science* 106: 344-345. 1947.
- 57.—**Isachenko, B. L., and A. A. Predtechenskaia.** Vital staining as a method of determining the viability of seeds. *Botanica Experimentalis* 2: 347-379. 1936. (Abstr. in *Exp. Sta. Rec.* 78: 43. 1938).
- 58.—**James, W. O., and J. M. Gragg.** Ascorbic acid system in barley. *Nature* (London) 1948: 726-727. 1941.
- 59.—**Johnson, L. P. V.** Embryonic reaction to sodium biselenite as a test of seed vitality. *Jour. Amer. Soc. Agron.* 39: 943-937. 1947.
- 60.—**Kretovich, V. L., and A. I. Sokolova.** The dehydrogenases of wheat embryos. *Biokhimiya* 7: 232-237. 1942. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 38: 1536. 1944).
- 61.—**Kuhn, Richard, and Ditrich Jerchel.** *Invert Soap*. VIII. Reduction of tetrazolium salts by bacteria, fermenting yeast and germinating seeds. *Ber. Deutsch. Ges.* 74: 949-952. 1941. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 35: 6957-6958) 1941.
- 62.—**Kullen, Beate.** Behavior of certain enzymes during the storage of wheat and its mill products. *Vorratspflege u. Lebensmittelforsch.* 4: 421-447. 1937. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 37: 2084. 1943).
- 63.—**Lakon, George.** Das Schwinden der Keimfähigkeit der Samen, insbesondere der Getreidefrüchte. (The disappearance of the germinating capacity of seeds, particularly cereal seed). *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 57: 191-203. 1939. (Abstr. in *Proc. Internat. Seed Test. Assoc.* 11: 155. 1939).
- 64.—..... Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit der Getreidefrüchte durch Tetrazoliumsalze. (Comprobación topográfica del poder germinativo de las semillas de cereales con sales tetrasódicas). *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 60: 299-305. 1942.
- 65.—..... Topographischer Nachweis der Keimfähigkeit von Mais durch Tetrazoliumsalze. (Comprobación topográfica del poder germinativo del maíz con sales tetrasódicas). *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 60: 434-444. 1942.
- 66.—**Lakon, George.** Un nouveau procédé rapide pour contrôler la faculté germinative des graines. *Presse Agric. Etrangere* 1943 (3): 5. 1943. (Abstr. in *Ann. Agron.* 13: 185. 1943).
- 67.—..... The Topographical Tetrazolium Method for Determining the Germinating Capacity of seeds. *Plant Physiol.* 24: 389-394. 1949.
- 68.—**Leach, William.** Studies on the metabolism of cereal grains. 111. The influence of atmospheric humidity and mould infection on the carbon dioxide output of wheat. *Canadian Jour. Res. Sec. C.* 22: 150-161. 1944.
- 69.—**Leggatt, C. W.** A further note on catalase activity as a measure of seed viability. *Canadian Jour. Res.* 9: 571-573. 1933.
- 70.—**Lehmann, F.** The influence of different factors upon the oxidation enzyme in seeds of *Phaseolus vulgaris*. *Bot. Notiser* 1922. 289-312. 1922. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 18: 1686. 1924).
- 71.—**Lessage, Pierre.** Sur l'emploi des solutions de potase à la reconnaissance de la faculté germinative de certaines graines. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)* 152: 615-617. 1911.
- 72.—..... Sur la détermination de la faculté germinative autrement que par la germination des graines. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)* 174: 766-767. 1922.
- 73.—**Liang, Chi-Chin.** The influence of the reaction of hydrochloric acid upon the catalase activity in the germinated millet seeds. *Chinese Bot. Soc. Bull.* 3: 45-52. 1937.
- 74.—**Lincham, P. A., and S. P. Mercer.** Ultra-violet rays on seeds. *Sciences Suppl.* 78 (2030): 10 Nov. 24. 1933.
- 75.—**Mar, Francis.** Amylase activity as an indicator of seed viability. *Iowa State College Library.* 1944.
- 76.—**Mattson, A. M., C. O. Jensen, and R. A. Durrcher.** Triphenyl-tetrazolium chloride as a dye for vital tissues. *Science* 106: 294-295. 1947.
- 77.—**Mc. Hargue, J. S.** The significance of the peroxidase reaction with reference to the viability of seeds. *Jour. Amer. Chem. Soc.* 42: 612-615. 1920.
- 78.—**Milner, Max.** Utility of sulfa drugs for the inhibition of mold respiration in grains. *Science* 104: 463-464. 1946.
- 79.—..... and **W. F. Geddes.** Grain storage studies. 111. The relation between moisture content, mold growth, and respiration of soybeans. *Correal Chem.* 23: 225-247. 1946.
- 80.—**Mirow, N. T.** A note on germination methods for coniferous species. *Jour. Forest.* 34: 719-723. 1936.
- 81.—**Mohs, K., and Tornow, E.** Germinating energy (of grains) and selenium reduction. *Ztschar. Ges. Getridew.* 27: 17-22 (Abstr. in *Jour. Soc. Chem. Ind.* 59: 483 B. 1940).
- 82.—**Müller, D.** Tote Speichergewebe in lebenden Samen. (Dead storage tissues in viable seeds). *Planta* 33: 721-727. 1943. (Abstr. in *proc. Assoc.* 13: 422-423. 1941/43).
- 83.—**Nabokdeh, A. J.** Über den Einfluss der Sterilisation der Samen auf die Atmung. (La influencia de la desinfección de las semillas en la respiración). *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 21: 279-291. 1903.
- 84.—**Nädvornik, Josef.** Použití vitalního barvení ke zkoušení semen ovocných dřevin. (Application of vital staining of seeds of fruit trees and shrubs. *Vestník Cesk. Akad. Zem.* 20 (3/4): 160-164 (Abstr. in *Biol. Abstr.* 21: 717. 1947).
- 85.—**Nazarova, N. S.** Catalase activity as an index of the germinating capacity of seeds. *Bull. App. Bot. Genet. & Plant-Breed. Ser. IV. Seed Sci. & Seed Test.* 2: 111. 1937.
- 86.—**Neljubow, D.** Über die Methoden der bestimmung der Keimfähigkeit ohne Keimprüfung. (Métodos para determinar el poder germinativo sin prueba de germinación). *Ann. Essais Semences* 4 (7): 31-35. 1925.
- 87.—**Nelson, Oliver, E., and H. S. Burr.** Signal growth potential soaked corn grains. *Sci. News Letter* 49: 361. 1946.
- 88.—**Nemec, Antonin, et Frantisek, Duchon.** Sur une methode indicatrice permettant d'évaluer la vitalité des semences par voie biochimique. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)* 174: 632-634. 1922.
- 89.—..... Sur une nouvelle methode biochimique pour la détermination de la force vitale des semences. *Ann. Sci. Aron. Franc., et Etrangere* 40: 121-150. 1823.
- 90.—**Niethammer, Anneliese.** Critical comparative sugar and catalase determinations on seed materials of different vitalities. *Zeitschr. Pflanzernah. Dung. u. Boden.* 21 A, 69-86. 1931. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 25: 5688. 1931).
- 91.—..... Plasmolysestudien an gärtenerisch wichtigem Saatgut. *Gartenbauwiss* 17: 91-94. 1942. (Abstr. in *Biol. Abstr.* 18: 11860. 1944).
- 92.—**Porter, R. H., Mary Durrel and H. R. Romm.** The use of, 2, 3, 5 triphenyl-tetrazoliumchloride as a measure of seed germinability. *Plant Physiol.* 22: 149-159. 1947.
- 93.—**Qvan, Olaf.** Zur Atmung des Getreides. Eine Relation zwischen Keimfähigkeit und Atmungsintensität. (Sobre la respiración de los cereales. Relación entre el poder germinativo y la intensidad de la respiración). *Jahresber. Verein. f. Angew. Bot.* 4: 70-87. 1906.
- 94.—**Rohmeder, E.** Beeinfluss der Vitamin C. Gehalt der Nadelholzsamen, das Färbungsergebnis des Natriumselenitverfahrens? *Forstwiss. Centralbl.* 65: 65-70. 1943. (Abstr. in *Biol. Abstr.* 18: 11810. 1940).
- 95.—**Sakata, T.** The use of chemicals to determine the vitality of seeds. *Seed World* 33 (13): 69. 1933.
- 96.—**Schmorl, K.** Das spezifische Gewicht eines Getreides als Beweatungsfaktor. (The specific gravity of a cereal as a valuation factor). *Proc. Internat. Seed. Test. Assoc.* 7: 75. 1935.
- 97.—**Shuel, R. W.** Seed germinability tests with 2, 3, 5 triphenyl-tetrazoliumchloride. *Sci. Agric.* 28: 34-38. 1948.
- 98.—**Singh, B. N., P. B. Mathur, and M. L. Mehta.** Determination of catalase ratio as a rapid method of seed testing. *Trop. Agric. (Trinidad)* 15: 260-261. 1938.
- 99.—**Steinbauer, George P.** Dormancy and germination of *Fraxinus* seeds. *Plant Physiol.* 12: 813-824. 1937.
- 100.—**Tadokoro, Testsutaro, Tsuneyuki Saito, and Naomoto Takasugi.** The enzymecontaining proteins of rice embryo. *Jour. Chem. Soc. Japan* 63: 1015-1018. 1942. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 41: 3509. 1947).

- 101.—**Tanashev, G. A.** Improvement on the indicator method for the rapid determination of the germinative power of cultivated plant seeds. *Chem. Socialistic. Agr.* 7 (4): 101-107. 1938. (Abstr. in *Chem. Abstr.* 33: 8241. 1939).
- 102.—**Thumberg, T.** The hydrogen-activating enzymes of the cells. *Quart. Rev. Biol.* 5: 318-347. 1930.
- 103.—**Tskhoidze, V.** Determining the viability of tung-oil tree seeds by the method of colouring (Eng. Summary). *Batum Subtropical Bot. Gard. Bull.* 1: 96. 1936.
- 104.—**Tukey, H. B.** Artificial culture of sweet cherry embryos. *Jour. Hered.* 24: 7-12. 1933.
- 105.—..... Artificial culture methods for isolated embryos of deciduous fruits. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 32 (1934): 313-322. 1935.
- 106.—**Turesson, Göte.** Über den Zusammenhang zwischen Oxydationsenzymen und Keimfähigkeit in verschiedenen Samenarten. (Relación entre las enzimas de oxidación y el poder germinativo en diferentes clases de semillas). *Bot. Notiser.* 1922. 323-335. 1922.
- 107.—**Vicent, G.** Einfluss der Aufbewahrungszeit auf die Qualität der Koniferensamen. (Influencia del período de conservación sobre la calidad de las semillas de coníferas). *Verhand. Internat. Kongr. Forst. Versuchsanst. (Stockholm)* 1929: 436-440. 1930. (Abstr. in *Biol. Abstr.* 37: 5148. 1943).
- 108.—**Vilmorin, Jacques de, et Cazaubon.** Sur la catalase des graines. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)*. 175: 50-51. 1922.
- 109.—**Wach, Alfred.** Versuche zur Selenitfärbung des forstlichen Saatgutes. (Experimento sobre la coloración de las semillas forestales por medio del Selenio). *Allg. Forst- u. Jagdztg.* 118: 178-188: 210-218. 1942. (Abstr. in *Biol. Abstr.* 17: 17245. 1943).
- 110.—**Waller, Augustus D.** An Attempt to estimate the vitality of seeds by electrical method. *Proc. Roy. Soc. (Lond.)* 68: 79-82. 1901.
- 111.—**Waugh, Thomas D.** Staining of the stem tissue of plants by triphenyltetrazolium chloride. *Science.* 107: 275. 1948.
- 112.—**Wiese, Rudolf.** Bemerkungen zur Gurewitschs Methode, die Keimfähigkeit von Samen zur bestimmen. (Observaciones sobre el método de Gurewitschs, para determinar el poder germinativo de las semillas). *Ber. Deutsch. Bot. Ges* 55: 338-340. 1937.