

## Calidad fisiológica de semillas de *Physalis ixocarpa* en función de madurez a cosecha y condiciones de almacenamiento\*

### *Physalis ixocarpa* physiological seed quality in terms of maturity at harvest and storage conditions

Ignacio Pérez Camacho<sup>1†</sup>, Víctor Arturo González Hernández<sup>1§</sup>, Óscar Javier Ayala Garay<sup>1</sup>, José Alfredo Carrillo Salazar<sup>1</sup>, Gabino García de los Santos<sup>1</sup>, Aureliano Peña Lomeli<sup>2</sup> y Elia Cruz Crespo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Recursos Genéticos y Productividad. Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo. Carretera México-Texcoco, km 35.5. Montecillo, Texcoco, Estado de México. C. P. 26530. (oayala@colpos.mx), (asalazar@colpos.mx), (garciag@colpos.mx). <sup>2</sup>Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco, km. 38.5. Chapingo, Estado de México. C. P. 56235. (lomeli@correo.chapingo.mx). <sup>3</sup>Facultad de Agronomía. Universidad Autónoma de Nayarit. Carretera Tepic-Compostela, km 9. Xalisco, Nayarit, México. C. P. 63780. (ccruz2006@yahoo.com.mx). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: vagh@colpos.mx.

#### Resumen

El deterioro de la semilla durante el almacenamiento reduce su capacidad germinativa y el establecimiento de plántulas en campo. En semillas de *Physalis ixocarpa* Brot., se desconocen los niveles de los factores ambientales que afectan su longevidad germinativa y su desempeño fisiológico durante el almacenamiento, en función del estado de desarrollo a la cosecha. En esta investigación se evaluó semilla de la variedad Chapingo cosechada en tres estados de desarrollo (45, 55 y 65 días después de la polinización), en tres periodos de almacenamiento (0, 4 y 8 meses) combinados con cinco ambientes que incluyeron dos temperaturas (23.8 y 5.3 °C) y dos niveles de humedad relativa (24 y 81%). Se encontró que la semilla puede mantener su capacidad germinativa inicial (70%), por al menos durante 8 meses cuando se almacena en baja humedad relativa (24%) o en frío (5 °C), ya que la combinación de alta humedad relativa (81%) y temperatura de 23 °C causan el deterioro de la semilla. El deterioro se manifiesta en reducciones de germinación de 70 a 29%, viabilidad de 81 a 46%, velocidad de emergencia de radícula de 20.4 a 9.9 radículas por día, velocidad de emergencia de la parte aérea de 6.3 a 2.3 plántulas por día, respiración de 16.1 a 6.6 nmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> y en un aumento en

#### Abstract

Seed deterioration during storage reduces germination and seedling establishment in the field. For *Physalis ixocarpa* Brot. seeds the levels of environmental factors that affect its germination longevity and physiological performance during storage, depending on the state of development at harvest are unknown. For this research, variety Chapingo seeds harvested at three stages of development were evaluated (45, 55 and 65 days after pollination), in three storage periods (0, 4 and 8 months) combined with five environments including two temperatures (23.8 and 5.3 °C) and two relative humidity levels (24 and 81%). It was found that, the seeds can maintain its initial germination capacity (70%) for at least 8 months when stored under low relative humidity (24%) or cold (5 °C), since the combination of high relative humidity (81%) and temperature of 23 °C cause degradation in the seeds. The deterioration is manifested in reduced germination from 70 to 29%, viability from 81 to 46%, radicle rate of emergence from 20.4 to 9.9 radicles per day, rate of emergence of the aerial part from 6.3 to 2.3 seedlings per day, respiration from 16.1 to 6.6 nmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup> and an increase in electrical conductivity from 32 to 97 μS

\* Recibido: septiembre de 2011  
Aceptado: diciembre de 2011

conductividad eléctrica de 32 a 97  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ . Las semillas de 55 días de edad ya han alcanzado la madurez fisiológica, pues germinan igual y con el mismo vigor que las semillas de 65 días. Las semillas inmaduras de 45 días ya poseen capacidad de germinar, aunque 10% menos que la semilla madura y con menor vigor.

**Palabras clave:** conductividad eléctrica, germinación, humedad relativa, respiración, temperatura.

## Introducción

En el manejo comercial de semillas hortícolas los factores más importantes que reducen su viabilidad son la alta humedad ambiental y la alta temperatura, y sobre todo el alto contenido de humedad de la semilla (Copeland y McDonald, 2001; Melgoza *et al.*, 2003; Pozo *et al.*, 2008; Ruiz *et al.*, 2008). La importancia de este factor en la preservación de las semillas, radica en el papel del agua en los procesos fisiológicos que determinan el vigor y la longevidad de las semillas, así como en el desarrollo de insectos y hongos de almacén (Vadillo *et al.*, 2004; Castro *et al.*, 2006; Bradford y Nonogaki, 2007).

En semillas ortodoxas, el contenido de humedad (CH) es probablemente el factor más importante que determina su longevidad. Si se reduce el CH se reduce también la respiración y se desacelera el envejecimiento de la semilla, por lo que se prolonga su viabilidad. Según la FAO (1991), con contenidos de humedad en base húmeda oscilando entre 0 y 4% el almacenamiento es muy seguro, siempre y cuando se haga en condiciones herméticas; de 8 a 9%, hay una importante reducción en la actividad de insectos; de 12 a 14% se inicia la posibilidad de desarrollo de hongos; de 18 a 20% la semilla puede calentarse (debido a una tasa alta de respiración y liberación de energía); y de 45 a 60% empieza la germinación.

Según Walters *et al.* (2005), con la deshidratación ocurren varias funciones, esencialmente bioquímicas, protectoras de paredes y organelos celulares; sin embargo, también puede haber efectos perjudiciales que desvanecen los efectos protectores y fomentan daños en las células de la semilla. Por tanto, es necesario conocer los procesos que ocurren al cambiar el nivel de hidratación, así como los mecanismos adversos que dan lugar a efectos deletéreos.

$\text{cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ . Seeds of 55 days of age have already reached physiological maturity, since they germinate with the same vigor that the seeds of 65 days. Immature seeds of 45 days do have ability to germinate, although 10% less than mature seed and with less vigor.

**Key words:** electrical conductivity, germination, relative humidity, respiration, temperature.

## Introduction

In the vegetable seed business management, the major factors that reduce its viability are high humidity and high temperature, and especially the high moisture content of the seed (Copeland and McDonald, 2001, Melgoza *et al.*, 2003; Pozo *et al.*, 2008; Ruiz *et al.*, 2008). The importance of this factor in the preservation of seeds is the role of water in the physiological processes that determine the strength and longevity of seeds and, the development of storage insects and fungi (Bradford and Nonogaki, 2007; Castro *et al.*, 2006; Vadillo *et al.*, 2004).

In orthodox seeds, moisture content (MC) is probably the most important factor that determines its longevity. By reducing the MC is also reduced respiration and slows the aging of the seeds, thus extending its viability. According to FAO (1991), with a moisture content in wet basis ranging between 0 and 4%, the storage is quite safe, only if it's done in sealed conditions; from 8 to 9%, there is a significant reduction in insect activity, from 12 to 14% starts the possibility of development of fungi from 18 to 20% of the seed can be heated (due to a high rate of respiration and energy release) and 45 to 60% germination starts.

According to Walters *et al.* (2005), with dehydration occur several functions, essentially biochemical protective cell walls and organelles, but may also have adverse effects that blur the protective effects and promote cell damage on the seeds. It is therefore necessary to know the processes that occur by changing the level of hydration, and the adverse mechanisms that lead to deleterious effects.

Some physiological changes in the cell tissues that may be associated with physiological aging of the seeds are: 1) loss of food reserves due to respiration, and protein and

Algunos cambios fisiológicos en los tejidos celulares que pueden estar asociados con el envejecimiento fisiológico de las semillas son: 1) pérdida de reservas nutritivas debida a la respiración, como de proteínas y azúcares no reductores, en tanto que los azúcares reductores y ácidos grasos libres se incrementan; 2) acumulación de subproductos tóxicos de la respiración o inhibidores del crecimiento; 3) pérdida de actividad de los sistemas enzimáticos; 4) pérdida en la capacidad de las proteínas desecadas para recombinarse y formar moléculas protoplásmicas activas en una rehidratación ulterior; 5) envejecimiento de membranas celulares semipermeables; 6) peroxidación de lípidos, lo que hace que se liberen radicales libres que reaccionan y dañan a otros componentes celulares; y 7) alteraciones del ADN nuclear, que producen mutaciones genéticas y daño fisiológico (Palma *et al.*, 2000; Copeland y McDonald, 2001; Delouche, 2002; Rivera *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2009). No está claro hasta qué punto estos efectos originan deterioro, pero se ha propuesto que la producción de radicales libres es el primer efecto del daño por envejecimiento que sufren los diversos sistemas de la célula.

Estos mecanismos se pueden presentar durante el almacenamiento y causar el envejecimiento de la semilla, el cual disminuye el porcentaje de germinación, la velocidad de crecimiento de la plántula y la tolerancia a condiciones adversas (Bradford, 2004; Estrada *et al.*, 2005; Quinto *et al.*, 2009). Un síntoma del envejecimiento de semillas es la disminución del tamaño de la plántula producida, que es un indicador de su vigor. El vigor de semillas y el envejecimiento están fisiológicamente ligados, en forma recíproca o inversa con la calidad de semillas. El envejecimiento tiene una connotación negativa, mientras que el vigor tiene una connotación positiva; el vigor disminuye a medida que el envejecimiento aumenta. Envejecimiento es el proceso de deterioro y muerte de las semillas, y vigor es el principal componente de la calidad que afectado por el deterioro. Las relaciones del envejecimiento con la germinación y con el vigor son similares (Delouche, 2002; Jara *et al.*, 2006; Mapula *et al.*, 2008).

Cualquiera que sea el mecanismo preciso del deterioro de semillas, en las semillas ortodoxas la pérdida de viabilidad es un fenómeno regido en gran medida por la respiración. Es probable que las condiciones que reduzcan la tasa de respiración sin dañar la semilla, prolonguen su vida en almacén; estas condiciones se pueden propiciar con bajos valores de contenido de oxígeno, de humedad y de temperatura.

non-reducing sugars, while reducing sugars and free fatty acids increase; 2) respiration toxic byproducts accumulation or growth inhibitors; 3) loss of activity of enzyme systems; 4) loss in the ability of proteins to recombine and form dried protoplasmic molecules active in a subsequent rehydration; 5) semipermeable membranes cellular aging; 6) lipid peroxidation, which causes to release free radicals that react and damage other cellular components; 7) nuclear DNA alterations, that produce physiological damage and genetic mutations (Palm *et al.*, 2000 ; Copeland and McDonald, 2001; Delouche, 2002; Rivera *et al.*, 2007; Zhou *et al.*, 2009). It is unclear to what extent these effects originate deterioration, but it has been proposed that production of free radicals is the first effect of aging damage suffered by various cellular systems.

These mechanisms may occur during storage and cause aging of the seed, which decreases the percentage of germination, the rate of seedling growth and tolerance to adverse conditions (Bradford, 2004; Estrada *et al.*, 2005; Fifth *et al.*, 2009). A symptom of aging of seeds is the decrease on size of the seedling produced, which is an indicator of vigor. Seed vigor and aging are physiologically linked, on a reciprocal or inverse to the quality of the seeds. Ageing has a negative connotation, while vigor has a positive connotation; the vigor decreases as the aging increases. Aging is the process of decay and death of seeds, and vigor is the main component of quality affected by deterioration. The relations between aging and germination and with vigor are quite similar (Jasmin, 2002; Jara *et al.*, 2006; Mapula *et al.*, 2008).

Whatever the precise mechanism of degradation of the seeds; for the orthodox seeds, viability loss phenomenon is largely governed by its respiration. It is likely that, the conditions that reduce the respiration rate without damaging the seed prolong its shelf life; these conditions can lead to low values of oxygen content, humidity and temperature.

In tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot) and many other species is common to observe that, the stored seeds rapidly lose viability with storage temperatures above 30 °C, a condition that occurs frequently in cellars farmlands. However, the technology exists to achieve proper storage conditions to preserve the physiological quality of orthodox seeds for long periods, but its high cost makes it inaccessible to most users, particularly in developing countries (Copeland and McDonald, 2001; Lacerda *et al.*, 2003; Lezcano *et al.*, 2007).

En tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot) como en muchas otras especies, es común observar que la semilla almacenada pierde rápidamente la viabilidad con temperaturas de almacenamiento superiores a 30 °C, condición que ocurre frecuentemente en bodegas de campos agrícolas. No obstante, existe la tecnología para lograr condiciones de almacenamiento adecuadas, para preservar la calidad fisiológica de las semillas ortodoxas por largos periodos, pero su alto costo la hace poco accesible para la mayoría de los usuarios, particularmente en los países en desarrollo (Copeland y McDonald, 2001; Lacerda *et al.*, 2003; Lezcano *et al.*, 2007).

El objetivo de este estudio fue analizar el efecto de dos temperaturas y dos humedades relativas, aplicadas durante el almacenamiento de semillas de tomate de cáscara cosechadas en tres etapas de desarrollo del fruto, sobre sus características de germinación, vigor, respiración y conductividad eléctrica.

## Materiales y métodos

Se utilizó semilla de tomate de cáscara variedad CHF1-Chapingo, producida durante el ciclo primavera-verano de 2008, extraída de frutos cosechados en tres etapas del desarrollo (45, 55 y 65 días después de la floración; 40 frutos por etapa). Las semillas se secaron a la sombra durante 8 días; al final su contenido de humedad era de 5.7%.

### Ambientes de almacenamiento

Se evaluaron cinco ambientes (tratamientos) de almacenamiento de semilla, que incluyeron las combinaciones de dos temperaturas con dos niveles de humedad relativa, más un testigo, como se detalla en el Cuadro 1. Los dos niveles de humedad se generaron dentro de frascos de plástico de 14\*14\*24 cm, mediante la adición de una solución saturada de cloruro de sodio (como agente humidificador) o de sílica gel (como agente desecante). Las dos temperaturas de almacenamiento fueron: 23.8 °C en un cuarto de germinación y 5.3 °C en un cuarto frío. El tratamiento testigo consistió en una bodega no climatizada con temperatura y humedad variables. Para registrar la temperatura y humedad relativa en los ambientes de almacenamiento se utilizaron sensores HOBO H8-032-08 (Onset Computer Corporation, USA).

The aim of this study was to analyze the effect of two temperatures and two relative humidities, applied during the storage of tomato seeds harvested in three stages of fruit development on the germination characteristics, vigor, respiration and electrical conductivity.

## Materials and methods

We used tomatillo seeds CHF1-Chapingo variety, produced during the spring-summer 2008 cycle, extracted from fruits harvested at three stages of development (45, 55 and 65 days after flowering, 40 fruits per stage). The seeds were dried in the shade for 8 days; at the end, its moisture content was about 5.7%.

### Storage environments

Five seed-storage environments (treatments) were evaluated, including combinations of two temperatures with two levels of relative humidity, plus a control, as detailed in Table 1. The two levels of moisture generated within plastic bottles 14\*14\*24 cm, by adding a saturated solution of chloride sodium (as a humidifying agent) or silica gel (as a drying agent). The two storage temperatures were: 23.8 °C in one germination room and 5.3 °C in a cold room. The control treatment consisted of a room with no temperature control, with variable temperature and humidity. To record the temperature and relative humidity in the storage environments, HOBO H8-032-08 (Onset Computer Corporation, USA) sensors were used.

### Storage experiment and experimental design establishment

At 4 cm above the base of each vessel, a wire mesh fixed on a wooden support was placed, and on the mesh were placed 100 seeds per replication, wrapped in porous cloth bags (silk tulle); the bags were deposited on the wire mesh inside the bottles, they are hermetically sealed and placed in different storage environments. After being stored, the seeds were subjected to assessments of physical and physiological quality, respiration and electrical conductivity, which in 2009 were made in the seed testing laboratory of the Graduate College located in Montecillo, Mexico State. The experimental design was a randomized

**Cuadro 1. Condiciones de temperatura y humedad relativa de los ambientes de almacenamiento evaluados en semillas de tomate de cáscara.****Table 1. Temperature and relative humidity storage environments evaluated in tomatillo seeds.**

Ambiente	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Sustrato y lugar de almacenamiento
1	23.8 ±0.3	81.4 ±2.9	Cloruro de sodio en cuarto de germinación
2	23.8 ±0.3	24.1 ±0.8	Sílica gel en cuarto de germinación
3	5.3 ±0.4	81.4 ±2.9	Cloruro de sodio en cuarto frío
4	5.3 ±0.4	24.1 ±0.8	Sílica gel en cuarto frío
5	18.2 ±5	41.2 ±10	Testigo (bodega sombreada)

**Establecimiento del experimento de almacenamiento y diseño experimental**

A 4 cm arriba de la base de cada frasco, se puso una malla de alambre fijada en un soporte de madera, y sobre la malla se colocaron 100 semillas por repetición, envueltas en bolsas de tela porosa (tul de seda); las bolsas se depositaron sobre la malla de alambre en el interior de los frascos; éstos se sellaron herméticamente y se colocaron en los diferentes ambientes de almacenamiento. Después de ser almacenadas, las semillas se sometieron a evaluaciones de la calidad física y fisiológica, respiración y conductividad eléctrica, las cuales se hicieron en 2009 en el laboratorio de análisis de semillas del Colegio de Postgraduados ubicado en Montecillo, Estado de México. El diseño experimental fue de bloques completos al azar con arreglo factorial de tratamientos, con cuatro repeticiones. Los tratamientos se conformaron con la combinación de tres edades de la semilla (45, 55 y 65 días después de polinización), tres tiempos de almacenamiento (0, 4 y 8 meses) y cinco ambientes de almacenamiento.

**Contenido de humedad**

Se calculó con la fórmula de Bewley y Black (1994), en cuatro repeticiones de 100 semillas las cuales se pesaron y posteriormente se deshidrataron durante 72 h a 72 °C en una estufa (Thelco 31480, USA).

**Calidad fisiológica**

Para la prueba de germinación se utilizaron cuatro repeticiones de 100 semillas. Las semillas se colocaron en cajas petri con papel filtro humedecido, y se metieron en una germinadora SD8900 (Seedburo Inc., USA) a 25 ±1 °C por 8 días, según las normas de la ISTA (2004). Como variables de vigor de semillas, en este experimento se calculó la velocidad

complete block with factorial arrangement of treatments with four replications. The treatments were formed by the combination of three seed ages (45, 55 and 65 days after pollination), three storage times (0, 4 and 8 months) and five storage environments.

**Moisture content**

Calculated with the formula of Bewley and Black (1994), in four replications of 100 seeds which were weighed and then dehydrated for 72 h at 72 °C in an oven (Thelco 31480, USA).

**Physiological quality**

For the germination test four replications of 100 seeds were used. The seeds were placed in Petri dishes with moistened filter paper, and placed in a germinator SD8900 (Seedburo Inc., USA) at 25 ±1 °C for 8 days, according to ISTA rules (2004). As seed vigor traits in this experiment we calculated the rate of emergence of radicle and aerial parts, with the formula of Maguire (1962) using the number of radicles and aerial parts emerged every 24 h. Also, at the end of the test determined the percentages of germination and viability (the latter calculated as the sum of the number of normal seedlings + the number of abnormal seedlings).

**Respiration**

The respiration was evaluated every 24 h for 7 days in four replications of 100 seeds randomly placed in Petri dishes. At each sample, the respiratory activity of the seed was measured (nmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>) with a photosynthetic apparatus CI-301PS (CID Inc., Canada), and the average respiration rate per treatment was calculated.

de emergencia de radícula y de la parte aérea, con la fórmula de Maguire (1962) que utiliza el número de radículas y de partes aéreas emergidas cada 24 h. Además, al final de la prueba se determinaron el porcentajes de germinación y de viabilidad (esta última calculada como la suma del número de plántulas normales + el número de plántulas anormales).

### Respiración

La respiración se evaluó cada 24 h durante 7 días en cuatro repeticiones de 100 semillas colocadas al azar en cajas petri. En cada muestreo se midió la actividad respiratoria de la semilla ( $\text{nmol CO}_2 \text{g}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) con un aparato de fotosíntesis CI-301PS (CID Inc., Canada), y se calculó el promedio de la tasa de respiración por tratamiento.

### Conductividad eléctrica

El efecto de los meses de almacenamiento en la permeabilidad de las membranas celulares, se determinó en la solución de imbibición de las semillas mediante la conductividad eléctrica ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ), y se midió en cuatro repeticiones de 100 semillas tomadas al azar. Antes de la imbibición la semillas se pesaron, y luego se embebieron en 60 mL de agua desionizada a 25 °C durante 24 h. Se usó un aparato de conductividad Modelo 72729 (Oakton, Singapore).

### Análisis estadístico de los datos

En cada variable se realizó un análisis de varianza en el que los factores fueron edad de la semilla, tiempo y ambientes de almacenamiento, así como sus respectivas comparaciones de medias. Para las comparaciones de medias se utilizó la prueba de Tukey, mediante el programa estadístico SAS versión 2009.

## Resultados y discusión

Los análisis de varianza efectuados indicaron que hubo efecto significativo de los tres efectos principales evaluados (edad de la semilla, periodo de almacenamiento, y condiciones ambientales del almacén), así como de la interacción entre condiciones por periodos de almacenamiento y de la interacción entre temperatura por humedad relativa del ambiente. En función de lo anterior, a continuación se presentan los promedios de tratamientos por cada factor y sus respectivas comparaciones de medias, y los promedios de las interacciones significativas.

### Electrical conductivity

The effect of the months of storage on the permeability of cellular membranes was determined in the solution imbibition of seeds by the electrical conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ), and was measured in four replicates of 100 seeds randomly taken. Before the imbibition, the seeds were weighed and then soaked in 60 mL of deionized water at 25 °C for 24 h. A conductivity device Model 72729 (Oakton, Singapore) was used.

### Data statistical analysis

In each variable, an analysis of variance was done, where the factors were age of the seed, time and storage environments, and their respective mean comparisons. For the comparison of means the Tukey test was used, SAS statistical software version 2009.

## Results and discussion

The analyses of variance showed that, the significant effect on the three main evaluated aspects (seed age, storage time and environmental conditions of storage) and, the interaction between periods of storage conditions and the interaction between temperatures by relative humidity. Based on this, the averages of the treatments for each factor and their comparison of means, and the means of significant interactions are hereby presented.

### Storage conditions effect

By comparing the storage conditions evaluated, it was clearly noted that only when the high temperature (23.8 °C) was combined with high relative humidity (81.4%), is that there was reduction of germination capacity and viability of tomatillo seeds (Table 2). This strong interaction effects between temperature and humidity on the germination of tomatillo seeds is illustrated in Figure 1. For its part, the control treatment for the rustic cellar without climate control did not affect germination and viability of the seeds but, the temperature rose at 23 °C and relative humidity rose at 51%.

In the treatment that caused deterioration of the seed (23.8 °C and 81.4% RH), electrical conductivity (EC) of the solution of imbibition increased significantly, indicating that in this condition the seeds lost solutes by leaching, that, according to Copeland and McDonald (2001), is due to the damage on cellular membranes. Moreover, these conditions caused the moisture content on the seed to triple, from 5.7 to 15.2%,

### Efecto de las condiciones de almacenamiento

Al comparar las condiciones de almacenamiento aquí evaluadas, fue notorio que solamente cuando la temperatura alta (23.8 °C) se combinó con alta humedad relativa (81.4%), es que hubo reducción de la capacidad germinativa y de la viabilidad de las semillas de tomate de cáscara (Cuadro 2). Este fuerte efecto de la interacción entre temperatura y humedad del ambiente sobre la germinación de semillas de tomate de cáscara, se ilustra en la Figura 1. Por su parte, el tratamiento testigo correspondiente al almacenamiento en bodega rústica sin control del clima, no afectó la germinación ni la viabilidad de las semillas aunque la temperatura subió hasta 23 °C y la humedad relativa se elevó hasta 51%.

which is attributed to such storage conditions changed the hygroscopic equilibrium of the seed, as noted by Copeland and McDonald (2001).

According to FAO (1991), seeds with 10 to 12% humidity can allow the development of fungi in their tissues and when the humidity is from 18 to 20% it can be heated, due to a rapid rate of respiration and release of energy, from both the seed itself and the microorganisms that proliferate in it. In this experiment the respiration of seeds at the end of storage was lower than in other treatments, probably because in these environmental conditions, tissue damaged had reduced its metabolic capacity. As a result of loss of solute and the elevation of the moisture content in the seeds, they were deteriorated.

### Cuadro 2. Efecto del ambiente de almacenamiento (temperatura y humedad relativa) en el comportamiento de semillas de tomate de cáscara, promedio de tres edades de semilla y tres periodos de almacenamiento.

Table 2. Storage environment effect (temperature and relative humidity) on the behavior of tomatillo seeds, average on three seed ages and three storage periods.

T	HR	V	G	Vrad	Vpa	R	CE	CH							
18.2±5	41.2±10	81.4	a	69.8	a	20.4	a	6.3	a	16.1	a	32	b	5.7	bc
5.3±0.4	81.4±2.9	79.7	a	66.3	a	19.3	a	5.8	a	15	a	34.5	b	7.4	b
23.8±0.3	24.1±0.8	78	a	65.8	a	19	a	5.9	a	15.1	a	36.8	b	2.7	c
5.3±0.4	24.1±0.8	77.6	a	64.9	a	19.4	a	5.8	a	14.9	a	37.4	b	3.8	c
23.8±0.3	81.4±2.9	46	b	29.3	b	9.9	b	2.3	b	6.6	b	97.1	a	15.2	a

T= temperatura (°C); HR= humedad relativa (%); V= viabilidad (%); G= germinación (%); Vrad= velocidad de emergencia de radícula (radículas día<sup>-1</sup>); Vpa= velocidad de emergencia de parte aérea (plántulas día<sup>-1</sup>); R= respiración (nmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>); CE= conductividad eléctrica (μS cm<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>); CH= contenido de humedad de la semilla (%). Valores con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

En el tratamiento que causó deterioro de la semilla (23.8 °C y 81.4% de HR), la conductividad eléctrica (CE) de la solución de imbibición aumentó notablemente, lo que indica que en esta condición las semillas perdieron solutos por lixiviación, que según Copeland y McDonald (2001), es debida al daño en las membranas celulares. Además, tales condiciones provocaron que el contenido de humedad de la semilla se triplicara, de 5.7 a 15.2%, lo que se atribuye a que tales condiciones de almacenamiento cambiaron el equilibrio higroscópico de la semilla, como señalaron Copeland y McDonald (2001).

De acuerdo con la FAO (1991), la semilla con 10 a 12% de humedad puede permitir el desarrollo de hongos en sus tejidos y cuando tiene de 18 a 20% puede calentarse, debido a una tasa rápida de respiración y liberación de energía, tanto de la propia semilla como de los microorganismos que en ella proliferen. En este experimento la respiración de las semillas al final del almacenamiento fue más baja

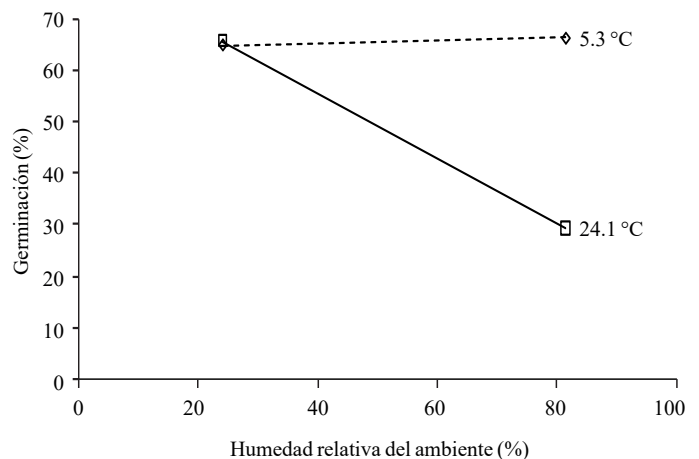


Figura 1. Efecto de la interacción entre temperatura y humedad relativa del ambiente de almacenamiento, en la germinación de semillas de tomate de cáscara.

Figure 1. Effect on the interaction between temperature and relative humidity of storage, on tomatillo seeds germination.

que en los demás tratamientos, probablemente porque en estas condiciones ambientales el deterioro de tejidos había reducido la capacidad metabólica. Como consecuencia de la pérdida de solutos y de la elevación del contenido de humedad en las semillas, éstas resultaron deterioradas.

Estos resultados indican que estas condiciones de temperatura y humedad relativa (23 °C y 81% de humedad relativa) pueden servir para medir el vigor de semillas de tomate de cáscara, o para inducirles deterioro mediante envejecimiento acelerado. En pepino (*Cucumis sativa* L.), la pérdida de viabilidad de semillas envejecidas a 38 °C y 100% humedad relativa, estuvo asociada con aumento de la CE y peroxidación de lípidos de la membrana (Smith y Berjak, 1995). El aumento en CE se considera evidencia de un incremento en la permeabilidad de las membranas celulares de la semilla, que conduce a la pérdida de su integridad fisiológica o física. Según Bradford y Nonogaki (2007), el deterioro de las membranas en semillas se debe a una disminución de fosfolípidos, carbohidratos y proteínas, así como a la reducción en la actividad de la peroxidasa, durante el secado en la maduración.

Estos resultados también permiten inferir que las semillas de tomate de cáscara, pueden mantener su calidad fisiológica hasta por 8 meses, en temperaturas hasta de 24 °C si la humedad relativa se mantiene por debajo de 40%, o en humedades relativas hasta 81% si la temperatura se mantiene baja a 5 °C. Además, se pueden obtener condiciones apropiadas de almacenamiento, para cantidades pequeñas semillas de tomate de cáscara, mediante el uso de desecantes como sílica gel que permitan reducir la humedad relativa, o de cuartos fríos para disminuir la temperatura ambiental y conservar mayores volúmenes de semilla.

### **Efecto del estado de desarrollo de la semilla**

En cuanto al estado de desarrollo de la semilla (Cuadro 3), se observó que las semillas inmaduras de 45 días ya poseen capacidad de germinar, aunque 10% menos que la semilla madura de 55 ó 65 días de edad; además, la semilla inmadura también mostró menor vigor que las semillas maduras, ya que presentó valores menores de velocidad de emergencia de radícula y parte aérea, así como de tasa respiratoria. Esto coincide parcialmente con Martínez *et al.* (2004), quienes indicaron que el mayor porcentaje de germinación en semillas de tomate de cáscara, se alcanza a los 63 días pospolinización. Un comportamiento similar también fue observado por Modi y White (2004) en semillas de tomate

These results indicate that these conditions of temperature and relative humidity (23 °C and 81% relative humidity) can serve to measure the vigor of tomatillo seeds, or to induce damage by accelerated aging. In cucumber (*Cucumis sativa* L.), loss of viability of seeds aged at 38 °C and 100% relative humidity was associated with an increased EC and lipid peroxidation of the membrane (Smith and Berjak, 1995). The increase in EC is considered evidence of an increase in the permeability of cellular membranes of the seed, which leads to the loss of its physical or physiological integrity. According to Bradford and Nonogaki (2007), the deterioration of the membranes in the seed is due to a decrease in phospholipids, carbohydrates and proteins, as well as the reduction in the activity of peroxidase, during drying in the maturation.

These results also infer that tomatillo seeds, can maintain their physiological quality for up to 8 months at temperatures up to 24 °C if the relative humidity remains below 40%, or up to 81% relative humidity if the temperature is kept at 5 °C. Furthermore, proper storage conditions can be obtained for small amounts of tomatillo seeds using silica gel as desiccant to reduce the relative humidity, or cold rooms to reduce the ambient temperature and retain larger amounts of seed.

### **Seed development status effect**

Regarding the status of seed development (Table 3), we observed that immature seeds of 45 days do have ability to germinate, although 10% lower than mature seeds of 55 or 65 days old, also the immature seed showed less vigor than the mature seeds, since it presented lower values of rate of emergence of radicle and aerial parts, and respiratory rate. This overlaps with Martínez *et al.* (2004) who indicated that, the highest percentage of germination in tomatillo seeds is reached at 63 days after pollination. Similar behavior was also observed by Modi and White (2004) in Cherry tomato seeds, whose germination evolved from 5, 38, 68 and 72%, 14, 28, 42 and 56 days after pollination, respectively. Therefore, only after 45 days, the seeds can be extracted from the fruit to achieve high germinability (> 74%).

Germination and viability were the same in the harvest at 55 and 65 DAP, ages at which there was no significant difference in electrical conductivity and moisture content on the seed. It can be inferred that tomatillo seeds, reach maturity within the fruit at 55 days after pollination, that is,



Cherry, cuya germinación evolucionó de 5, 38, 68 y 72%, a 14, 28, 42 y 56 días pospolinización, respectivamente. Por tanto, sólo hasta después de los 45 días la semilla puede ser extraída del fruto para lograr alta germinabilidad (>74%).

the fruit can be harvested at 55 days of age for purposes of extracting the seeds. However, it must be considered that, the moisture content reported in this paper is not at the time of harvest, but after drying the environment.

**Cuadro 3. Efecto del estado de desarrollo (45, 55 y 65 días pospolinización) de la semilla de tomate de cáscara al momento de cosechar el fruto, promedio de cinco condiciones ambientales y tres periodos de almacenamiento.**

**Table 3. Development (45, 55 and 65 days after pollination) tomatillo seeds status at harvest average of five environmental conditions and three storage periods.**

Estado de desarrollo	V	G	Vrad	Vpa	R	CE	CH
65 DPP	77.4 a	61.8 a	17 ab	5.3 ab	14 ab	44.3 a	6.7 a
55 DPP	74.3 a	63.2 a	19.9 a	5.8 a	14.3 a	45.1 a	6.7 a
45 DPP	65.8 b	52.6 b	15.8 b	4.6 b	12.3 b	53.3 a	6.7 a

DPP= días pos-polinización; V= viabilidad (%); G= germinación (%); Vrad= velocidad de emergencia de radícula (radículas día<sup>-1</sup>); Vpa= velocidad de emergencia de la parte aérea (plántulas día<sup>-1</sup>); R= respiración (nmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>); CE= conductividad eléctrica (μS cm<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>); CH= contenido de humedad de la semilla (%). Valores con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

La germinación y la viabilidad fueron iguales en las cosechas a los 55 y 65 DPP, edades en las que tampoco hubo diferencias significativas en conductividad eléctrica y contenido de humedad de la semilla. Se puede inferir entonces que las semillas del tomate de cáscara, alcanzan la madurez dentro del fruto a los 55 días después de la polinización; es decir, el fruto se puede cosechar a los 55 días de edad para fines de extracción de semilla. Sin embargo, debe considerarse que el contenido de humedad aquí reportado no es el del momento de cosecha, sino después de secar al ambiente.

### Efecto del periodo de almacenamiento

En cuanto al efecto del tiempo de almacenamiento (Cuadro 4), se observó que en comparación con la semilla recién cosechada el almacenamiento de 4 y 8 meses causó deterioro de la semilla, pues la germinabilidad se redujo en 33 y 22% y la viabilidad en 16 y 21%. Durante el almacenamiento la semilla también duplicó la conductividad eléctrica de 26.6 a 58 μS cm<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> y elevó su contenido de humedad de la semilla de 5.4 a 7.5-7.9%. El hecho de prolongar el almacenamiento de 4 a 8 meses causó abatimiento de la germinación, la viabilidad, la velocidad de emergencia de radícula y respiración, pero no afectó la velocidad de emergencia de la parte aérea.

Las tasas de respiración decrecieron conforme se prolongó el periodo de almacenamiento (Cuadro 4). Dichas reducciones coinciden con los decrementos en germinación y vigor discutidas anteriormente, lo que sugiere que durante el envejecimiento también se afectaron las mitocondrias y su función respiratoria, con las consecuentes reducciones en

### Storage period effect

As for the storage time effect (Table 4), it was observed that compared with the newly harvested seed storage 4 and 8 months seed deterioration caused, for germinability a reduction by 33 and 22%, and feasibility 16 and 21%. During storage, the seed also doubled the electrical conductivity from 26.6 to 58 μS cm<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> and increased its moisture content from 5.4 to 7.5-7.9%. The fact to extend storage from 4 to 8 months caused depression of germination, viability, radicle emergence rate and respiration, but it did not affect the rate of emergence of the shoot.

Respiration rates decreased when prolonging the period of storage (Table 4). These reductions are consistent with decreases in germination and vigor discussed above, suggesting that during aging also affected the mitochondria and their respiratory function, with consequent reductions in the production of energy necessary for elongation of the embryonic axis, as also noted by Cruz *et al.* (2003) in aged seeds of maize (*Zea mays* L.).

### Interaction between environment and storage period effect

As noted above, only the interaction between environments and storage periods had a significant effect on the seeds' performance (Table 5).

These results confirm that it was the combination of a certain environment (23.8 °C and relative humidity 81.4%) and 8 months of storage that caused deterioration in tomatillo seeds, deterioration reflected in severe reductions in: germination, viability, respiration rate, rate of emergence of shoot and

la producción de la energía necesaria, para la elongación del eje embrionario, como también señalaron Cruz *et al.* (2003) en semillas envejecidas de maíz (*Zea mays* L.).

radicle. Such deterioration was associated with damage to cellular membranes, since the imbibition water showed a higher electrical conductivity, this due to loss of solutes by the seed.

**Cuadro 4. Efecto del periodo de almacenamiento (0, 4 y 8 meses) de la semilla de tomate de cáscara, en promedio de cinco ambientes de almacenamiento y tres edades de la semilla.**

**Table 4. Storage period effect (0, 4 and 8 months) of tomatillo seeds, on average in five storage environments and three seed ages.**

Periodo	V	G	Vrad	Vpa	R	CE	CH
0 meses	85.3 a	77.8 a	23.9 a	6.2 a	17.6 a	26.6 b	5.4 b
4 meses	68.8 b	44.3 c	17.8 b	2.8 b	12.6 b	57.7 a	7.9 a
8 meses	63.5 c	55.5 b	11.1 c	6.7 a	10.5 c	58.4 a	7.5 a

V= viabilidad (%); G= germinación (%); Vrad= velocidad de emergencia de radícula (radículas día<sup>-1</sup>); Vpa= velocidad de emergencia de la parte aérea (plántulas día<sup>-1</sup>); R= respiración (nmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>); CE= conductividad eléctrica (μS cm<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>); CH= contenido de humedad de la semilla (%). Valores con la misma letra en cada columna son estadísticamente (Tukey, 0.05).

**Efecto de la interacción entre ambientes y periodo de almacenamiento**

Como se indicó antes, solamente la interacción entre ambientes y periodos de almacenamiento, tuvo efectos importantes en el desempeño de las semillas (Cuadro 5).

**Conclusions**

High relative humidity in the storage environment (80%) cause deterioration in tomatillo seeds, when combined with a high temperature (23 °C) but not in combination with a

**Cuadro 5. Interacción entre ambientes y periodos de almacenamiento en semillas de tomate de cáscara, promedio de tres etapas de desarrollo de la semilla.**

**Table 5. Interaction between environments and storage periods of tomatillo seeds, average of three stages of seed development.**

Condición de almacenamiento			Variables de respuesta						
T	HR	P	V	G	Vrad	Vpa	R	CE	CH
18.2±5	41.2±10	8	74 a	64 a	15.2 ab	7.2 a	14.5 a	41.5 b	11.5 a
18.2±5	41.2±10	4	74.2 a	57.3 a	20.9 a	3.9 bc	13.4 a	43.6 b	6.8 a
18.2±5	41.2±10	0	83.7 a	77.3 a	21.8 a	7 ab	17.5 a	28.9 b	5.8 a
5.3±0.4	24.1±0.8	8	72.0 ab	61 a	14.6 ab	6.4 ab	14.3 a	45.1 b	5.1 a
5.3±0.4	24.1±0.8	4	77.3 a	60.2 a	21.8 a	4.2 abc	13.6 a	37.7 b	5.1 a
5.3±0.4	24.1±0.8	0	85.3 a	79 a	21.9 a	7.2 a	17.9 a	26.6 b	4.5 a
5.3±0.4	81.4±2.9	8	75.3 a	66 a	15.6 ab	6.7 ab	15 a	40.5 b	5 a
5.3±0.4	81.4±2.9	4	80 a	56.8 a	21.2 a	3.9 bc	12.9 a	34 b	6.6 a
5.3±0.4	81.4±2.9	0	82.7 a	75.7 a	21.4 a	6.9 ab	17.1 a	30.3 b	6.5 a
23.8±0.3	24.1±0.8	8	74.7 a	64 a	14.3 ab	7.2 a	14.5 a	41.4 b	4.7 a
23.8±0.3	24.1±0.8	4	75.7 a	56.2 a	20.8 a	3.9 bc	13.4 a	40 b	4.4 a
23.8±0.3	24.1±0.8	0	75 a	65 a	19.4 a	5.3 ab	14.7 a	45.3 b	3.3 a
23.8±0.3	81.4±2.9	8	22.3 c	6.0 b	3.6 c	0.4 d	1.9 b	126.5 a	11.2 a
23.8±0.3	81.4±2.9	4	51 b	23.2 b	8.8 bc	1.8 cd	5.2 b	104.6 a	14.6 a
23.8±0.3	81.4±2.9	0	84.8 a	76.8 a	22.4 a	6.6 ab	17.4 a	27.3 b	9.2 a

T= temperatura (°C); HR= humedad relativa (%); P= periodo de almacenamiento (meses); V= viabilidad (%); G= germinación (%); Vrad= velocidad de emergencia de radícula (radículas día<sup>-1</sup>); Vpa= velocidad de emergencia de parte aérea (plántulas día<sup>-1</sup>); R= respiración (nmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> s<sup>-1</sup>); CE= conductividad eléctrica (μS cm<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>); CH= contenido de humedad de la semilla (%). Valores con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

Estos resultados permiten confirmar que fue la combinación de un ambiente (23.8 °C y 81.4% humedad relativa) y 8 meses de almacenamiento, la que causó deterioro en la semilla de tomate de cáscara, deterioro que se reflejó en reducciones severas de: capacidad germinativa, viabilidad, tasa de respiración, velocidad de emergencia de parte aérea y de radícula. Dicho deterioro estuvo asociado con daños en las membranas celulares, puesto que el agua de imbibición presentó una mayor conductividad eléctrica, ésta debida a la pérdida de solutos por la semilla.

## Conclusiones

Una alta humedad relativa del ambiente de almacenamiento (80%) causa deterioro en la semilla de tomate de cáscara, cuando se combina con una alta temperatura (23 °C), pero no en combinación con una baja temperatura (5 °C). Tal deterioro provoca disminución en viabilidad, germinación y tasa de respiración de la semilla, así como triplica la humedad de la semilla (15%) y la pérdida de solutos por lixiviación medida por el aumento en la conductividad eléctrica de la solución de imbibición. Por ello se considera que un signo temprano de envejecimiento de la semilla, es la disminución significativa de su tasa respiratoria y el envejecimiento de las membranas.

A los 55 días después de la polinización la semilla de tomate de cáscara se puede considerar fisiológicamente madura, edad en la que alcanza una germinación promedio de 70%, al igual que la semilla de 65 días. A los 45 días la semilla ya posee capacidad de germinar, aunque lo hace produciendo plantas de menos vigor y con 10% menos de germinación que la semilla madura.

El almacenamiento de las semillas de tomate de cáscara, puede prolongarse por 8 meses sin pérdida de germinabilidad si se almacena en cuarto frío a 5 °C o en baja humedad relativa (20%). En cambio, si se almacena en alta humedad (80%) y alta temperatura (23 °C), la semilla se deteriora y sufre pérdidas en viabilidad, germinación y vigor.

## Literatura citada

Bewley, J. D. and Black, M. 1994. Seeds, physiology of development and germination. 2<sup>nd</sup> edition. Plenum Press. New York, USA. 445 p.

low temperature (5 °C). Such damage causes decreased viability, germination and respiration rate of the seed, and triplicates the seed moisture (15%) and loss of solutes by leaching measured by the increase in electrical conductivity of the imbibition solution. It is therefore considered that an early sign of aging of the seed is the significant decrease of respiratory rate and aging of the membranes.

At 55 days after pollination, tomatillo seeds can be considered physiologically mature, age at which the germination reached 70% on average, just as the seeds of 65 days. At 45 days the seed has the capacity to germinate, but producing plants with lower vigor and with 10% less germination than mature seeds.

Storage of tomatillo seeds can last up to 8 months without loss of germinability if stored in a cold room at 5 °C or in low relative humidity (20%). However, if stored in high humidity (80%) and high temperature (23 °C), the seed is damaged and suffers losses in viability, germination and vigor.

*End of the English version*



- Bradford, K. J. 2004. Seed production and quality. Department of vegetable crop and weed science. University of California. Davis, CA., USA. 134 p.
- Bradford, K. and Nonogaki, H. 2007. Seed development, dormancy and germination. Blackwell Publishing. Iowa, USA. 367 p.
- Castro, C. V.; Eyzaguirre, P. R. and Ceroni, S. A. 2006. Survival of *Melocactus peruvianus* Vaupel and *Haageocereus pseudomelanostele* subsp. *aureispinus* (Rauh & Backeberg) Ostolaza. plants at Umarcata Hill, Chillón River Valley, Lima. Ecol. Aplic. 5(1):61-66
- Copeland, O. L. and McDonald, M. B. 2001. Principles of seed science and technology. 4<sup>th</sup> edition. Kluwer Press. New York, USA. 488 p.
- Cruz, P. A. B.; González, H. V. A.; Mendoza, C. M. C. y Ortega, D. M. L. 2003. Marcadores fisiológicos de la tolerancia al envejecimiento de semilla en maíz. Agrociencia. 37:371-381.
- Delouche, J. C. 2002. Germinación, envejecimiento y vigor de semillas. Seed News. 6:6.
- Estrada, O. J.; Castillo, R. B.; López, D. M. T. y Díaz, F. V. 2005. Variación del peso de la semilla de nim y sus componentes durante su almacenamiento. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Cuyo. 37:81-86.

- International Seed Testing Association (ISTA). 2004. International rules for seed testing. Rules 2004. ISTA editions. Zurich, Switzerland. 243 p.
- Jara, P. A.; Arancio, G.; Moreno, R. y Carmona, M. R. 2006. Factores abióticos que influyen la germinación de seis especies herbáceas de la zona árida de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*. 79(3):309-319.
- Lacerda, A. L. S.; Lazarini, S. M. E. e Valerio Filho, W. V. 2003. Armazenamento de sementes de soja dessecadas e avalicao da qualidade fisiologica, bioquimica e sanitaria. *Revista Brasileira de Sementes*. 25(2):97-105.
- Lezcano, J. C.; Navarro, M.; González, Y. y Alonso, O. 2007. Determinación de la calidad de las semillas de *Leucaena leucocephala* cv: Perú almacenadas al ambiente. *Pastos y Forrajes*. 30(1):1-7.
- Maguire, J. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci*. 2:176.
- Mapula, L. M.; López, U. J.; Vargas, H. J. J. and Hernández, L. A. 2008. Germination and vigor of seeds in *Pseudotsuga menziesii* of Mexico. *Ra Ximhai*. 4(1):119-134.
- Martínez, S. J.; Peña, L. A. y Montalvo, H. 2004. Producción y tecnología de semilla de tomate de cáscara. Boletín técnico. Núm. 4. Programa Nacional de Investigación y Servicio en Olericultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México. 36 p.
- Melgoza, C. A.; Royo, M. M. H.; Morales, N. C. R. and Sierra, T. J. S. 2003. Germination of locoweed seed (*Astragalus mollissimus* Torr) at different temperatures ranges and water stress levels. *Téc. Pecu. Méx.* 41(1):85-89.
- Modi, A. T. and White, B. J. 2004. Water potential of cherry tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) placenta and seed germination in response to desiccation during fruit development. *Seed Sci. Res.* 14:249-257.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 1991. Guía para la manipulación de semillas forestales. Estudio FAO-Montes. Roma, Italia. 502 p.
- Palma, R. M. P.; López, H. A. y Molina, M. J. C. 2000. Condiciones de almacenamiento y germinación de semillas de *Cenchrus ciliaris* L y *Andropogon gayanus* Kunth. *Agrociencia*. 34:41-48.
- Pozzo, A. M. C.; Aschkar, G.; Pellejero, G.; Gil, M. I. y Roa, R. 2008. Efecto de temperatura, humedad relativa y fisiología de bulbos de cultivares de cebolla (*Allium cepa* L.) en la incidencia de *Aspergillus niger* en el Valle Inferior del río Negro, Argentina. *Revista Pilquen. Sección Agronomía*. 10(9):1-14.
- Quinto, L.; Martínez, H. P. A.; Pimentel, B. L. y Rodríguez, T. D. A. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 15(1):23-28.
- Rivera, R. M. F.; Sosa, L. R.; Fernández, E. A.; Reale, M. I. y Villarreal, V. 2007. Efecto del estrés hídrico a distintas temperaturas sobre la germinación de semillas de *Bulnesia retama* (Gill. ex. Hook.) Griseb. -Zigofiláceas - en San Luis, Argentina. *Int. J. Exp. Bot.* 76:5-17.
- Ruiz, E. F. H.; Marrero, L. P.; Cruz, P. O.; Murillo, A. B. and García, H. J. L. 2008. Agroclimatic factor influences in the basil productivity (*Ocimum basilicum* L.) in an arid area of Baja California Sur, Mexico. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. 17(1):44-47.
- Smith, M. T. and Berjak, P. 1995. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation-tolerant and desiccation sensitive seeds. *In: Kigel J. and Galili, G. (eds.). Seed development and germination.* Marcel Dekker Inc. New York, USA. 701-746 pp.
- Vadillo, G.; Suni, M. y Cano, A. 2004. Viabilidad y germinación de semillas de *Puya raimondii* Harms (Bromeliaceae). *Revista Peruana de Biología*. 11(1):71-78.
- Walters, C.; Hill, L. M. and Wheeler, L. J. 2005. Dying while dry: Kinetics and mechanisms of deterioration in desiccated organisms. *Integrative and Comparative Biology*. 45:751-758.
- Zhou, L.; Jiang, E. and Li, B. 2009. Effect of wood vinegar on seed germination and water implantation of corn. *Journal of Northeast Agricultural University*. 16(2):6-11.