

ADAPTACIONES METODOLÓGICAS PARA EVALUAR LA CALIDAD FISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.)

METHODOLOGICAL ADAPTATIONS USED TO EVALUATE THE PHYSIOLOGICAL QUALITY OF HABANERO PEPPER SEEDS (*Capsicum chinense* Jacq.)

Ayala-Garay, O.J.^{1*}; Pinzón-López, L.L.²; Latournerie-Moreno, L.²; Ayala-Garay, A.V.³; Tovar-Carvajal, S.¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Programa Fisiología Vegetal. km 36.5 Carretera México-Texcoco. Montecillo, Estado de México, México. ²Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Conkal. Av Tecnológico s/n. Conkal, Yucatán, México. ³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Programa de Economía. Campo Experimental Valle de México. km 13.5 Carretera México-Texcoco, Coatlinchan, Estado de México, México.

*Autor de correspondencia: oayala@colpos.mx

ABSTRACT

Habanero chili pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) is an important crop in the Yucatán Peninsula, which recently extended to other regions of Mexico. There are few studies about the seed of this species, whose physiological quality deteriorates quickly. Therefore, it was evaluated through the accelerated aging (AA) test, to assess its quality. Three periods of AA were tested (24, 48 and 72 h), two temperatures (35 and 50 °C), and two levels of relative humidity (RH, 99 and 20%), on seeds from three experimental varieties. The controls without aging had 97-99 % of germination. The greatest decrease in germination (75 %) ($P \leq 0.01$) was observed with the treatment of 50 °C and 100 % RH compared to the other combinations of temperature and RH, where germinations of around 90 % were obtained. The viability was not higher ($P \leq 0.01$) than the germination, following the same pattern of behavior. In terms of vigor, the treatment of 35 °C and 100 RH provoked higher G11 (50%) and speed of emergence (7.4 radicles d^{-1}) versus 1% and 1 radicle d^{-1} , respectively, from the treatment of 50 °C and 100 % RH. It is possible to use the AA test to assess the physiological quality of the habanero pepper seed, and the period of 24 h at 50 °C and 100 % RH could be an adequate treatment for it.

Keywords: horticultural seeds, deterioration, vigor, storage, temperature, relative humidity.

RESUMEN

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es un cultivo importante en la Península de Yucatán, que recientemente se extendió a otras regiones de México. Existen pocos estudios sobre la semilla de esta especie cuya calidad fisiológica se deteriora rápidamente. Por lo anterior, se evaluó mediante la prueba de envejecimiento acelerado (EA) su calidad. Se probaron tres periodos de EA (24, 48 y 72 h), dos temperaturas (35 y 50 °C) y dos niveles de humedad relativa (HR, 99 y 20%), sobre semilla de tres variedades experimentales. Los testigos sin envejecer tuvieron un 97-99% de germinación. La mayor disminución en germinación (75%) ($P \leq 0.01$), se observó con el tratamiento de 50 °C y 100 % HR respecto a las otras combinaciones de temperatura y HR, donde se obtuvieron germinaciones de alrededor de 90%. La viabilidad no fue mayor ($P \leq 0.01$) a la germinación, siguiendo el mismo patrón de comportamiento. En cuanto a vigor, el tratamiento de 35 °C y 100% HR provocó mayores G11 (50%) y velocidad de emergencia (7.4 radículas d^{-1}) contra 1% y 1 radículas d^{-1} , respectivamente, del tratamiento 50 °C y 100% HR. Es posible utilizar la prueba de EA para evaluar la calidad fisiológica de semilla de chile habanero, el periodo de 24 h a 50 °C y 100% de HR podría ser un tratamiento adecuado para ello.

Palabras clave: semillas hortícolas, deterioro, vigor, almacenamiento, temperatura, humedad relativa.

INTRODUCCIÓN

Para una producción hortícola eficiente, es imprescindible usar semilla de alta calidad. La calidad de semillas tiene cuatro componentes: físico, genético, sanitario y fisiológico. Para evaluar la calidad fisiológica, cuyos parámetros principales son viabilidad, germinación y vigor, se han desarrollado diversas pruebas de laboratorio (Baskin y Baskin, 2014). En cuanto al vigor, algunas pruebas tratan de predecir la emergencia de plántulas bajo las condiciones estresantes encontradas en campo. En la mayoría de esas pruebas las semillas se someten a diferentes tipos de estrés, midiéndose al final de la prueba la cantidad de plántulas normales capaces de desarrollarse bajo esas condiciones. Como el vigor se puede correlacionar positivamente con el deterioro de semilla (Bradford, 2004), las pruebas de deterioro controlado o envejecimiento acelerado (EA) son usadas, por una parte, como pruebas para evaluar la calidad fisiológica de las semillas; y por otra, se asume que el proceso de deterioro bajo envejecimiento artificial es similar a las ocasionadas por el deterioro natural (Nagarajan y Pandita, 2001). En las pruebas de EA, el contenido de humedad de las semillas se incrementa y las semillas se incuban a altas temperaturas por un periodo de algunos días, antes de ser transferidas a las condiciones de una prueba de germinación estándar. La capacidad de un lote de semillas a sobrevivir al envejecimiento artificial se correlaciona con su vigor y potencial de longevidad en el almacenamiento (Bewley *et al.*, 2013). De manera general, el método de EA se usa con éxito en algunas especies, independientemente de que las semillas se encuentren en un estado anormal después del tratamiento, en términos de sus parámetros celulares como metabolismo de ácidos nucleicos y estructura de membranas. La recomendación que la International Seed Testing Association (ISTA) da en cuanto al uso de estos métodos, comprende principalmente a las especies agronómicas de semilla grande (granos), admitiendo una correlación baja entre el envejecimiento artificial y la calidad de lotes de semilla pequeña como semillas de flores, hortalizas y pastos (Halmer, 2000). Además, especialistas en semillas de diferentes grupos de investigación (Avendaño-López *et al.*, 2006; Martínez-Juárez *et al.*, 2006) consideran que la utilización de la técnica de EA para evaluar la calidad fisiológica de semillas de hortalizas [brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*), zanahoria (*Daucus carota* L.) y pepino (*Cucumis sativus* L.)] lleva a encontrar efectos contradictorios, produciendo comúnmente porcentajes de germinación más altos que los testigos sin envejecer. Tradicionalmente el tra-

tamiento conocido como EA consiste en aplicar 41 °C y 100% de humedad relativa (HR), durante periodos determinados de tiempo que consideran entre 24 y 72 h (Delouche y Baskin, 1973). Sin embargo, combinaciones de otros niveles de temperatura y HR, en otras especies de hortalizas no se han probado.

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es un cultivo que ha adquirido una gran importancia en la Península de Yucatán, México, debido a sus características particulares que le dan identidad regional. En el 2010 se obtuvo la denominación de origen "Chile habanero de la Península de Yucatán" (Moo-Muñoz *et al.*, 2016). En épocas recientes, su cultivo se ha extendido a diferentes partes del país y para 2016 se estimó una producción de 9,351 t, con un valor de 166.9 millones de pesos, donde los principales estados productores fueron Yucatán, Tabasco y Campeche (SAGARPA, 2016). El crecimiento en la demanda de este chile a su vez ha provocado el aumento de la demanda de semilla. Investigaciones recientes (Garraña-Hernández *et al.*, 2014) indican que la semilla comercial de chile habanero pierde rápidamente su capacidad de germinación (alrededor del 10% mes^{-1}). Dada la importancia económica este cultivo, es necesario estudiar las causas de esta pérdida de calidad, así como establecer una metodología confiable para evaluar la calidad de la semilla que se encuentra en el mercado. Con el objetivo de identificar las condiciones de EA que pueden utilizarse para evaluar la calidad fisiológica de semillas de chile habanero, en el presente trabajo se probaron los efectos de diferentes niveles de temperatura, humedad relativa y periodos de EA sobre la calidad fisiológica de semilla de tres variedades experimentales de chile habanero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se usó semilla de chile habanero de las variedades experimentales H258, H233 y H243, de fruto naranja, producidas durante el ciclo de otoño-invierno 2013-2014 en el rancho Yabucu, Acanceh, Yucatán (21° 04' N, 89° 31' O y 10 m de altitud). La cosecha de semilla se hizo en la primera semana de abril de 2014, almacenándose durante siete meses en sobres de papel abiertos en una bodega sin control de clima (26±3 °C; 32±10% de humedad relativa). El experimento se realizó en el mes de noviembre de 2014 en el laboratorio de biotecnología del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, México.

Al momento de iniciar las pruebas de laboratorio, el porcentaje de humedad de la semilla se calculó con

la fórmula de Bewley y Black (1994): las semillas se deshidrataron 72 h a 72 °C en una estufa (Thelco 31480, EE. UU.) y después se determinó el peso de la biomasa seca en una balanza de precisión (Ohaus, EE. UU.).

Las condiciones de envejecimiento acelerado (EA) se aplicaron a los lotes de semilla de cada variedad en envases de plástico de 0.5 L. En el fondo dicho envase se colocaron 200 mL de agua destilada o 100 g de sílica gel (Sigma-Aldrich, EE. UU.), con el fin de controlar la humedad relativa (HR), obteniendo $99\pm 1.9\%$ y $20.5\pm 0.4\%$ de HR, respectivamente. Dentro de cada envase se colocaron soportes para que la semilla quedara suspendida sin tocar las paredes del recipiente o la sustancia en el fondo. Una vez cerrado herméticamente dicho envase se colocó dentro de dos estufas que mantuvieron la temperatura estable en dos niveles: 35 ± 0.5 °C y 50 ± 0.4 °C. Para asegurar la estabilidad de los sistemas, previamente, las condiciones ambientales dentro de los envases fueron monitoreadas con sensores cerrados herméticamente HOBO H8-032-08 (Onset Computer Corporation, EE. UU.). Se estudiaron tres periodos de EA, 24, 48 y 72 h. Con lo que se formó un experimento factorial 3 variedades \times 2 temperaturas \times 2 HR \times 3 periodos de EA, más tres testigos (uno por cada variedad) de semilla sin envejecer. Posterior al tratamiento de envejecimiento acelerado, se estableció una prueba de germinación sobre papel filtro humedecido en cajas petri. Para ello, se depositaron cuatro repeticiones de 50 semillas, tanto de las semillas tratadas como las de los testigos, colocándose en un cuarto de cultivo a 25 ± 1 °C y 16/8 h de iluminación/oscuridad. En esta prueba se midió el porcentaje de germinación (plántulas normales) a los 11 d (G11) y 22 d (G) de iniciada, así como la velocidad de emergencia de radícula (V_{Erad}) con la fórmula de Maguire (1962) que consiste en contabilizar cada 24 h el número de radículas emergidas desde iniciada la prueba hasta el último día de duración de la misma. La viabilidad (Vi) se midió en cuatro repeticiones de 25 semillas con la prueba de tetrazolio (ISTA, 2004).

Los datos fueron capturados en la hoja de cálculo Excel 2007 (Microsoft, EE. UU.) y se analizaron con el procedimiento PROC ANOVA del programa estadístico SAS (SAS Institute, 2002). En los casos donde se detectaron diferencias estadísticas significativas se aplicó la prueba de medias (Tukey $P\leq 0.05$). Los datos de las variables medidas en porcentaje se transformaron mediante la fórmula arco seno $\sqrt{X/100}$ antes del análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No hubo diferencias en el contenido de humedad inicial entre variedades, lo que significa que estuvieron en equilibrio con el ambiente, su valor promedio fue $6.2\pm 0.4\%$ que se considera bajo y que no interviene en el proceso de la evolución de las otras variables medidas (Craviotto, 2011).

Efecto de las condiciones de envejecimiento acelerado sobre germinación y viabilidad

La germinación inicial (G11) de los testigos fue de 97 y 99%, es decir, la semilla tenía su capacidad germinativa intacta al iniciar las pruebas. De acuerdo con la ISTA (2004), en la prueba estandarizada de germinación sobre papel para semillas del género *Capsicum* L., el primer conteo debe realizarse a los 6 d de iniciada la prueba y el segundo a los 14 d; sin embargo, en el presente trabajo experimental se detectó que estos periodos son insuficientes pues la germinación resultó más lenta, observándose la máxima germinación de los testigos a los 22 d de iniciada la prueba, por lo que se reportó como germinación final la observada ese día.

Así mismo la germinación (G) medida a los 22 d disminuyó significativamente cuando el periodo de EA pasa de 24 (82%) a 48 h (69%), no obstante, el valor de G observado en el periodo de EA de 72 h (65%) fue estadísticamente semejante al de 48 h, esto podría significar que el tratamiento de 48 h es suficiente para envejecer la semilla.

En cuanto a la temperatura, en el tratamiento a 50 °C se tuvo una pérdida de G de 51%, en tanto que las semillas almacenadas a 35 °C presentaron un 92% de G. De forma similar a estos resultados, Bhering *et al.* (2006) en semilla de *Capsicum annuum* L. reportaron que la aplicación de calor en el envejecimiento acelerado provocó efectos más drásticos que un periodo prolongado de exposición al envejecimiento sin calor.

Por otra parte, en los niveles de humedad relativa (HR) se observó que la germinación promedio fue de 89% en las semillas colocadas a 20% HR, mientras que en 100 % HR la germinación descendió hasta 54 % (Figura 1). La interacción de temperatura y HR mostró que alta temperatura (50 °C) con alta HR (100%) provoca una pérdida de germinación de alrededor de 75% lo cual se considera como la magnitud del deterioro de la semilla provocado por este tratamiento (Figura 1).

En la prueba de germinación (Figura 2), el testigo obtuvo el mayor valor de G; sin embargo, estadísticamente ($P \leq 0.05$) no hubo diferencias significativas entre este y otros ocho tratamientos. La combinación de 50 °C, 100% HR y 24 h, mostró una disminución significativa de G (42.7%); así mismo, los tratamientos que produjeron una germinación menor ($P \leq 0.05$) a la de ese tratamiento tuvieron una combinación de 50 °C y 100% HR (Figura 2).

Según Salinas *et al.* (2001), los resultados de la prueba de germinación pueden ser utilizados para clasificar los lotes de semilla por su vigor. Esta clasificación considera que los lotes de semilla envejecidos artificialmente que presenten una germinación superior a 80% podrían ser clasificados como de alto vigor, entre 60-80% como de vigor medio, y menores de 60% como de bajo vigor. A partir de esta clasificación, en el presente estudio se puede inferir que el testigo y otros ocho tratamientos mantuvieron un alto nivel de germinabilidad (>80%), y por tanto tendrían un alto vigor, mientras que las semillas tratadas a 50 °C y 100% HR y 50 °C, 20% HR y 72 h tendrían un bajo vigor (<80% en germinación). Por otra parte, los laboratorios de la red GENMEDOC (2006) consideran que un tratamiento que permite alcanzar el valor de 50% de la capacidad germinativa de un lote, es importante para evaluar el vigor de las semillas de una especie determinada. En este caso, los resultados mostraron que el tratamiento 50 °C, 100% HR y 24 h produjo una reducción un poco mayor al 50% de la germinación y viabilidad (datos no presentados) que la semilla del testigo, por lo que este tratamiento podría proponerse para estandarizar una prueba vigor para semillas de chile habanero.

Efecto de las condiciones de envejecimiento acelerado sobre vigor

A diferencia de la variable germinación, todos los factores individuales,

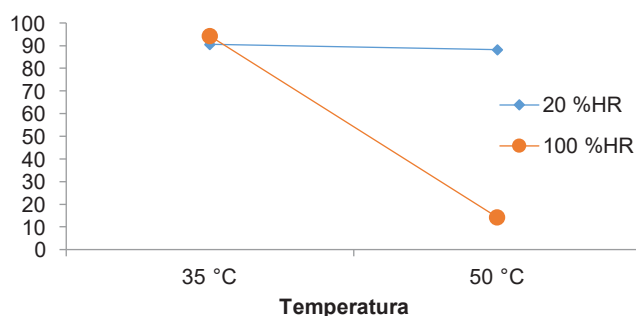


Figura 1. Efecto promedio del calor y la humedad relativa (HR) de los tratamientos de envejecimiento acelerado sobre germinación de semilla de *Capsicum chinense* Jacq.. Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $P \leq 0.05$).

incluyendo variedades, tuvieron efecto significativo ($P \leq 0.01$) sobre el comportamiento de la variable germinación a los 11 d (G11), y velocidad de emergencia de radícula (VE) (datos no presentados). Los resultados de la germinación en el segundo conteo (22 d de iniciada la prueba) no mostraron diferencias entre las variedades, pero en el primer conteo de la prueba de germinación (G11) la semilla de variedad H233 tuvo un valor menor de G11 ($P \leq 0.01$) respecto a las otras dos variedades (Cuadro 1).

De la misma forma, la semilla de esta variedad tuvo una menor VE, cabe señalar que las condiciones de producción, beneficio y almacenamiento fueron las mismas para la semilla de las tres variedades, por lo tanto, las diferencias señaladas en G11 y VE sugieren

Cuadro 1. Efecto de la variedad sobre germinación de semillas de *Capsicum chinense* Jacq., a los 11 d de iniciada la prueba (Ger11) y velocidad de emergencia de radículas (VE).

Variedad	Ger11 (%)	VE (radículas·d ⁻¹)
H258	37.8a ^z	4.6ab
H233	7.2b	3.2b
H243	44.6a	5.9a

^zMedias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

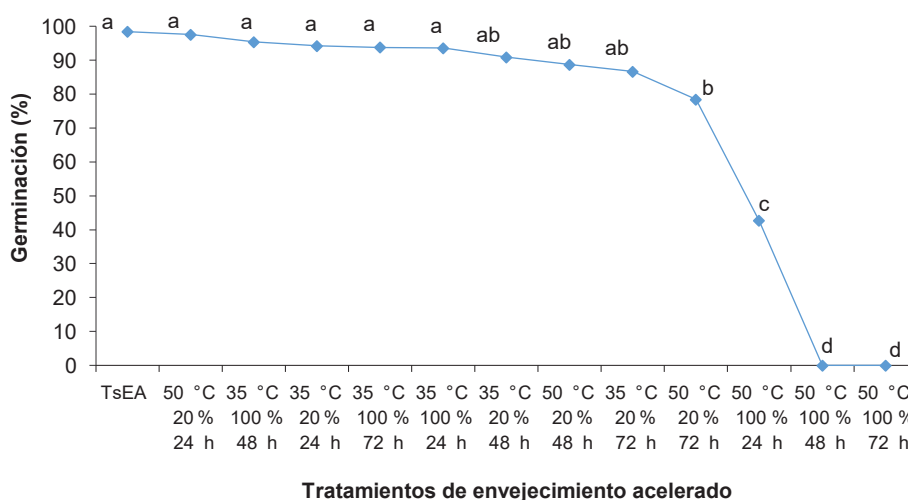


Figura 2. Efecto de los tratamientos de envejecimiento acelerado (temperatura x humedad relativa x tiempo) sobre la germinación de semilla de *Capsicum chinense* Jacq.. Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $P \leq 0.05$). TsEA=testigo sin envejecimiento acelerado.

que existen diferencias en la cinética de germinación según las variedades, habiendo genotipos que producen naturalmente semillas con bajo vigor.

Tradicionalmente, el primer conteo de una prueba de germinación puede ser usado como prueba para diferenciar lotes de bajo y alto vigor (Moreno, 1984). En el caso de la variable G11 el promedio de los testigos fue más bajo ($P \leq 0.05$) que el tratamiento de EA 35 °C y 100% HR (durante 24 o 48 h), lo que significaría que la semilla de los testigos sin envejecer tendría menos vigor que la semilla envejecida por los tratamientos señalados (Figura 3). Lo anterior se confirma con los resultados de la variable velocidad de emergencia de radícula (Figura 4), donde igualmente, el tratamiento de 35 °C, 100% HR y 72 h fue superior ($P \leq 0.05$) al resto, al producir 10 radículas d^{-1} , valor que fue más del doble del encontrado en las semillas del testigo sin envejecer (4.6 radículas d^{-1}). Estos resultados podrían compararse a lo reportado por Martínez-Juárez et al. (2006) quienes encontraron que la técnica de EA tradicional (41 °C y 100% HR) en semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) favorece la germinación.

De acuerdo con Bewley et al. (2013), bajo las condiciones tradicionales de EA el contenido de humedad de las semillas se incrementa, puesto que en la atmósfera de almacenamiento la humedad es muy alta y las semillas tienden a entrar en equilibrio con el aire que las circunda. Probablemente, este incremento de humedad de las semillas en temperatura y tiempos moderados, provoca un choque osmótico, similar al que ocurre en

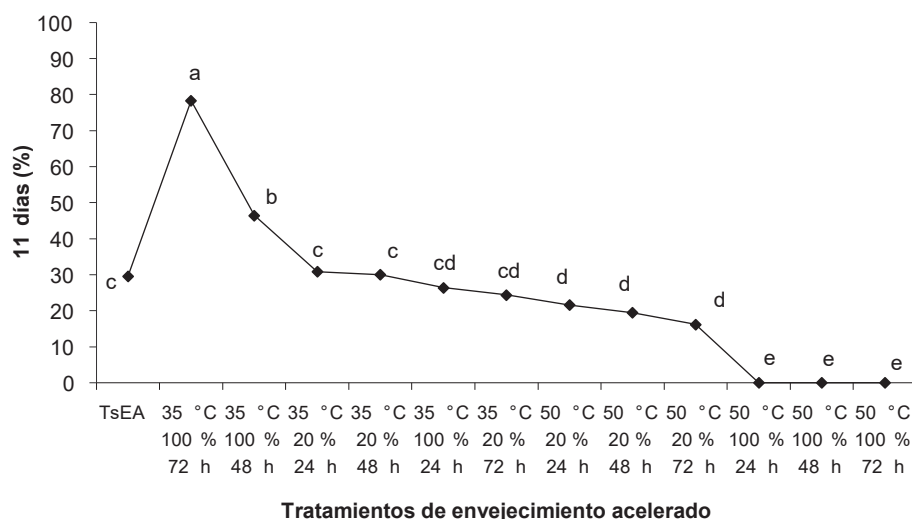


Figura 3. Efecto de los tratamientos de envejecimiento acelerado (temperatura x humedad relativa x tiempo) sobre la germinación de semilla de *Capsicum chinense* Jacq., a los 11 d de iniciada la prueba. Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $P \leq 0.05$). TsEA=testigo sin envejecimiento acelerado.

el tratamiento de revigorización de la semilla denominado osmocondicionamiento (osmopriming, Taylor et al. 1998), lo que hace que las semillas germinen más rápidamente. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio demuestran que una vez que las condiciones de EA se vuelven extremas (temperaturas más altas) las cinéticas de G11 y VE caen hasta cero con los tratamientos que combinan 50 °C y 100 HR (Figura 3 y 4). En cuanto a la VE y al igual que en la germinación, el tratamiento 50 °C, 100% HR aplicado durante 24 h produjo una disminución de alrededor del 50% respecto al testigo, al pasar de 4.6 radículas d^{-1} a 2.4 radículas d^{-1} en las semillas tratadas. Así entonces, estos resultados indicarían que ese tratamiento podría ser recomendado para estandarizar la prueba de EA como prueba de vigor en chile habanero, como se indicó anteriormente.

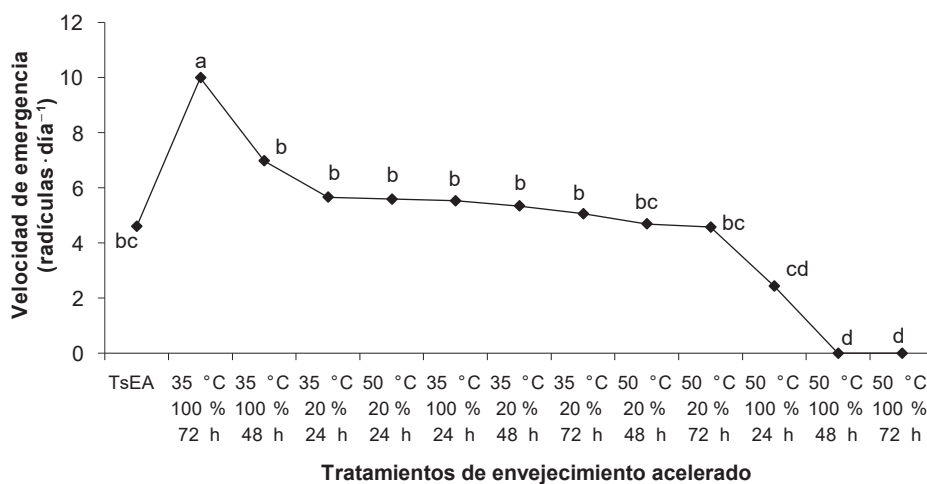


Figura 4. Efecto de los tratamientos de envejecimiento acelerado (temperatura x humedad relativa x tiempo) sobre velocidad de emergencia de radículas de *Capsicum chinense* Jacq.. Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $P \leq 0.05$). TsEA=testigo sin envejecimiento acelerado.

CONCLUSIONES

La técnica de envejecimiento acelerado seguido de una prueba de germinación sirve para evaluar la calidad fisiológica de semillas de chile habanero. El tratamiento de 50 °C y 100% HR aplicado durante 24 h podría proponerse para estandarizar la prueba ya que en promedio disminuyó en 50% la germinación, viabilidad y vigor respecto al testigo. En semillas de chile habanero la duración de la prueba de germinación propuesta por la ISTA (2004) para el género *Capsicum* (14 d) puede ser insuficiente ya que existen variedades cuya cinética de germinación es más lenta, por ello se propone aumentar el periodo a 22 d.

LITERATURA CITADA

- Avendaño L. A. N., Quintana C. M., Gómez C.S.C. 2006. Pruebas de emergencia en campo en lotes de semilla de zanahoria y brócoli. Memoria del XXI Congreso de Fitogenética, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. pp. 231.
- Baskin C.C., Baskin J.M. 2014. Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Second Ed, Academic Press-Elsevier. San Diego, USA. 1600 p.
- Bewley J.D., Black M. 1994. Seeds. Physiology of Development and Germination. Plenum Press. Second Ed, New York. USA. 445 p.
- Bewley J. D., Bradford K. J., Hilhorst, W.H.M., Nonogaki H. 2013. Seeds. Physiology of Development, Germination and Dormancy. Third Ed, Springer. New York, USA. 392 p.
- Bhering M. C., Fernandes dos Santos Dias, D. C., de Souza Vidigal, D., dos Santos Portocarrero Naveira D. 2006. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de pimenta. Revista Brasileira de Sementes 28:64-71.
- Bradford K.J. 2004. Seed Production and Quality. Department of Vegetable Crops. University of California. Davis, California, U.S.A. 134 p.
- Craviotto M.R. 2011. Humedad de la semilla como atributo de calidad. <http://www.cosechaypostcosecha.org/data/articulos/calidad/humedadsemillacomootributocalidad.asp> (Consultado: noviembre de 2017).
- Delouche J. C., Baskin C. C. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. Seed Science Technology 1: 427-452.
- GENMEDOC. 2006. Prácticas de germinación en los bancos de semillas de la red GENMEDOC. Junio de 2004-mayo de 2006. FEDER- Unión Europea. Valencia, España. 175 p.
- Garruña-Hernández R., Latournieri-Moreno L., Ayala-Garay O., Santamaría J., Pinzón-López L. 2014. Acondicionamiento pre-siembra: una opción para incrementar la germinación de semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). Agrociencia 48: 413-423.
- Halmer P. 2000. Commercial seed treatment technology pp. 257-286. In: Seed technology and its Biological Basis. Black M., Bewley J. D. (eds.) Sheffield Academic Press. Sheffield, UK.
- ISTA (International Seed Testing Association) 2004. International Rules for Seed Testing. Rules 2004. ISTA editions, Zurich, Switzerland. 243 p.
- Maguire J. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science 2: 176.
- Martínez J. J., Martínez S. J., Rodríguez P.J. E., Peña O.G.M. 2006. Relación entre pruebas de calidad fisiológica de semillas de pepino (*Cucumis sativus* L.) con el establecimiento en almácigo. Memoria del XXI Congreso de Fitogenética, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. pp. 230.
- Moo-Muñoz A., Ayala-Garay O.J., Latournieri-Moreno L., Tzec-May M.A., Pinzón-López L.L. 2014. Efecto de la madurez y secado de semilla de *Capsicum chinense* Jacq. En la germinación y calidad fisiológica de plántula. Agroproductividad 9: 63-67.
- Moreno M. E. 1984. Análisis Físico y Biológico de Semillas Agrícolas. Dirección General de Publicaciones, Universidad Autónoma de México. México, D. F. México. 383 p.
- Nagarajan S., Pandita V.K. 2001. Improvement in germination characteristics in artificially aged seeds tomato by osmoconditioning. Seed Research 29: 136-140.
- Salinas A. R., Yoldjian A. M., Craviotto R. M., Bisaro V. 2001. Pruebas de vigor y calidad fisiológica de semillas de soja. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 36: 371-379.
- SAS Institute. 2002. User's Guide of Statistical Analysis System. SAS Institute Inc. Cary, N. C. USA. 550 p.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera), 2017. Anuario del Sistema integral de información agroalimentaria y pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) OEIDRUS. <http://www.siap.gob.mx> (Consulta: noviembre de 2017).
- Taylor A. G., Allen P. S., Brennett M. A., Bradford K. J., Burris J. S., Misra M. K. 1998. Seed enhancements. Seed Science Research 8: 245-256.

