

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS, UN EJEMPLO: *MANFREDA BRACHYSTACHYA*

LOURDES GONZÁLEZ-ZERTUCHE Y ALMA OROZCO-SEGOVIA

Centro de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México.
Apdo. Postal 70-275, Ciudad Universitaria, 04510 México D. F., México.

Resumen. Se realizó una revisión bibliográfica de los métodos de análisis de la germinación. Éstos se dividieron en gráficos y analíticos (índices, ajustes a funciones logísticas y de distribución normal). Cada uno de ellos se ilustró con los valores de germinación de *Manfreda brachystachya* en un gradiente de temperatura. Se señalan los principales parámetros de la germinación: capacidad, tasa, tiempo promedio y la varianza en el tiempo promedio de la germinación, los cuales deben ser medidos de forma precisa y comparable. Se discuten las ventajas y desventajas de los diferentes métodos. No se recomiendan los índices en los que se trata de relacionar capacidad de germinación con el tiempo, para obtener valores relativos de la tasa de germinación, ya que se confunde el efecto que pueden tener los diferentes parámetros. Se recomienda el uso de las funciones logísticas y las de distribución normal, ya que son modelos que analizan el comportamiento germinativo en el tiempo y proporcionan los valores de los principales parámetros de la germinación.

Palabras clave: ajuste de curvas, análisis de datos, germinación, índices de germinación, *Manfreda brachystachya*, temperatura.

Abstract. Methods for germination analysis were reviewed in this work. These methods were divided in graphical and analytical (Indices and curve fitting to logistic and normal distribution functions). Each one was illustrated with the *Manfreda brachystachya* germination data in a temperature gradient. Germination parameters were underlined: capacity and rate germination, mean time, and variance in mean time germination. These parameters must be measured accurately. The advantages and disadvantages of the different methods are discussed. Indices which try to relate germination capacity with time are not recommended to obtain relative values of germination rate, because they confound the effects that can have the different parameters. The use of logistic and normal functions are recommended, because they are models that analyze germination behavior in time and provide the values of the main germination parameters.

Key words: curve fitting, data analysis, germination, Indices of germination, of germination, *Manfreda brachystachya*, temperature.

La germinación es el proceso fisiológico por medio del cual se reinicia el crecimiento del embrión (Bewley y Black, 1978), comienza con la imbibición de la semilla y termina cuando emerge la radícula. Es posible marcar grados de germinabilidad para cada lote de semillas según: la especie, la variabilidad de la población y las condiciones ambientales en que germinan las semillas.

La respuesta germinativa de las poblaciones de semillas pueden variar en: *a*) capacidad germinativa (proporción de semillas capaces de germinar en condiciones óptimas o en una condición determinada); *b*) distribución de la germinación en el tiempo (tasa de germinación, velocidad o forma de la curva); *c*) tiempo en que germina la primera semilla; *d*) tiempo promedio de germinación para la muestra o la

población; *e*) uniformidad, simultaneidad, o sincronía de la germinación (variabilidad alrededor del tiempo medio de germinación) (Bewley y Black, 1994).

El proceso germinativo se ha estudiado desde diferentes puntos de vista, por lo que la literatura sobre el tema es muy abundante. Un ejemplo es la revisión bibliográfica de Barton (1967) con varias decenas de miles de fichas. En términos generales, en la literatura sobre el tema se analiza el resultado final de la germinación (proporción de semillas germinadas en una muestra dentro un período específico) y/o el curso de la germinación en el tiempo (tasa de germinación); o bien se mide el efecto de tratamientos específicos en el tiempo de germinación, o se investigan las diferentes combinaciones de factores que pueden estar relacionados con diferentes

curvas de germinación. Sin embargo, no existe uniformidad en la forma de presentar resultados, ni en la profundidad del análisis, por lo que, muchas veces se pierde información y no es posible comparar los resultados obtenidos en diferentes estudios.

Se han realizado intentos para expresar en términos matemáticos el complejo proceso de la germinación y se han propuesto diferentes índices, fórmulas y modelos para evaluarlo y analizarlo. Uno de los primeros intentos para evaluar la distribución de la germinación en el tiempo fue el de Kotowski (1926). Posteriormente otros autores propusieron diferentes índices o fórmulas: Czabator (1962), Maguire (1962), Timson (1965), Côme (1968), Gordon (1971). También se han publicado evaluaciones sobre estos índices (Goodchild y Walker, 1971; Bewley y Black, 1978; Naylor 1981), y se han propuesto modificaciones a funciones utilizadas inicialmente para el análisis de crecimiento como la Función de Richards y de ahí se han derivado otros métodos (Nichols y Heydecker, 1968; Heydecker, 1973; Janssen, 1973; Schimp *et al.* 1977).

Scott *et al.* (1984) resumieron algunos de los métodos existentes hasta ese momento y compararon la información que proveen; además propusieron la utilización del análisis de sobrevivencia para el análisis de la germinación. En la década de los años ochenta se publicaron los modelos propuestos por Bould y Abrold (1981), Shibuya y Hayasi (1981), Hsu *et al.* (1984), Washitani (1984), Washitani y Takenaka (1984), Berry *et al.* (1988). Sin embargo, de acuerdo con Berry *et al.* (1988), aún no se establecen modelos confiables para describir y comparar respuestas básicas de la germinación por lo que sería útil establecer una serie de reglas o fórmulas estándar para las pruebas de germinación.

En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica de los métodos de análisis de la germinación. La revisión tiene el propósito de comparar los métodos, establecer las ventajas y desventajas que poseen y dar recomendaciones para el uso o aplicación de los mismos; se ilustra cada método con los datos de la germinación de *Manfreda brachystachya* en un gradiente de temperatura.

Métodos de análisis de datos de germinación

Los métodos de análisis de la germinación pueden diferenciarse en dos tipos: descriptivos y analíticos. Los descriptivos o gráficos permiten hacer una evaluación preliminar de los resultados, mientras que los analíticos consisten en la aplicación de funciones matemáticas que describen el comportamiento germinativo de las semillas.

Métodos descriptivos

1. *Gráficas de capacidad de germinación.* Se grafica el número final de semillas germinadas (figura 1a) o el porcentaje final de germinación (figura 1b) en cada tratamiento. Se recomienda reportar porcentajes, ya que permite comparar muestras que no tienen el mismo tamaño. En estas gráficas se observa el efecto de los tratamientos en la capacidad germinativa, pero no muestran cómo fue la distribución de la germinación en el tiempo.

2. *Gráficas de germinación diaria.* Muestran el número de semillas que germinaron cada día (figura 1c y 1d). Describen la distribución de la germinación en el tiempo, por lo que se observa qué tan cercana es a una distribución normal (la uniformidad) y el día en el que se logra el máximo número de semillas germinadas (pico de germinación).

3. *Gráficas de germinación acumulada por intervalos de tiempo* (figura 1e y 1f). Muestran la máxima capacidad de germinación y el tiempo (día) en que se alcanza, la forma en que se incrementa la germinación, y su tiempo de inicio. Pero carece de parámetros precisos de comparación.

4. *Gráficas de germinación en el tiempo.* Se grafica el tiempo (figura 2a) o el recíproco del tiempo (figura 2c) necesario para alcanzar el 25, 50, 75 y 100% de germinación acumulada del total de semillas sembradas. Consiste en dividir la muestra de semillas en poblaciones porcentuales, tomando como 100% el número de semillas sembradas en cada tratamiento. Permite establecer la relación entre capacidad y tiempo de germinación y distinguir en qué temperaturas la germinación fue más rápida o más lenta, es decir, permite realizar una comparación relativa entre las tasas de germinación y delimitar las temperaturas cardinales: mínima, máxima y óptima para la germinación; ya sea utilizando la curva del 50% de germinación, criterio popularizado por Thompson (1970), o con base en los valores máximos y mínimos de la capacidad germinativa de la especie.

Inicialmente Went (1957) propuso utilizar como parámetro de referencia el Gt_{50} (tiempo en que se alcanza el 50% de germinación) y lo denominó respuesta del punto medio. Este índice provee una medida de la localización de los datos no distribuidos normalmente (mediana), sin embargo este criterio es muy cuestionable desde un punto de vista demográfico.

5. *Gráficas de la capacidad de germinación en el tiempo.* Se grafica el tiempo (figura 2b) o el recíproco del tiempo (figura 2d) necesario para alcanzar el 25, 50, 75 y 100% de germinación acumulada, del total de semillas germinadas. También se divide la muestra en poblacio-

nes porcentuales, pero toma como 100% al total de semillas germinadas en cada tratamiento. Gramshaw en 1972 reportó como tasa de emergencia al tiempo para alcanzar el 50 por ciento (Hsu *et al.* 1984).

Posteriormente se consideró como tasa de emergencia al recíproco del tiempo para alcanzar el 50% de germinación (Kanemasu *et al.* 1975; Angus *et al.* 1981). El uso del recíproco del tiempo hace más

notables las diferencias al linealizar los datos. Este tipo de gráfica es útil para comparar el tiempo requerido para la germinación en cada temperatura sin que se vea afectado por la capacidad germinativa. Representa, en forma relativa, la tasa de germinación.

Los métodos gráficos son útiles como un primer paso en el análisis (Scott *et al.* 1984). Sin embargo, para obtener objetivamente los tiempos promedio y las tasas

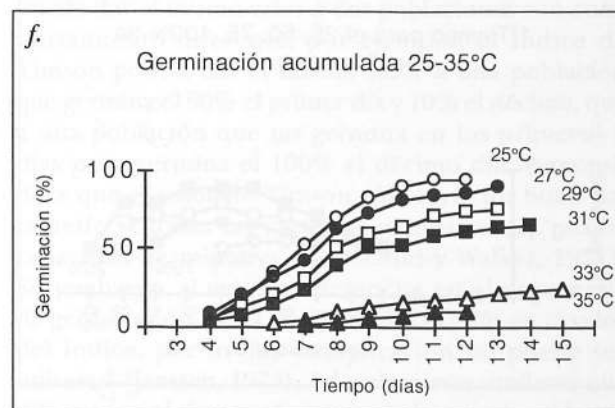
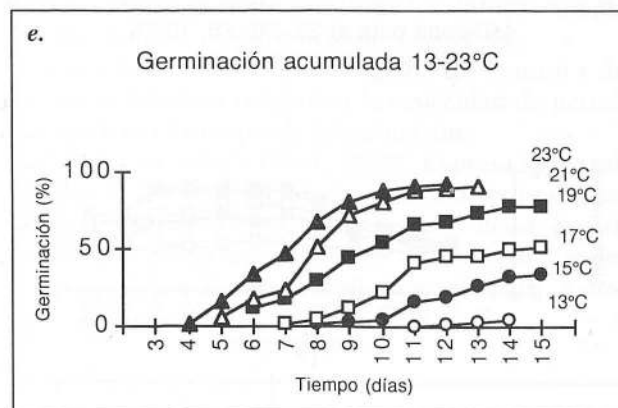
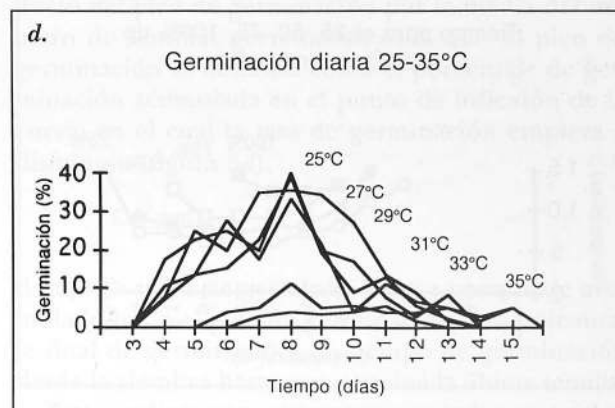
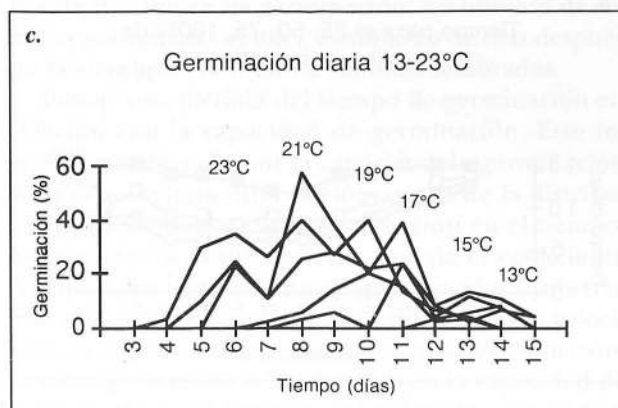
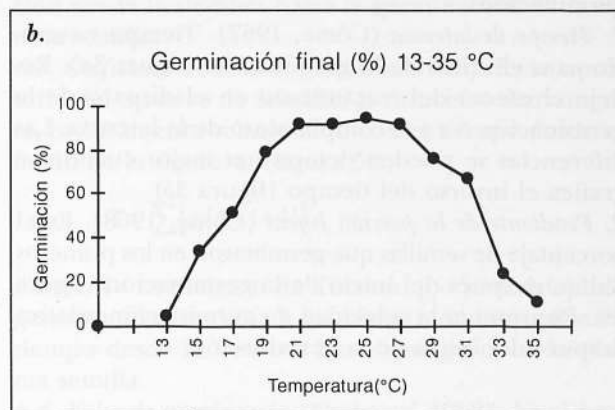
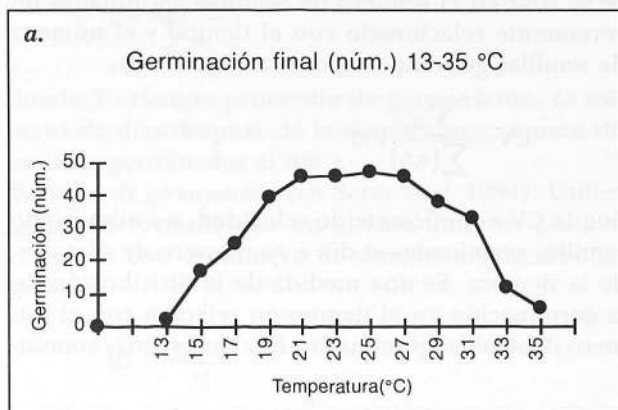


Figura 1. Germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura. a) germinación final expresada en número y b) expresada en porcentaje, c) y d) germinación diaria en cada temperatura, e) y f) germinación acumulada.

de germinación se requiere de la aplicación de métodos analíticos.

Métodos Analíticos

Índices de germinación

Los índices de germinación son fórmulas en las que se trata de relacionar los diferentes parámetros de la germinación:

1. *Tiempo de latencia* (Côme, 1967). Tiempo necesario para el inicio de la germinación (figura 3a). Refleja el efecto del tratamiento en el disparo de la germinación o en el rompimiento de la latencia. Las diferencias se pueden determinar mejor cuando se grafica el inverso del tiempo (figura 3b).

2. *Pendiente de la porción lineal* (Côme, 1968). Es el porcentaje de semillas que germinaron en los primeros 2 días, después del inicio de la germinación (figura 3c). Representa la velocidad de germinación relativa después del inicio de la germinación.

El autor únicamente propone comparar los datos de los dos primeros días, pero sería más útil considerar el porcentaje de germinación acumulado hasta el punto de inflexión de la curva (figura 3d), ajustarle una curva a los datos y calcular su pendiente. De otra manera, en cualquier gráfica de germinación acumulada podemos observar la información obtenida con este método.

3. *Coefficiente de velocidad* (Kotowski, 1926). Este índice se basa en el número de semillas germinadas inversamente relacionado con el tiempo y el número de semillas germinadas por día (figura 4a),

$$CV = \frac{\sum n_i}{\sum (n_i t_i)} 100$$

donde CV = coeficiente de velocidad, n_i = número de semillas germinadas el día i , t_i = número de días desde la siembra. Es una medida de la distribución de la germinación en el tiempo en relación con el número de semillas germinadas. Es el índice más común-

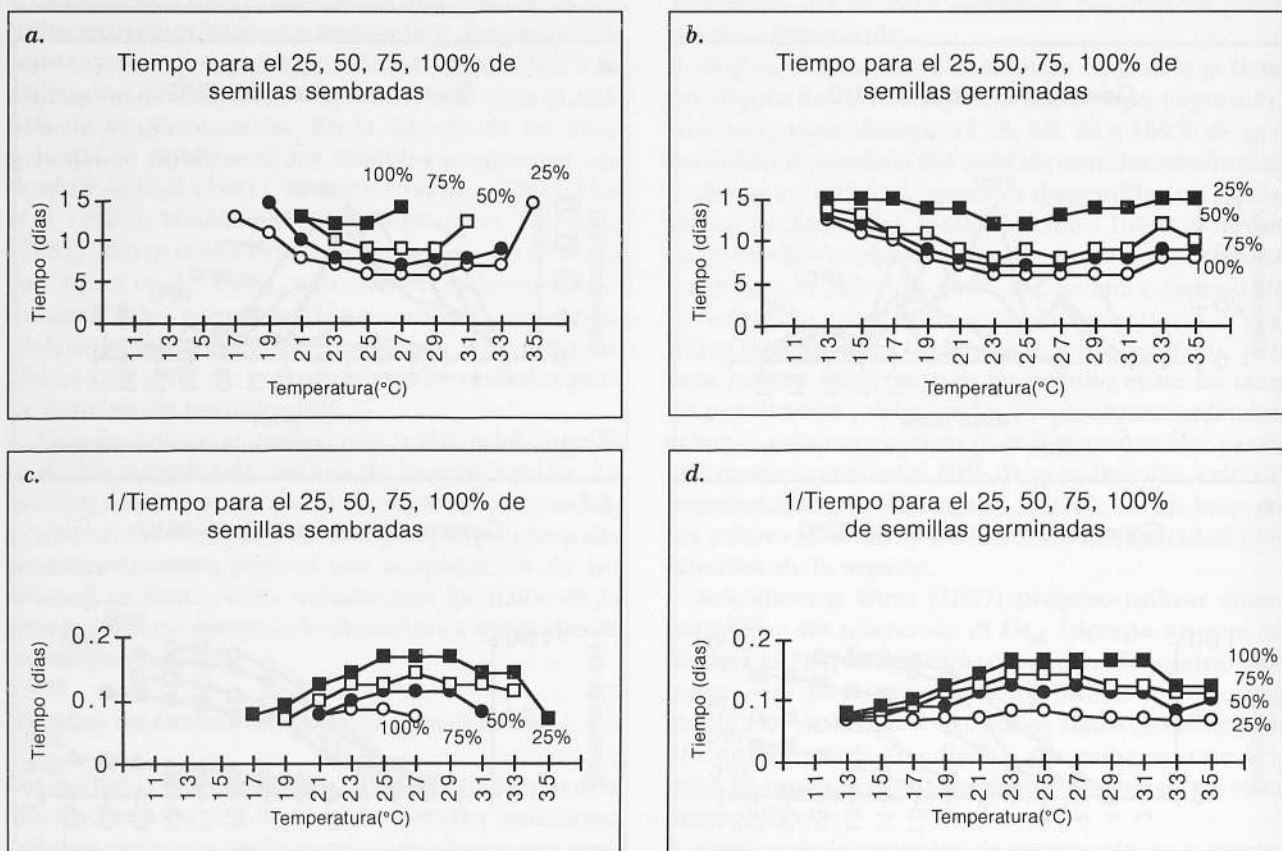


Figura 2. Tiempo en que se presenta el 25, 50, 75 y 100% de germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura a) del total de semillas sembradas y b) del total de semillas germinadas. Recíproco del tiempo en que se obtiene, 25, 50, 75 y 100% c) del total de semillas sembradas y d) del total de semillas germinadas.

mente utilizado, sin embargo, no es estrictamente el valor de la velocidad, sino el recíproco del tiempo medio de germinación (Heydecker, 1973).

4. *Tiempo promedio de germinación* (Côme, 1968), resistencia a la germinación (Gordon, 1971) ó inverso del coeficiente de velocidad (Harrington, 1962). Es una medida del tiempo promedio de germinación que necesitan las semillas para germinar (figura 4b),

$$T = \frac{\sum(n_i t_i)}{\sum n_i}$$

donde T= tiempo promedio de germinación, t_i = número de días después de la siembra, n_i = número de semillas germinadas el día i .

5. *Índice de germinación* (en Scott *et al.* 1984). Utiliza la misma fórmula que en el caso anterior pero lo relaciona con el número de semillas sembradas (figura 4c).

$$IG = \frac{\sum(n_i t_i)}{N}$$

donde IG= índice de germinación, n_i = número de semillas germinadas el día i , t_i = número de días después de la siembra. N= total de semillas sembradas.

Provee una medida del tiempo de germinación en relación con la capacidad de germinación. Este índice, se ve afectado por la capacidad de germinación y no proporciona información acerca de la distribución de los eventos de la germinación en el tiempo. Si se compara la información que da el coeficiente de velocidad con el índice de germinación, se observa que el coeficiente de velocidad refleja más la velocidad en sentido estricto que el índice de germinación, que es más sensible a los cambios en la capacidad de germinación. El inverso del valor de este índice (Côme, 1968) permite linealizar los datos y comparar los tiempos de germinación (figura 4d).

6. *Los índices* de Abbot, de Maguire, de Timson y de Czabator intentan relacionar la capacidad de germinación con el tiempo de germinación:

6.1. *Índice de Abbot* (Abbot, 1955). Expresa la germinación en función del tiempo con coeficientes. Consiste en asignar coeficientes con valor de: 1/1 para las semillas germinadas el primer día, 1/2 para las del segundo día, 1/3 para las del tercer día, etc., y después los suma (figura 5a).

$$IA = \sum \left(n_i \left(\frac{1}{i} \right) \right)$$

donde IA = Índice de Abbot, i = número de día, n = número de semillas germinadas el día i .

6.2. *Velocidad de germinación* (Maguire, 1962). Relación del número de semillas germinadas con el tiempo de germinación (figura 5b),

$$M = \sum \left(\frac{n_i}{t} \right)$$

donde M= velocidad de germinación, n_i = número de semillas germinadas el día i , t = tiempo de germinación desde la siembra hasta la germinación de la última semilla.

6.3. *Coficiente de Timson* (Timson, 1965). Es la sumatoria del número de semillas germinadas diariamente, inversamente relacionado con el tiempo desde el inicio de la siembra. (figura 5c),

$$T = \sum [g_i (j - i + 1)]$$

donde T= coeficiente de Timson, g_i = porcentaje de germinación en el día i , j = número de intervalos de tiempo desde la siembra hasta que germina la última semilla.

6.4. *Valor de germinación* (Czabator, 1962). Es el producto del pico de germinación por la media del número de semillas germinadas cada día. El pico de germinación es definido como el porcentaje de germinación acumulada en el punto de inflexión de la curva, en el cual la tasa de germinación empieza a disminuir (figura 5d),

$$C = pm(t-1)$$

donde C= valor de germinación, p = porcentaje acumulado hasta el pico de germinación, m = porcentaje final de germinación, t = tiempo de germinación desde la siembra hasta que germina la última semilla.

Estos índices son poco recomendados ya que se puede dar el mismo valor a dos poblaciones con comportamiento diferente, por ejemplo, el Índice de Timson podría dar el mismo valor a una población que germina el 90% el primer día y 10% el décimo, que a una población que no germina en los primeros 9 días pero germina el 100% el décimo día. Se considera que el valor de Timson sólo sería un buen parámetro si todas las muestras expresaran la misma capacidad germinativa (Goodchild y Walker, 1971). Sin embargo, si existen diferencias en el porcentaje de germinación diaria, éstas se enmascaran en el valor del índice, por lo que su aplicación no puede ser universal (Janssen, 1973). Además curvas similares que difieren en el tiempo de inicio de la germinación no se pueden diferenciar por este índice (Naylor, 1981).

Lo mismo pasa con el Índice de Czabator aún para los mismos valores del producto $mt-1$, o para los

mismos valores de "p" o "C", el tiempo para alcanzar el valor de "p" puede variar en amplios límites. Igualmente se obtendría el mismo valor de C con curvas de germinación con diferente forma (Goodchild y Walker, 1971). Por otra parte, es difícil definir exactamente qué representa el índice de Czabator o los otros índices en términos fisiológicos.

8. Para medir la uniformidad de la germinación en el tiempo se han propuesto el coeficiente de uniformidad (figura 6a) y el factor de uniformidad (figura 6b), el primero mide el inverso de la varianza y el segundo mide la varianza en el tiempo de germinación.

8.1. Coeficiente de uniformidad de la germinación (Nichols y Heydecker, 1968),

$$CUG = \frac{\sum n_i}{\sum [(g - t_i)^2 n_i]}$$

donde CUG = coeficiente de uniformidad de la germinación, g = tiempo promedio de germinación o

resistencia a la germinación, t_i = número de días después de la siembra, n_i = número de semillas germinadas el día i .

8.2. Factor de uniformidad (Gordon, 1971). Este factor se propone como una medida de la varianza en el tiempo de germinación o de la germinación en el tiempo,

$$U = \frac{\sum [(g - \sum t_i)^2 n_i]}{\sum n_i - 1}$$

donde U = factor de uniformidad, g = tiempo promedio de germinación, t_i = número de días después de la siembra, n_i = número de semillas germinadas el día i .

Ambas fórmulas utilizan el tiempo promedio de germinación o sea el inverso del Coeficiente de Velocidad de Kotowski, en las gráficas correspondientes no se observa, a lo largo del gradiente de temperatura, una tendencia ni en la uniformidad ni en la varianza, sólo resaltan las temperaturas donde la

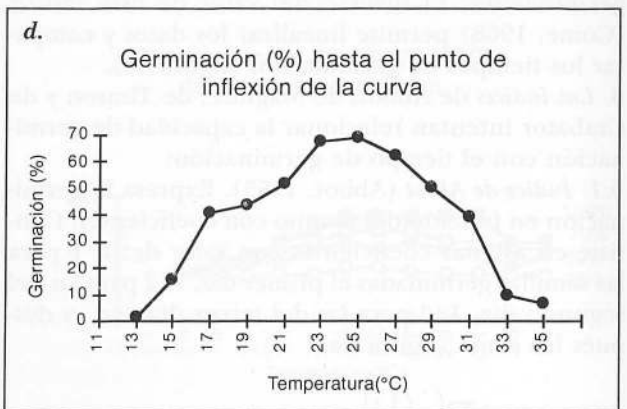
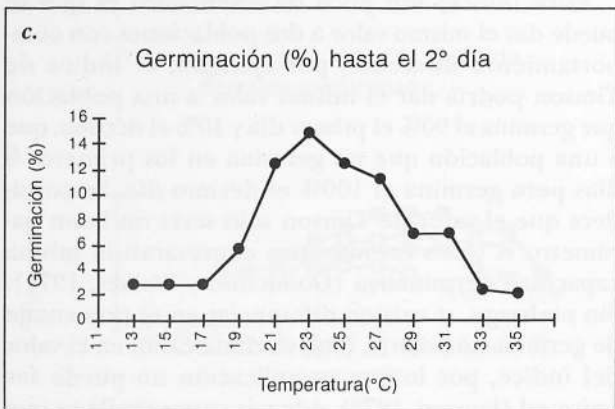
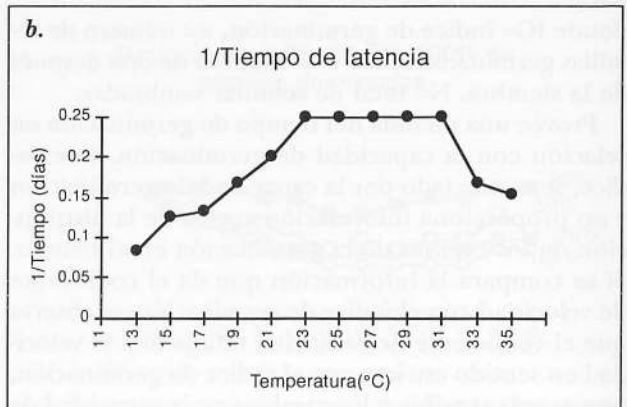
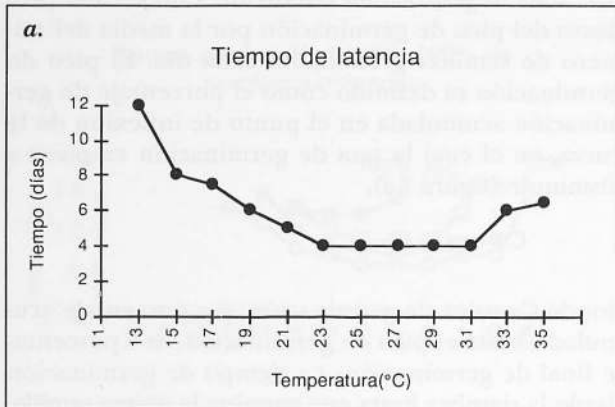


Figura 3. Parámetros de la germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura. a) tiempo de latencia (tiempo necesario para el inicio de la germinación) (Come, 1967), b) inverso del tiempo para el inicio de la germinación, c) porcentaje de germinación a los dos días del inicio de la germinación, d) porcentaje de germinación en el punto de inflexión de la curva.

uniformidad o la varianza es mayor. Por otra parte, si utilizamos en ambas fórmulas directamente el índice de Kotowski, la uniformidad tiene una relación con la temperatura (figuras 6c y 6d). Esta misma tendencia se puede ver, con mayor facilidad, si se calcula la varianza en el tiempo de germinación con el método estadístico establecido para ello (figura 6e).

En la literatura se considera a los índices como métodos analíticos a pesar de que estos valores siguen siendo muy descriptivos, ya que con un solo valor describen el comportamiento de una curva (Janssen, 1973). Sin embargo, pueden ser de valor práctico en actividades como la agronomía, el manejo forestal o en estudios en donde, por su naturaleza, no se requiere de un análisis más profundo.

Ajustes de curvas

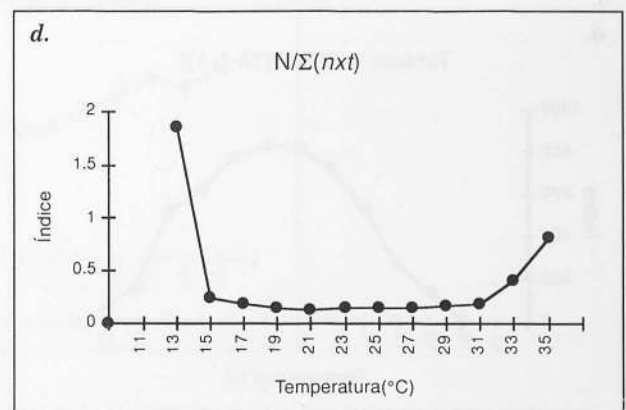
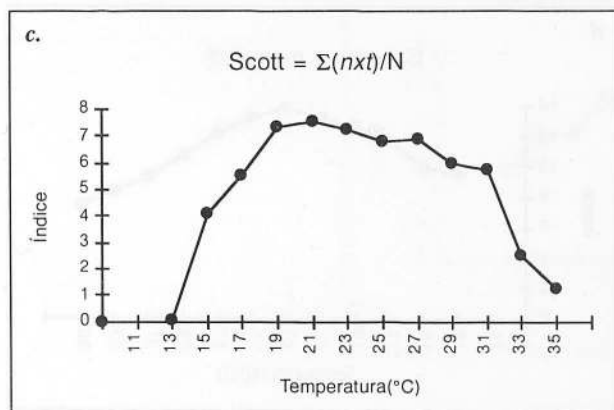
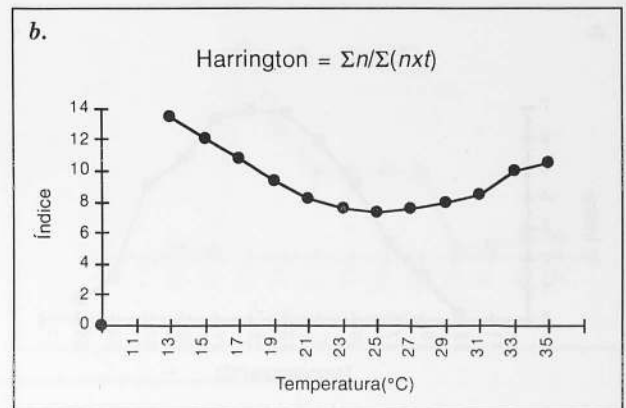
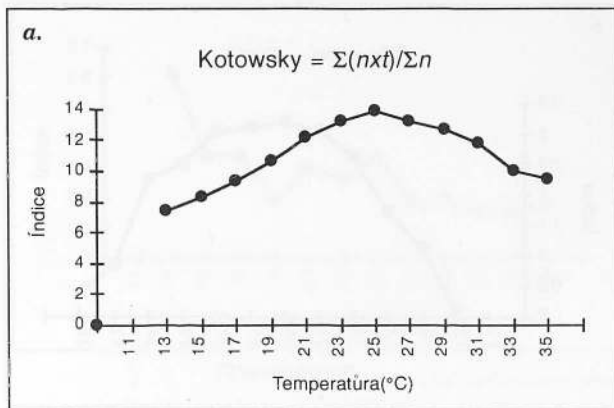
I. Transformación Probit. Es la transformación de algunas curvas acumulativas en líneas rectas. La transformación probit es la probabilidad de que una semilla

individual germine en un tiempo determinado, esto se expresa como:

$$\text{Probit} = \log\left(\frac{P}{1-P}\right)$$

donde P es el porcentaje de germinación.

La graduación de la escala probabilística se hace en unidades de desviación estándar. Estas desviaciones, correspondientes a porcentajes acumulados, se denominan desviaciones equivalentes normales (D.E.N.), las cuales son codificadas mediante la adición de 5.0, lo cual evitará los valores negativos en la mayoría de las desviaciones (Sokal, 1969). La pendiente de cada recta ajustada a los valores de D.E.N sería el valor de la tasa de germinación en cada temperatura (figuras 7a y 7b). El ajuste de las curvas con una Transformación Probit es fácil de realizar, y puede ser un método riguroso que permite la comparación de tratamientos inductivos (Berrie y Taylor, 1981). Sin embargo, cuando los datos no presentan una distri-



4. Índices de germinación para *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura a) Coeficiente de velocidad de Kotowski (1926), b) tiempo promedio de germinación de Come (1968), Gordon (1971) y Harrington (1962), c) índice de germinación de Scott (1984), d) inverso del índice de germinación de Scott (1984) calculados para la germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura.

bución normal, los primeros días de germinación (en que la tasa es más rápida) y los últimos días (en los que la tasa es más lenta), provocan que el ajuste no sea el mejor.

2. *Regresión polinomial ortogonal* (Goodchild y Walker, 1971). Consiste en ajustar curvas estándar por el método de regresión polinomial. Resultan regresiones de primer orden (lineales) (para curvas de porcentaje acumulado) (figuras 7c y 7d) y de segundo orden (cuadrática, figuras 8a y 8b) (para porcentajes diarios de germinación). El orden de ajuste se determina por el método de residuales eligiendo el que presenta la sumatoria más reducida.

lineal: $y = b + mx$

cuadrático: $y = a + bx + cx^2$

3. *Función de distribución normal*. Usa esencialmente el método de Gauss-Newton para encontrar un ajuste de mínimos cuadrados a una serie de datos.

$$F(t, a, \tau) = \sum a_j \Phi_j(t, \tau)$$

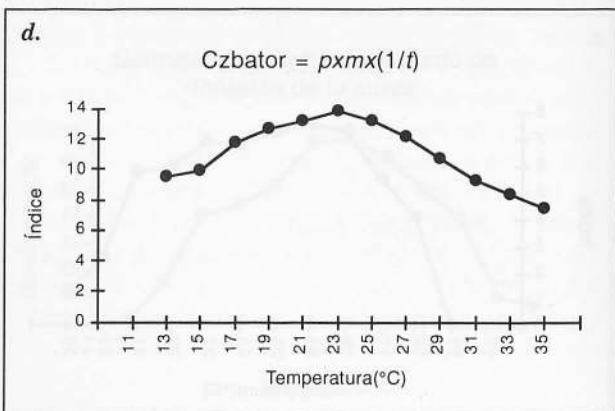
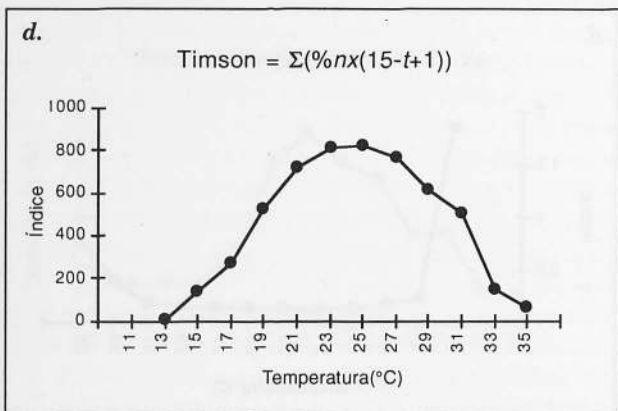
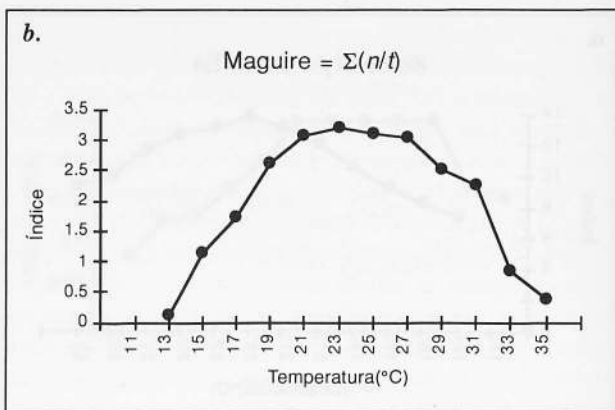
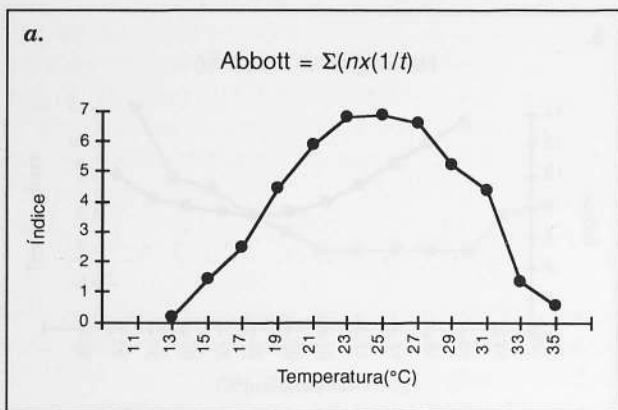
$$F(t, a, \tau) = a e^{-\tau_1(t - \tau_2)^2}$$

o con la función de densidad normal (figuras 8c y 8d):

$$F = \left(\frac{I}{\sigma\sqrt{2\pi}} \right) e^{-\frac{(x-m)^2}{2\sigma^2}}$$

donde F = función de distribución normal. $\tau_2 = m =$ media del tiempo de germinación. $\tau_1 = \sigma =$ desviación estándar. a = cercanamente relacionado a s y al total de la suma acumulada. I = porcentaje final de germinación.

4. *Función de Richards* (Richards, 1959) (para porcentajes de germinación acumulados). En 1959, Richards extendió la función de crecimiento de Von Bertalanffy (derivada de consideraciones teóricas para el crecimiento de animales) para incluir parámetros m mayores que la unidad (Berry et al. 1988).

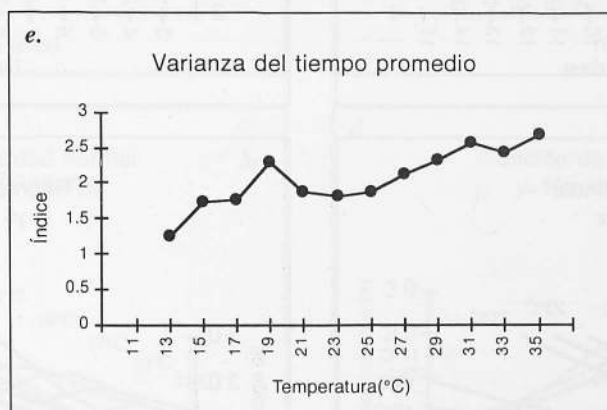
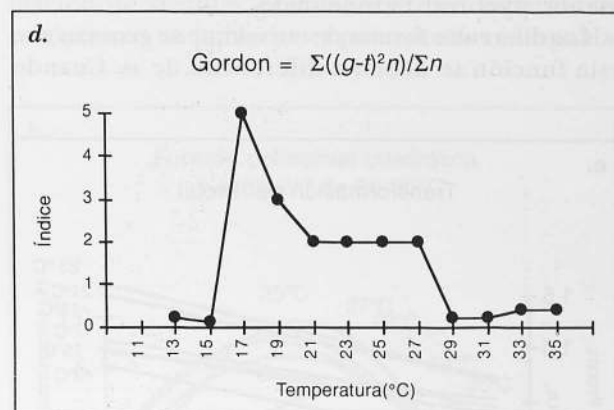
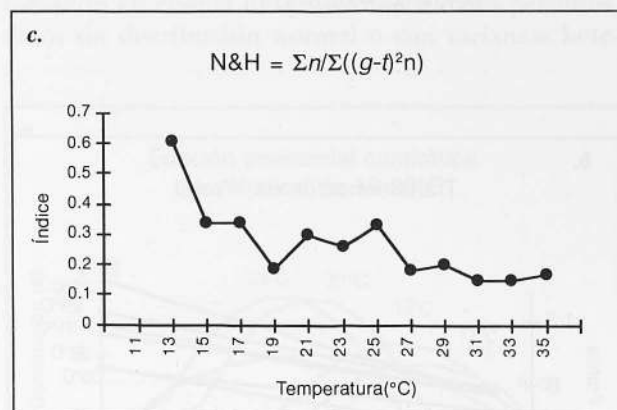
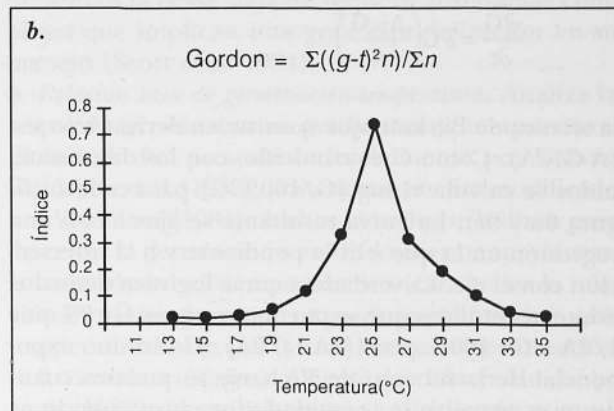
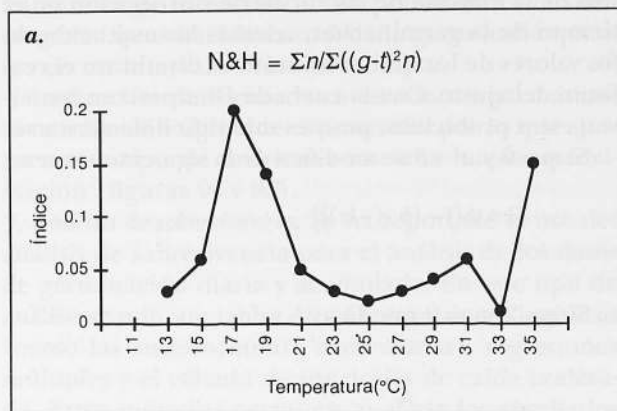


5. Los índices de Abbot, de Maguire, de Timson y de Czbator (intentan relacionar la capacidad de germinación con el tiempo de germinación) calculados para la germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura. a) índice de Abbot (Abbot, 1955); b) velocidad de germinación (Maguire, 1962); c) coeficiente de Timson (Timson, 1965) y d) valor de germinación (Czbator, 1962).

$$G = A \left(1 \pm b e(-kt) \left(\frac{1}{1-m} \right) \right)$$

donde G= porcentaje de germinación en el tiempo t ,

A= número máximo de semillas germinadas, b = un parámetro escala dependiente (inicio de la germinación), k = tasa a la cual la función G cambia (velocidad de germinación), m = parámetro de la forma de la curva (posición del punto de inflexión).



6. Medidas de uniformidad y varianza en el tiempo promedio de germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura *a*) coeficiente de uniformidad (Nichols y Heydecker, 1968); *b*) factor de uniformidad (Gordon, 1971), *c*) cálculo del coeficiente de uniformidad sustituyendo en la fórmula el valor de g por $1/g$, *d*) factor de uniformidad haciendo la misma sustitución en la fórmula que en el caso anterior y *e*) cálculo de la varianza por métodos estadísticos convencionales.

Los principales parámetros de germinación: A , b , k , y m deben estimarse a partir de la muestra. En dinámica de poblaciones se estima b y k con la técnica de Berkson (1953) que consiste en calcular una regresión con la primera derivada de la función de Richards:

$$\frac{\partial G}{\partial t} = bG \left(\frac{A-G}{A} \right)$$

la técnica de Berkson que consiste en derivar k (o sea $(A-G)/A$). Como G es conocido, con los datos obtenidos se calcula el $\log [G/100\%-G]$ para cada t , (figura 9a y 9b). La curva resultante se ajusta con una regresión en la que k es la pendiente y b la intersección con el eje. La verdadera curva logística tiene dos límites asintóticos que se pueden sustituir, $G=0\%$ por $1/2A$ y $G=100\%$ por $((2A-1)/2A)$. El término exponencial de la función de Richards es positivo cuando m es mayor que la unidad y negativo cuando es menor, para $m=1$ es indefinido.

Las diferentes formas de curvas que se generan con esta función se deben a diferencias de m . Cuando

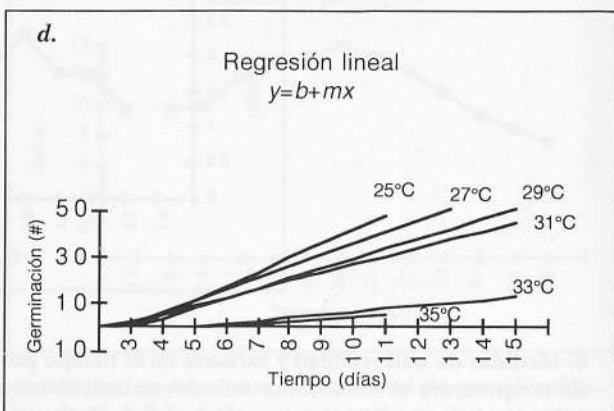
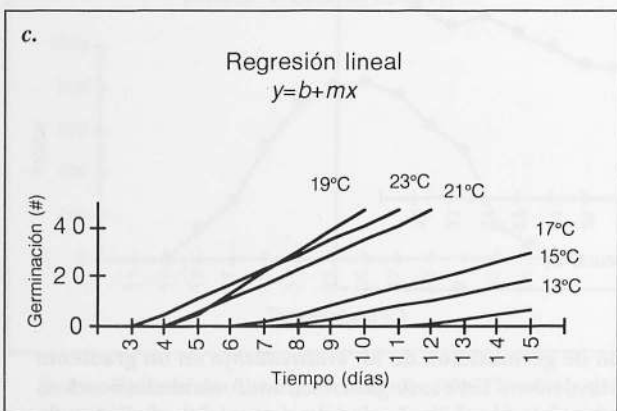
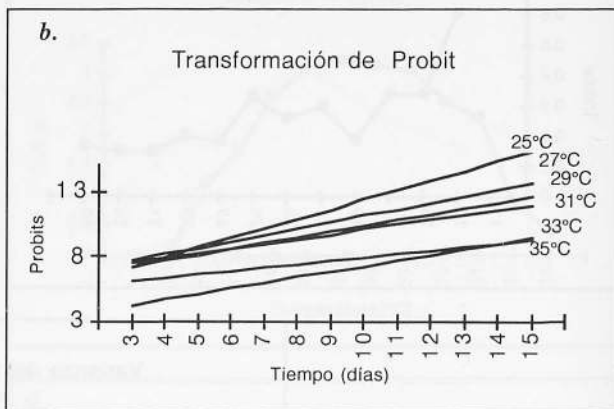
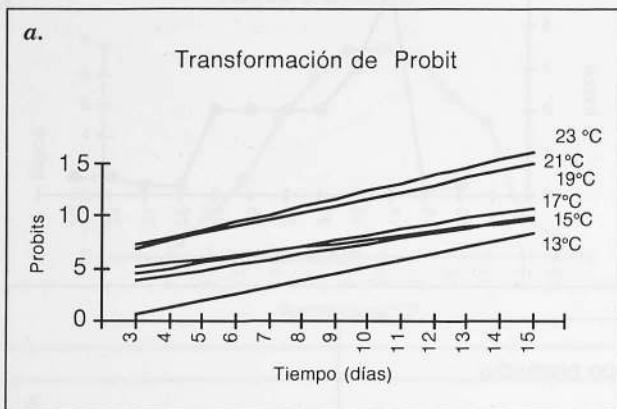
$m = 0$, $m = 1$, o $m = 2$ la función de Richards utiliza las modificaciones Monomolecular, Gompertz, o Logística respectivamente. De acuerdo con el tipo de curva de germinación se utiliza una u otra de las variantes de la función, pero hay que tomar en cuenta que la curva logística es simétrica y no refleja el sesgo positivo de la mayoría de las curvas de distribución en el tiempo de la germinación, además la sustitución de los valores de los límites asintóticos disminuye el realismo del ajuste. Con la curva de Gompertz se resuelven estos problemas, pero es más difícil de ajustarse.

Si $m = 0$ y $a = 0$ se modifica de la siguiente manera:

$$G = A(1 - (b e^{-kt}))$$

Si $m = 2$ y $a = 0$ queda así:

$$G = \frac{A}{(1 + (b e^{-kt}))}$$



7. Ajuste de las curvas porcentaje acumulado de la germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura a) y b) con una transformación Probit. c) y d) con regresión polinomial de primer orden (lineales).

Si $m=2$ y A es diferente de 0 queda así:

$$G = A(1 - (be - (a + kt)))$$

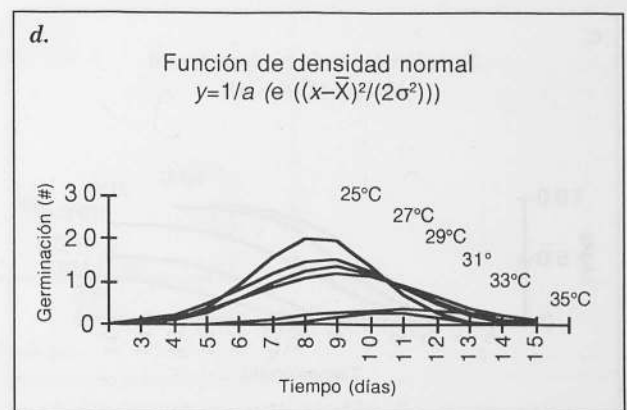
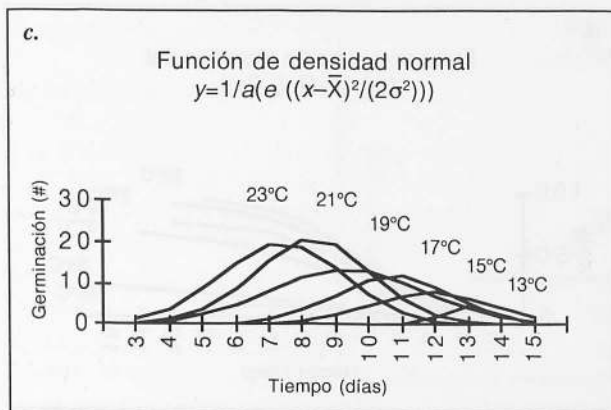
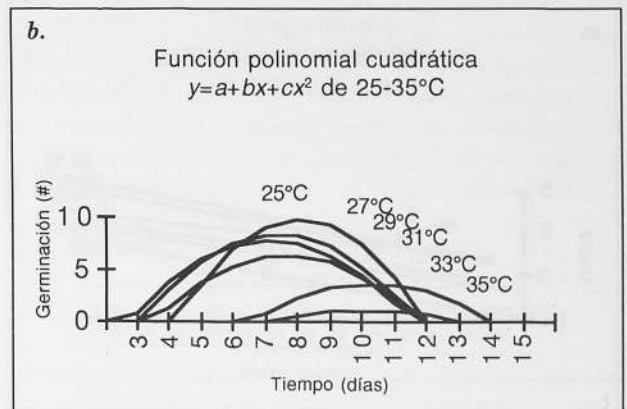
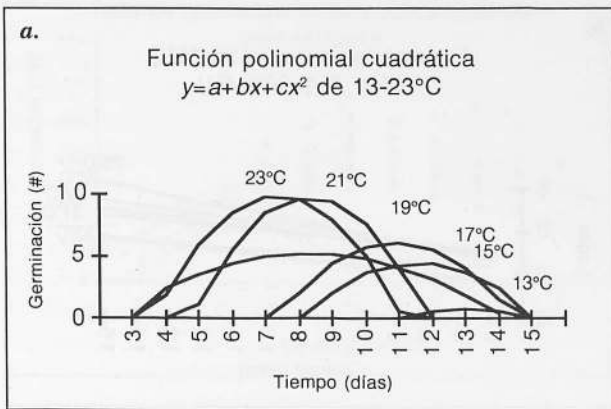
El ajuste de la curva no es bueno en los casos en que 1) A es muy pequeña, 2) hay grandes cambios durante la germinación y 3) la población es tan homogénea que virtualmente toda la germinación ocurre en un intervalo breve de tiempo.

La función de Richards en términos matemáticos es una función sigmoide exponencial por lo que ajustes a este tipo de funciones son una buena aproximación (figuras 9c y 9d).

5. *Análisis de sobrevivencia.* Se ha reportado el uso del análisis de sobrevivencia para el análisis de los datos de germinación diaria y acumulada. En este tipo de análisis se utilizan: tablas de vida, regresiones logísticas (como las anteriormente comentadas), regresiones múltiples y el cálculo de funciones de caída acelerada. Estos métodos permiten analizar los resultados tomando en cuenta observaciones o datos perdidos, datos sin distribución normal o con varianzas hete-

rogéneas o resultados que reflejan germinación prácticamente simultánea (por lo tanto difícil de comparar entre tratamientos), el último caso se analiza por el método de caída acelerada. El análisis de sobrevivencia también permite calcular curvas predictivas para diferentes combinaciones de variables. Sin embargo, presentan la desventaja de requerir programas complejos que implican una gran especialización en su manejo (Scott *et al.* 1984).

6. *Relación tasa de germinación-temperatura.* Analiza la respuesta germinativa en gradientes de temperatura. El método fue presentado inicialmente por García-Huidrobo *et al.* (1982), posteriormente fue modificado por Washitani (1984). Ambos métodos se utilizan para describir la germinación en diferentes temperaturas, la variación en el tiempo térmico (caracteriza la relación entre temperatura y tasa de germinación) y las temperaturas base (en la cual la tasa de germinación es 0 o tiende a infinito). Al igual que García-Huidrobo *et al.* (1982), el análisis se inicia dividiendo a la población de semillas germinadas (en temperaturas subóptimas) en poblaciones porcentuales (sub pobla-



8. Ajuste de las curvas de la germinación diaria de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura, a) y b) con una regresión polinomial ortogonal (Goodchild y Walker 1971), c) y d) ajuste de las mismas curvas con una función de densidad normal.

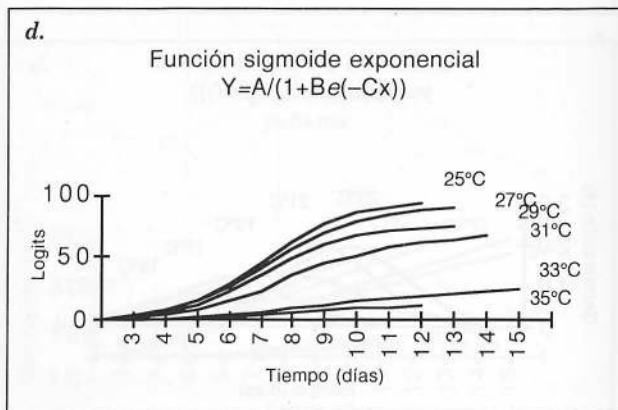
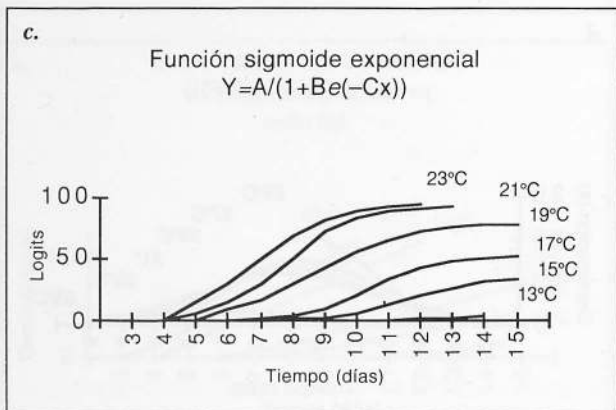
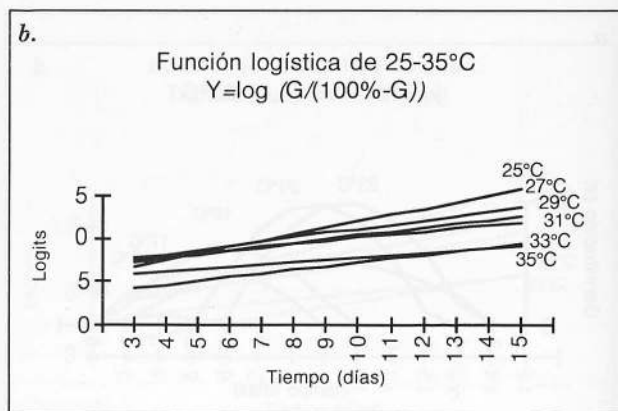
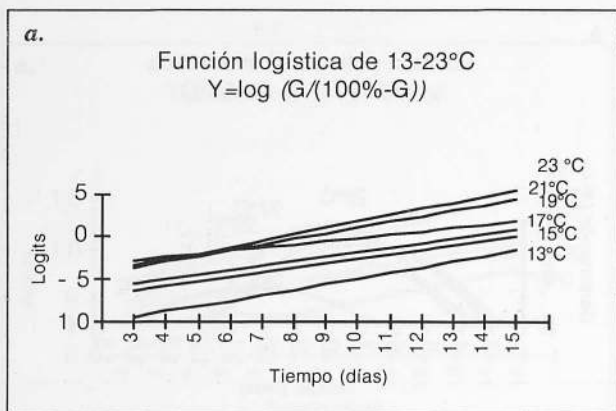
ción). Después se calcula la tasa de germinación (recíproco del tiempo), de cada subpoblación en cada temperatura. Con estas tasas se generan curvas para cada subpoblación y los valores de la porción ascendente de cada curva se ajustan a rectas, con las que se calcula el tiempo térmico y la temperatura base. Cuando no se tienen las tasas de germinación para las temperaturas supraóptimas (lo que sería la parte descendente de cada curva), Washitani (1984) propone calcularlas con una fórmula que se basa en que la germinación tiene generalmente una distribución normal, por lo que sustituye las medias y las varianzas del ajuste de las rectas (calculadas para la porción ascendente) en una función de distribución.

$$G' = \left(\frac{G}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int e^{\left[\frac{-(x-\mu)^2}{2\sigma^2} \right]} dx \right)$$

donde G' = porcentaje de germinación (x), G = porcentaje final de germinación, μ = media del tiempo de germinación, σ = desviación estandar.

Con los valores de las rectas ajustadas se calcula el tiempo térmico (recíproco de la pendiente) y las temperaturas base (intercepto de la recta y el eje de la temperatura), posteriormente el tiempo térmico para cada porcentaje de germinación se ajusta a una función log normal o a una recta (figura 10a, b, c). Este método no incluye los valores obtenidos en las temperaturas óptimas, debido a que muchas veces dificultan el ajuste de los valores a rectas. Aún así, para lograr este ajuste a veces se tienen que descartar valores, lo que implica pérdida de la información y no considerar a la germinación en gradientes continuos como un proceso integral. Resulta un método adecuado para curvas de tasas de germinación en un gradiente que no presentan una meseta (Covel *et al.*, 1986).

7. Orozco-Segovia *et al.* (en prensa) proponen una función gaussiana para describir y analizar la relación entre la temperatura y la tasa de germinación con la que se calcula el tiempo térmico y la temperatura base (figura 11a). Las tasas germinativas de cada subpoblación (igual que en 6) se ajustan con la siguiente



9. Ajuste de curvas de porcentaje acumulado de la germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura a) y b) cálculo de una regresión lineal con la primera derivada de la Función de Richards, c) y d) ajuste de las mismas curvas con una función sigmoide exponencial.

fórmula:

$$F(T,x) = A e - (B(\theta - 1)^2)$$

donde θ = cociente entre cada temperatura y la temperatura óptima, A = función que describe el comportamiento de la tasa de germinación en la temperatura óptima, B = parámetro de forma de la curva gaussiana ($1/[\sigma^2]$).

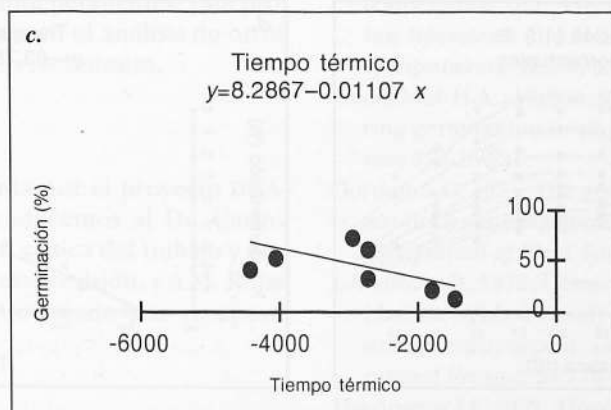
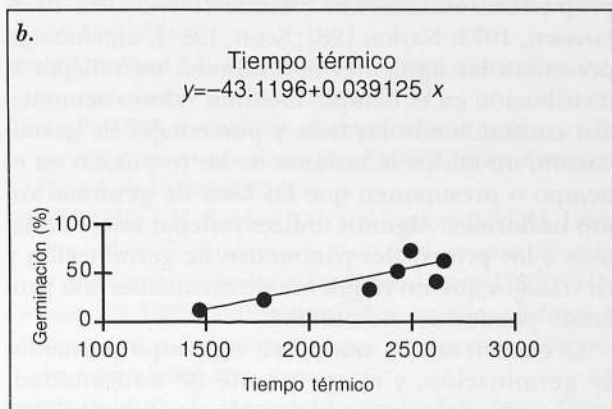
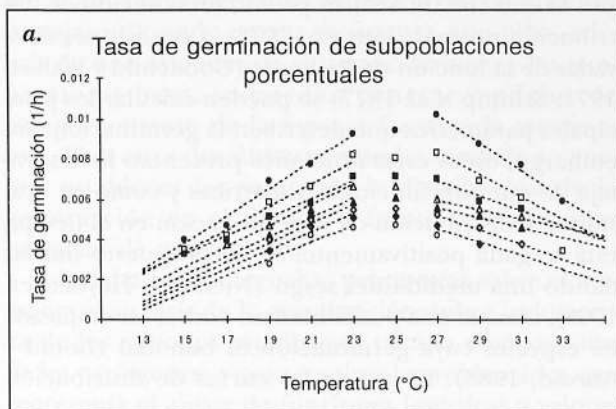
La temperatura base se definió como la intersección entre la tangente al punto de inflexión y el eje de la temperatura. El tiempo térmico como el recíproco de la pendiente de la tangente del punto de inflexión de la curva. Este modelo considera a la germinación en gradientes continuos como un proceso integral, por lo que incluye todo el rango de temperaturas (óptimas, subóptimas y supraóptimas). Las curvas gaussianas son fáciles de calcular y permiten la comparación de otros parámetros de la distribución normal, como sesgo y kurtosis, que permitirían

caracterizar y comparar el comportamiento de una población de semillas frente a un rango de variables ambientales. El tiempo térmico se ajusta como en 6 (figura 11b).

8. También es muy útil el uso de las funciones gamma y el modelo de Weibull para describir y analizar en forma integral respuestas germinativas que presentan un sesgo muy marcado, ya sea en el tiempo de germinación o en la capacidad germinativa, en un gradiente de temperaturas, o de otro factor (Bonner y Dell, 1976; Thornley, 1977).

Discusión

Existe una amplia gama de métodos que se utilizan en el análisis de la respuesta germinativa, pero muchos de ellos no proveen toda la información que se requiere para todas las situaciones. La presentación y el análisis de la germinación se puede limitar a la germinación acumulada final, lo que representa información valiosa en sí misma, o bien profundizar



10. Método de Washitani (1984) para calcular: a) Curvas de las tasas de germinación de las subpoblaciones porcentuales de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura, b) relación del porcentaje de germinación y el tiempo térmico, para temperaturas subóptimas, c) relación de porcentaje de germinación y el tiempo térmico, para temperaturas supraóptimas.

hasta conocer la dinámica del proceso germinativo y poder establecer modelos predictivos.

La elección del método para analizar los datos dependerá del objetivo del trabajo y de su trascendencia; de cuanta información queremos obtener sobre el comportamiento germinativo de la especie y de qué tan fielmente queremos que nuestro modelo o que nuestros índices reflejen el proceso germinativo que se está analizando, y de si se quiere que los resultados sean comparables.

Sobra decir que el valor del trabajo y del análisis también debe estar sustentado en un diseño experimental adecuado, con una metodología cuidadosamente diseñada y aplicada en una población de semillas que ha sido colectada y almacenada en condiciones ideales, de la cual se debe determinar su máxima capacidad germinativa y las características de su latencia.

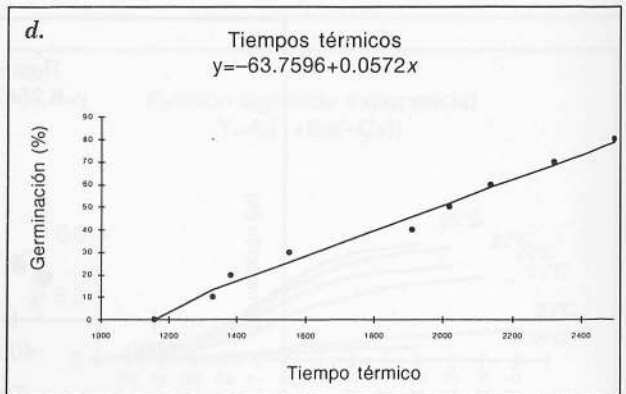
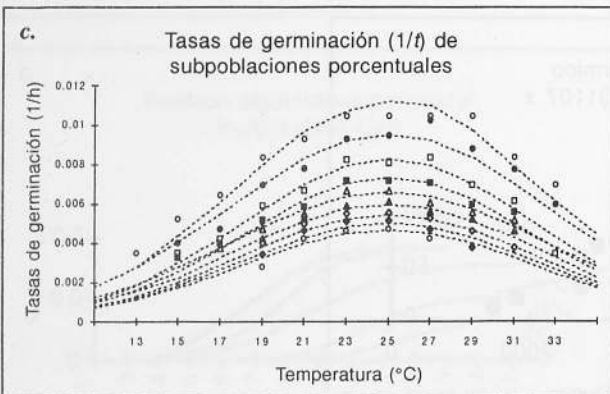
En esta revisión se mostraron diversos índices y fórmulas para evaluar la germinación, muchos de los cuales no pueden ser aceptados ampliamente por limitaciones en su aplicabilidad o interpretación (Hsu *et al.* 1984). Por ejemplo, la mayoría de los índices propuestos son fáciles de calcular (Heydecker, 1973; Janssen, 1973; Naylor, 1981; Scott, 1984), sin embargo presentan las siguientes limitaciones: no reflejan la distribución en el tiempo, incluyen valores acumulados confundiendo las tasas y porcentajes de germinación, no miden la varianza de las respuestas en el tiempo o presuponen que las tasas de germinación son uniformes. Algunos índices reflejan valores relativos a los principales parámetros de germinación y en trabajos que no requieran de un análisis más profundo pueden ser de utilidad.

El coeficiente de velocidad, el tiempo promedio de germinación, y el coeficiente de uniformidad,

pueden usarse como valores relativos y tienen la ventaja de que son fáciles de calcular en hojas de cálculo (Lotus, Quattro, Excell, etc.). Sin embargo, con estos mismos programas o con programas apropiados (Inplot, Statistica, etc.) se pueden ajustar funciones logísticas, las cuales proporcionan información más precisa sobre patrones de comportamiento y sobre la dinámica del proceso germinativo. Por lo que, el mejor método para estudiar la dinámica de la germinación en relación con componentes bioquímicos y fisiológicos es aquel que mide los cambios en las tasas de germinación y en la capacidad germinativa.

Las curvas de germinación, por lo general, tienen la misma forma paramétrica, pero hay importantes diferencias en el comportamiento entre las poblaciones que son evidentes y que se reflejan en los puntos de inflexión, en la pendiente, en el punto de inicio y el punto límite y, en la bondad del ajuste; ya que distintas combinaciones de factores generan curvas con formas diferentes (Goodchild y Walker, 1971).

Por lo general, la mayoría de las curvas acumulativas de germinación son sigmoides (Berry *et al.* 1988), por lo que con un análisis probit, una función de distribución normal (Janssen, 1973) o ecuaciones derivadas de la función de Richards (Goodchild y Walker, 1971; Schimp *et al.* 1977) se pueden calcular los principales parámetros que describen la germinación. Sin embargo, todas estas funciones presentan la desventaja de que son funciones simétricas y como en ocasiones la distribución de la germinación en el tiempo está sesgada positivamente, se ha propuesto usarlas dando una medida del sesgo (Nichols y Heydecker, 1968), aunque esta posibilidad no podría ser empleada en especies cuya germinación es bimodal (Bould y Abrold, 1988). El uso de las curvas de distribución



11. Método de Orozco-Segovia *et al.* (1996) para calcular: a) Curvas de las tasas de germinación de las subpoblaciones porcentuales de la germinación de *M. brachystachya* en un gradiente de temperatura de 13 a 35 °C, b) relación tiempo térmico porcentaje de germinación y tiempo térmico calculado con base en las curvas de las tasas de germinación para cada subpoblación.

normal se basa en el hecho de que es muy grande el número de factores ambientales que determinan la respuesta germinativa de las semillas. Estos factores pueden ser determinados genéticamente o por las condiciones de crecimiento de las plantas maternas, por lo cual podemos esperar que la germinación de semillas de una población esté distribuida normalmente (Janssen, 1973).

En *Manfreda brachystachya* (la especie con la que se ilustran los métodos) la mayoría de las curvas acumulativas de la germinación en un gradiente de temperatura fueron sigmoides. El modelo que describe mejor la relación entre la temperatura y la germinación fue una función sigmoide exponencial, con la cual se obtuvo: la tasa, la capacidad germinativa y la forma de la curva. Para las curvas de germinación diaria se logró un mejor ajuste con un modelo de densidad normal, que provee información sobre el comportamiento de la población en una temperatura dada, proporcionando el tiempo promedio de germinación y su varianza y por lo tanto la uniformidad del proceso. Por otra parte, la relación dinámica entre la tasa de germinación y la temperatura se establece con mayores ventajas utilizando curvas gaussianas, con ellas, además de que se obtienen el tiempo térmico y las temperaturas base, se pueden generar modelos de comportamiento de la especie frente a la temperatura. Con estos dos últimos métodos también se pueden establecer los sesgos de la distribución de la germinación en el tiempo o frente a condiciones extremas de temperatura.

Aún falta realizar muchas propuestas sobre el manejo y el análisis de la germinación; sobre todo acerca de los métodos estadísticos para la comparación de los parámetros, y para resolver la problemática que representa el ajuste de funciones logísticas a valores que en algunos casos no son independientes. Esta problemática se presenta también en el análisis de otros procesos biológicos como el crecimiento.

Agradecimientos

Esta investigación fue apoyada por el proyecto DGA-PA-UNAM (IN 207892). Agradecemos al Dr. Carlos Vázquez-Yanes por su revisión crítica del trabajo y por haber propuesto el tema de esta revisión, y a M. Rojas Arechiga y M. E. Sánchez Coronado por su apoyo técnico.

Literatura citada

- Abbot D.L. 1955. Temperature and the dormancy of apple seeds. *XIVth International Horticulture Congress. La Haye-Scheveningen* I:746-753.
- Angus J.F. Cunningham R.B. Moncur M.W. y Mackenzie D.H. 1981. Phasic development in field crops. I Thermal response in the seedling phase. *Field Crops Research* 3:365-378.
- Barton L.V. 1967. *Bibliography of Seeds*. Columbian University Press, New York.
- Berkson J. 1953. Statistically precise and relatively simple method of estimating the bioassay with quantal response based on the logistic function. *Journal of American Statistical Association* 48:565-599.
- Berrie A.M. Taylor G.C.D. 1981. The use of population parameters in the analysis of germination of lettuce seed. *Physiologia Plantarum* 51:229-233.
- Berry G.J., Cawood R.J. Flood R.G. 1988. Curve fitting of germination data using the Richards function. *Plant, Cell and Environment* 11:183-188.
- Bewley J.D. y Black M. 1994. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. 2a ed. Plenum Press, New York.
- Bewley J.D. y Black M. 1978. *Physiology and Biochemistry of seed. Vol I. Development germination and growth*. Springer Verlag
- Black M. 1970. Seed germination and dormancy. *Science Program Oxford* 58:379-393
- Booner F.T. y Dell T.R. 1976. The Weibull function: a new method of comparing seed vigor. *Journal of Seed Technology* 1:96-103
- Bould A. & Abrol B.K. 1981. A model for seed germination curves. *Seed, Science & Technology* 9:601-611
- Côme D. 1968. Problèmes de terminologie posés par la germination et ses obstacles. *Bulletin Société Française Physiologie Végétale* 14:3-9.
- Covell S., Ellis R.H. Roberts E.H. and Summerfield R.J. 1986. The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. *Journal of Experimental Botany* 178:705-715.
- Czabator F.J. 1962. Germination index: an index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest Science* 8:386-396.
- García-Huidrobo J., Montith J.L., Squire G.R. 1982. Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides* S. and H.). Constant temperature. *Journal of Experimental Botany* 33:288-296.
- Goodchild H.A., Walker M.G. 1971. A method of measuring germination in physiological studies. *Annals of Botany* 35:615-621.
- Gordon A.G. 1971. The germination resistance test - a new test for measuring germination quality of cereals. *Canadian Journal of Plant Science* 51:181-183.
- Gramshaw D. 1972. Germination of annual ryegrass seeds (*Lolium rigidum* Gaud) as influenced by temperature storage environment, and age. *Australian Journal of Agricultural Research* 23:779-787.
- Harrington J.F. 1962. The effect of temperature on the germination of several kinds of vegetable seeds. *XVIIth International Horticulture Congress. Bruxelles* II:435-441.
- Heydecker W. 1973. *Seed ecology*. Proc. 19th Easter School in Agriculture Science University of Nottingham, London.

- Hsu F.H. Nelson C. J. and Chow W.S. 1984. A mathematical model to utilize the logistic function in germination and seedling growth. *Journal of Experimental Botany* **35**:1629-1640.
- Janssen J.G.M. 1973. A method of recording germination curves. *Annals of Botany* **37**:705-708.
- Kanemasu E.T., Bark D.L., Choy E.C. 1985. Effect of soil temperature on sorghum emergence. *Plant and Soil*. **243**:411-417
- Kotowsky W. 1926 Temperature relations to germination of vegetables seed. *Proceedings American Society Horticulture Science* **23**:176-184
- Maguire J.D. 1962. Speed of germination—aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science* **2**:176-177
- Naylor R.E.L. 1981. An evaluation of various germination indices for predicting differences in seeds vigour in italian ryegrass. *Seed Science & Technology* **9**: 593-600.
- Nichols M. and Heydecker W. 1968. Two approaches to the study of germination data. *Proceedings International Seed Testing Association* **33**:531-540.
- Orozco-Segovia A., González-Zertuche, L. Mendoza, A. Orozco S. 1996. A mathematical model that uses Gaussian distribution to analyze the germination of *Manfreda brachystachya* (Agavaceae) in a thermogradient. *Physiologia Plantarum* (en prensa).
- Richards F.J. 1959. A flexible grown function for empirical use. *Journal of Experimental Botany* **10**:290-300.
- Sokal R.R. and Rohlf F.J. 1969. *Biometry*. W.H. Freeman, San Francisco.
- Schimp D.J., Flint S.D. and Palmblad I.G. 1977. Representation of germination curves with the logistic function. *Annals of Botany* **41**:1357-1360.
- Scott S.J. Jones R.A. Williams W.A. 1984. Review of data analysis methods for seed germination. *Crop Science* **24**:1129-1199.
- Shibuya T.C. and Hayasi I. 1981. A mathematical model for the time variation of the rate of seed germination. *Japanese Journal of Ecology* **34**:361-363.
- Thornley J.H.M. 1977. Germination of seeds and spores. *Annals of Botany* **41**:1363-1365.
- Thompson P.A. 1970. Characterization of the germination response to temperature of species and ecotypes. *Nature* **225**:827-831.
- Timson J. 1965. A new method of recording germination data. *Nature* **207**:216-217.
- Washitani I. 1984. Germination responses of a seed population of *Taraxacum officinale* Weber to constant temperatures including the supraoptimal range. *Plant, Cell and Environment* **7**:655-659.
- Washitani I. and Takenaka A. 1984. Germination responses of a non dormant seed population of *Amaranthus patulus* Bertol. to constant temperatures in the suboptimal range. *Plant, Cell and Environment* **7**:353-358.
- Went F.W. 1957. Experimental control of plant growth. *Chronica Botanica Waltham, MA*.