

TOLERANCIA A DESECACIÓN Y DETERIORO FISIOLÓGICO EN SEMILLAS DE CALABAZA (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Lam.)

DESICCATION TOLERANCE AND PHYSIOLOGICAL DETERIORATION IN SQUASH SEEDS (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Lam.)

Carlos Ramos Aguilar^{1*}, Juan Celestino Molina Moreno¹ y Gabino García de los Santos¹

¹ Programa en Semillas. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Postgraduados. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco, C.P. 56230, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tel: 01 (55) 5804-5900. Fax: 01 (55) 5804-5962. Correo electrónico: cramos72@uol.com.mx

* Autor responsable

RESUMEN

Para evaluar la tolerancia a la desecación, calidad fisiológica y oportunidad de cosecha de la semilla de calabaza (*Cucurbita moschata*), se estableció un lote de producción de semillas en el Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, Edo. de México, en el ciclo Primavera-Verano 1999. Se cosecharon frutos a 40, 70 y 100 días después de antesis (dda), y sus semillas se extrajeron inmediatamente después de 60 días de almacenamiento. Luego, las semillas se secaron al aire libre o mediante aire caliente, y después se almacenaron por 0 y 60 días. Los tratamientos se evaluaron mediante las pruebas de germinación estándar y de velocidad de emergencia, en un diseño factorial completamente al azar con cuatro repeticiones de 25 semillas, en ambas pruebas. Los frutos cosechados 40 dda presentaron los niveles más bajos de germinación e índices de velocidad de emergencia, con decrementos de 38.8 y 71.2 %, respecto a las semillas de frutos cosechados a 100 dda. El almacenamiento de postmaduración de los frutos mejoró considerablemente la calidad fisiológica de las semillas jóvenes, ya que las semillas de los frutos cosechados a 40 dda incrementaron en 51 y 61 % su emergencia y germinación, respectivamente; las semillas de frutos cosechados a 70 dda incrementaron en 69 y 83 % en las mismas variables.

Palabras clave: *Cucurbita moschata*, tolerancia a desecación, germinación, velocidad de emergencia.

SUMMARY

Desiccation tolerance, physiological quality and harvest time were evaluated in squash (*Cucurbita moschata*) seeds. A seed production plot was established at the Experimental Research Station of the Universidad Autónoma Chapingo, State of México, in the Spring-Summer season of 1999. Fruits were harvested at 40, 70 and 100 days after anthesis (daa). Then seeds were extrated at 0 or after 60 days under storage conditions. Seeds were dried at environmental temperature or by hot air, and then stored for 0 or 60 days. Seed test were standard germination and germination rate, with treatments distributed in a complete randomized factorial experimental design with four replicates of 25 seeds, in each test. Fruits harvested 40 daa showed the least germination and germination rates which were 38.8 and 71.2 % lesser than that of seeds from fruits harvested 100 daa. Fruit post-maturation storage largely improved the physiological quality of young seeds, since seeds of fruits harvested 40 daa showed

increases of 51 and 61 % in seedling emergency and germination rate, respectively. Even seeds of fruits harvested 70 daa increased those rates by about 69 and 83 %.

Index words: *Cucurbita moschata*, desiccation tolerance, germination, seedling emergence.

INTRODUCCIÓN

La desecación es un proceso natural que ocurre al final de la formación y desarrollo de la semilla, que es considerada necesaria para completar el ciclo de vida de las plantas como una estrategia para favorecer la sobrevivencia de la semilla durante el almacenamiento, así como para asegurar la diseminación de las especies (Leprince *et al.*, 1993).

Dicho secado de las semillas se lleva a cabo en la planta madre en la mayoría de las especies vegetales. Las semillas ortodoxas en algunos casos reducen sus contenidos de humedad a valores menores de 10 y 15 %, lo que les permite sobrevivir ante los cambios del ambiente y ser almacenadas por periodos largos. Sin embargo, no son capaces de tolerar la desecación en todas las etapas de su desarrollo, pero la adquisición de la tolerancia se puede manifestar antes del comienzo del secado natural (Kermode, 1997).

La tolerancia a la desecación es la capacidad que tiene la semilla de algunas especies para recibir un tratamiento de secado antes de alcanzar su madurez fisiológica y luego germinar. Se cree que tal tolerancia involucra la protección de membranas celulares a los efectos deletéreos causados por la remoción de agua al mantenerse la doble estructura en ausencia de un ambiente hidratado (Leprince *et al.*, 1993). Se han descrito tres sistemas protectores:

1) La acumulación de azúcares no reducidos que estabilizan las membranas y proteínas en condiciones de sequía (Crowe *et al.*, 1992; Kermode, 1997), además de que promueven la formación de una fase cristalina en el citoplasma (Bruni y Leopold, 1992); 2) La capacidad para impedir o tolerar la acumulación de radicales libres durante la desecación (Hendry *et al.*, 1992); y 3) Las proteínas protectoras LEA (Abundantes en la Embriogénesis Tardía), por sus siglas en inglés, inducidas por el ácido abscísico (Lane, 1991). Ninguno de estos mecanismos son exclusivos de la tolerancia a la desecación, por lo que Leprince *et al.* (1993) sugieren que la tolerancia es un carácter multifactorial donde cada componente es indispensable.

El uso más importante de la especie *Cucurbita moschata* es el alimenticio, no sólo en Latinoamérica sino también en muchas otras regiones del mundo (Lira 1995). Los frutos (inmaduros o maduros) y las semillas son las partes más comúnmente empleadas con este propósito, aunque las flores masculinas y las partes tiernas de los tallos se utilizan en menor escala. La pulpa de los frutos también se usa para la elaboración industrial de un jabón destinado a la limpieza de artículos de piel, y las plantas se han usado como soportes o portainjertos en la producción de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) y pepino (*Cucumis sativus* L.).

La etapa de maduración de los frutos de *C. moschata* comienza alrededor de los 40 días después de la antesis (dda), cuando la base del fruto en contacto con el suelo toma una coloración amarillenta, y puede retrasarse hasta los 95 y 110 dda. Las plantas mueren aproximadamente a los 200 días después de la siembra (Hernández, 1995). El almacenaje de frutos inmaduros mejora la germinabilidad de las semillas de calabaza, y es menos efectivo que cuando los frutos permanecen en la planta por el mismo periodo (Nerson y Paris, 1988). Las semillas de calabaza mantienen un nivel de germinación superior a 90 % durante cuatro años de almacenamiento, pero la tasa de germinación decrece en algunos casos después del tercer año (Nerson, 1991); este mismo autor señala que el almacenaje de semillas inmaduras mejora su germinabilidad y que la duración de almacenamiento requerido para alcanzar la germinación máxima se en semillas más jóvenes; encontró también que las semillas inmaduras de calabaza cosechadas 35 dda alcanzan su máxima capacidad germinativa al año de almacenamiento.

En este trabajo se estudió la evolución de la capacidad germinativa y la tolerancia al secado de la semilla de *C. moschata*, así como las condiciones de manejo que regulan su deterioro, mediante la evaluación de tolerancia a la desecación, la calidad fisiológica y la oportunidad de cosecha de la semilla.

MATERIALES Y MÉTODOS

La primera fase experimental se realizó en el Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, México, en el ciclo primavera-verano 1999. Se estableció un lote de 720 m² con semillas de *C. moschata* con dos ciclos de selección, para adaptación a las condiciones de los valles altos y centrales de México. La segunda fase consistió en la evaluación de la calidad fisiológica de la semilla, en el Laboratorio de Análisis del Programa en Producción de Semillas, del Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, ubicado en Montecillo, Texcoco, México, caracterizado por un clima tipo C(Wo)(W)(i)g, cuya temperatura media anual es de 15 °C y su precipitación media anual de 644.8 mm (García, 1987).

Con la finalidad de evaluar el impacto que ocasiona el secado de la semilla en diferentes fases de maduración del fruto de calabaza, se realizaron tres cosechas de 12 frutos a 40, 70 y 100 días después de antesis; la primera cosecha se hizo cuando el pedúnculo del fruto aún presentaba coloración verde, la segunda cuando los frutos llegaron a madurez fisiológica (inicio de coloración amarillenta en el pedúnculo), y la última cosecha cuando el pedúnculo y área foliar se encontraban senescentes en 90 %. A seis de los frutos cosechados en cada fase de maduración, se les extrajo y lavó la semilla inmediatamente después de la cosecha. La calidad fisiológica de la semilla se evaluó después del secado y posterior a 60 días de almacenamiento. La otra mitad de los frutos se mantuvo en almacén durante 60 días para luego evaluar la calidad fisiológica de la semilla como en el primer caso.

Una vez que las semillas fueron extraídas de los frutos, se sometieron a dos métodos de secado: secado en el laboratorio, a temperatura ambiente por un periodo de 1 a 1.5 h por la mañana, durante una semana, y secado a base de aire forzado y calor suplementario a 35 °C, mediante el uso de una secadora experimental, como lo establecen Javare *et al.* (1990). En este caso, el calor se aplicó en forma intermitente (dos horas durante tres días) para evitar una deshidratación drástica que pudiera afectar la viabilidad del embrión.

Evaluación de la calidad fisiológica

Se llevó a cabo mediante las pruebas de germinación estándar y tasa de emergencia con pretratamiento de envejecimiento acelerado (ISTA, 1993). Se evaluaron 24 tratamientos producto de la combinación de tres fechas de cosecha (40, 70 y 100 dda), dos periodos de almacenamiento de frutos (0 y 60 días), dos métodos de secado (a temperatura ambiente y mediante aire caliente), y dos

periodos de almacenamiento de semilla después del secado (0 y 60 días), en un diseño completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos. Durante la extracción y previo a la evaluación fisiológica se determinó el contenido de humedad de la semilla mediante el método de la estufa (ISTA, 1993), en dos repeticiones de 5 g de semilla.

En la prueba de germinación se contaron 100 semillas por tratamiento divididas en cuatro repeticiones de 25, que se colocaron en toallas humedecidas según el método "entre papel" (ISTA, 1993). Los "tacos" (papel enrollado) se colocaron en posición vertical en bolsas de plástico, y éstas en un germinador a 25 °C durante 8 días. Al finalizar la prueba los caracteres evaluados fueron: los porcentajes de germinación (G) y de plántulas normales, éstas consideradas como aquéllas con hojas cotiledonares intactas, raíz e hipocótilo bien desarrollados, sanas y sin malformaciones; porcentaje de viabilidad (V), con base en la suma del número de plántulas normales y anormales; longitud de parte aérea (LPA), resultado de la medición de la longitud en cm del cuello de la raíz hasta el ápice de la hoja más joven de todas las plántulas normales; longitud de raíz (LR), como la longitud en cm del cuello de la raíz hasta el ápice de la misma de todas las plántulas normales; peso seco de parte aérea (PSA), como el peso en gramos del total de plántulas normales, después de secadas a 70 °C durante 72 h; peso seco de raíz (PSR), como el peso en gramos de las raíces de todas las plántulas normales, después de secadas a 70 °C durante 72 h.

Posteriormente se sembraron en semilleros de madera de 2.5 x 1.0 m que contenían arena esterilizada como sustrato, en un diseño completamente al azar. La parcela útil dentro del semillero fue de un surco de 90 cm de longitud, con una distancia de 7.5 cm entre surcos, y con distancia entre semillas de 3.6 cm colocadas con el hilio hacia abajo. Se aplicó un riego al momento de la siembra y después cada tercer día, para mantener húmedo al sustrato. El se-

millero se colocó bajo un invernadero móvil tipo "túnel" con estructura metálica y cubierta de polietileno. La prueba finalizó una vez que concluyó la emergencia de plántulas, y se obtuvo una población constante. Las variables LPA, LR, PSA, y PSR se determinaron de la misma forma que en la prueba de germinación estándar. Además, se calculó el porcentaje de plántulas emergidas (PE), con base en el número total de plántulas normales y la velocidad de emergencia (VE), según la fórmula propuesta por Maguire (1962):

$$VE = \frac{\text{Número de plántulas normales}}{\text{Días a primer conteo}} + \dots + \frac{\text{Número de plántulas normales}}{\text{Días al conteo final}}$$

En cada prueba se efectuó un análisis de varianza de acuerdo al diseño experimental, y a las variables cuyos cuadrados medios resultaron significativos, se les aplicó la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba de germinación

Excepto para el porcentaje de viabilidad (V) y la longitud de raíz (LR) en respuesta al método de secado, todas las variables presentaron diferencias significativas por efecto de fechas de cosecha, manejo de fruto en poscosecha, método de secado, manejo de semilla y de la interacción entre fechas de cosecha y manejo de fruto, con coeficientes de variación que fluctuaron entre 2.5 y 7.1 %.

Las semillas de los frutos cosechados 100 dda, mostraron los más elevados niveles de germinación, viabilidad, longitud y peso seco de plántula; estos valores disminuyeron paulatinamente conforme el fruto se cosechó más joven, a los 70 y 40 dda (Cuadro 1). Dasgupta *et al.* (1982) obtuvieron resultados similares al evaluar semillas inmaduras de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).

Cuadro 1. Valores medios de las variables evaluadas en la prueba de germinación de semillas de calabaza (*C. moschata*)

Factores y niveles	G (%)	V (%)	LPA (cm)	LR (cm)	PSA (g)	PSR (g)
Fechas de cosecha						
40 días después de antesis	30.6 c	42.6 c	4.31 c	6.51 c	0.512 c	0.076 c
70 días después de antesis	47.1 b	52.5 b	6.19 b	9.84 b	1.194 b	0.203 a
100 días después de antesis	69.4 a	78.1 a	60.63 a	15.22 a	1.678 a	0.275 a
DMS	1.66	1.89	0.15	0.16	0.03	0.01
Manejo de fruto poscosecha						
Sin almacenamiento	18.4 b	23.8 b	4.58 b	6.74 b	0.374 b	0.046 b
Almacenados por 60 días	79.6 a	91.7 a	9.51 a	14.31 a	1.882 a	0.324 a
Métodos de secado						
Al aire, a temperatura ambiente	51.3 a	58.1 a	7.10 a	10.51 a	1.173 a	0.198 a
En horno a 35 °C	46.8 b	57.4 a	6.99 b	10.54 a	1.083 b	0.171 a
Manejo de semilla						
Sin almacenamiento	43.1 b	51.3 b	6.54 b	9.73 b	1.004 b	0.179 b
Almacenada por 60 días	55.0 a	64.3 a	7.55 a	11.32 a	1.252 a	0.191 a
DMS	1.3	1.29	0.10	0.11	0.02	0.01

Medias con la misma letra dentro de columnas incluyendo factores, son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

G = Porcentaje de germinación; V = Porcentaje de viabilidad; LP = Longitud de parte aérea; LR = Longitud de raíz; PSA = Peso seco de parte aérea del total de plántulas germinadas; PSR = Peso seco de raíz del total de plántulas germinadas.

El almacenamiento del fruto también tuvo efectos positivos en todas las variables de calidad fisiológica de la semilla al mejorar considerablemente la germinación, viabilidad, y el tamaño y peso de la plántula generada por las semillas.

Al momento de la extracción, la semilla presentó niveles de humedad de 48, 60 y 80 % en frutos cosechados a los 100, 70 y 40 dda. Después del secado al sol, la humedad de la semilla fue de 7.9 %, y después del secado con aire caliente fue de 7.3 %. El primer tipo de secado evidenció ventajas significativas en el nivel de germinación, en la longitud del vástago, y en los pesos secos del vástago y raíz. Estas respuestas pueden atribuirse a que el secado lento de embriones inmaduros le confirió mayor capacidad a las células para tolerar el daño por desecación (Hong y Ellis, 1997). Todas las variables evaluadas de la prueba de germinación, resultaron favorecidas con el almacenamiento de semilla por un período de dos meses (Cuadro 1), lo que concuerda con los resultados obtenidos por Nerson (1991), quien mediante el almacenaje mejoró la germinabilidad de semillas inmaduras.

Velocidad de emergencia

Con excepción de las variables de longitud de parte aérea y de raíz en respuesta al método de secado y manejo de semilla, el resto de las variables presentaron diferencias significativas para los cuatro factores estudiados, con coeficientes de variación que oscilaron entre 3.1 y 11.4 %. Así, las semillas de los frutos cosechados 100 dda presentaron la mayor velocidad de emergencia, lo cual repercutió en mayor longitud y peso seco de plántula (Cuadro 2). Al igual que en la prueba de germinación estándar, todas las variables de respuesta manifestaron un decremento significativo a medida que el tiempo a la cosecha se redujo a 70 y 40 dda. De esta forma, el número de plántulas emergidas

por día disminuyó aproximadamente en 1 a 1.5 al adelantar la cosecha del fruto en 30 y 60 días; el porcentaje total de plántulas emergidas también declinó en 34.5 % y 53.9 % en las semillas de frutos cosechados 70 y 40 dda, con respecto a la emergencia obtenida en semillas de frutos cosechados a los 100 dda, lo que representa una disminución en el vigor.

El almacenamiento de fruto incrementó de manera significativa los valores de todas las variables de emergencia, ya que la velocidad de emergencia superó por 1.2 plántulas emergidas por día, y el porcentaje total de plántulas emergidas al finalizar la prueba aumentó 39.5 % con respecto a los frutos sin almacenamiento. Es decir, tanto el secado lento al aire libre como el almacenamiento de semilla promovieron el vigor al mejorar la velocidad de emergencia y el peso seco de la plántula, tendencia semejante a la observada en la prueba de germinación.

En cuanto a las interacciones significativas, se detectó que si bien las semillas de los frutos cosechados 100 dda presentaron los valores más elevados en emergencia, el almacenamiento post-maduración también les favoreció, aunque en menor proporción, que en semillas de frutos más jóvenes, ya que las semillas de los frutos cosechados a 40 dda incrementaron en 51, 61 y 85 % su emergencia, germinación y viabilidad, respectivamente; las semillas de frutos cosechados a 70 dda incrementaron en alrededor de 69, 83 y 84 % en las mismas variables. Se puede establecer entonces que el efecto positivo del almacenamiento de fruto favorece principalmente a las semillas más jóvenes, y que las plántulas provenientes de las semillas de dichos frutos presentaron mayor vigor, debido a que las semillas tuvieron mayor acumulación de reservas extraídas inmediatamente después de la cosecha (Nerson y Paris, 1988; Nerson, 1991).

Cuadro 2. Valores medios de las variables evaluadas en la prueba de velocidad de emergencia de semillas de calabaza (*C. moschata*).

Factores y niveles	VE	PE (%)	LPA (cm)	LR (cm)	PSA (g)	PSR (g)
Fechas de cosecha						
40 días después de antesis	0.637 c	25.5 c	3.21 c	5.29 c	0.976 c	0.123 c
70 días después de antesis	1.242 b	44.9 b	6.18 b	11.72 b	2.117 b	0.268 b
100 días después de antesis	2.213 a	79.4 a	7.09 a	13.36 a	3.605 a	0.454 a
DMS	0.025	1.95	0.35	0.70 a	0.08	0.01
Manejo de fruto poscosecha						
Sin almacenamiento	0.761 b	30.3 b	40.1 b	7.73 b	1.122 b	0.141 b
Almacenamiento por 60 días	1.967 a	69.7 a	6.98 a	12.52 a	3.434 a	0.421 a
Métodos de secado						
Al aire, a temperatura ambiente	1.457 a	53.3 a	5.58 a	10.25 a	2.388 a	0.311 a
En horno a 35 °C	1.271 b	46.6 b	5.41 a	10.00 a	2.077 b	0.252 b
Manejo de semilla						
Sin almacenamiento	1.321 b	49.1 b	5.42 a	10.09 a	0.205 b	0.269 a
Con almacenamiento	1.407 a	50.8 a	5.58 a	10.15 a	2.260 a	0.293 a
DMS	0.02	1.33	0.24	0.47	0.05	0.01

Medias con la misma letra dentro de columnas incluyendo factores son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

VE = Índice de velocidad de emergencia; PE = Porcentaje de plántulas emergidas; LPA = Longitud de parte aérea; LR = Longitud de raíz; PSA = Peso seco de parte aérea del total de plántulas emergidas; PSR = Peso seco de raíz del total de plántulas emergidas.

La mayor susceptibilidad a la desecación presentada por las semillas cosechadas 40 dda en frutos no almacenados (Figura 1A), pudo ser consecuencia de una menor acumulación de azúcares no reducidos y proteínas, que actúan como agentes protectores de la membrana (Lane, 1991; Bruni y Leopold 1992; Crowe *et al.*, 1992; Kermode, 1997). Por otro lado, el porcentaje de emergencia superó al nivel de germinación en los frutos no almacenados (Figura 1A), debido posiblemente a la presencia de inhibidores que impiden la germinación dentro del fruto (Nelson, 1991) los cuales pudieron haberse eliminado durante el secado.

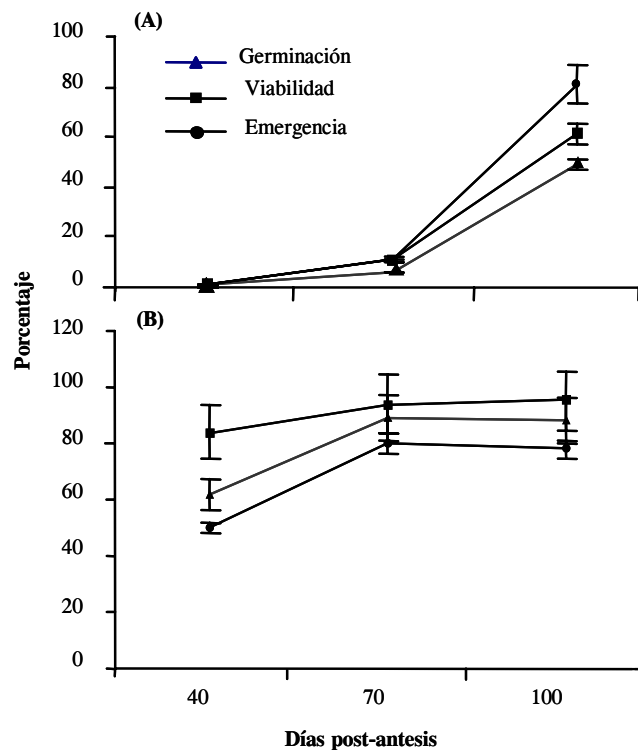


Figura 1. Germinación, viabilidad y emergencia en semillas extraídas de frutos de calabaza (*C. moschata*), sin almacenamiento (A) y con dos meses de almacenamiento (B), cosechados en diferentes fases de maduración.

La longitud y acumulación de materia seca de las plántulas provenientes de semillas de frutos cosechados a 40 y 70 dda (Figuras 2 y 3) respondieron mejor al almacenamiento de fruto, mientras que las plántulas provenientes de frutos cosechados a 100 dda no mostraron incrementos significativos. Por ello, aunque estas últimas presentaron los valores más elevados en frutos sin almacenamiento (Figuras 1A, 2A, y 3A), el tratamiento post-maduración de los frutos permitió que los valores de germinación, viabilidad, plántulas emergidas, longitud y acumulación de materia seca fueran igualado por las plántulas de semillas (provenientes de frutos cosechados a 70 dda (Figura 1B, 2B y 3B).

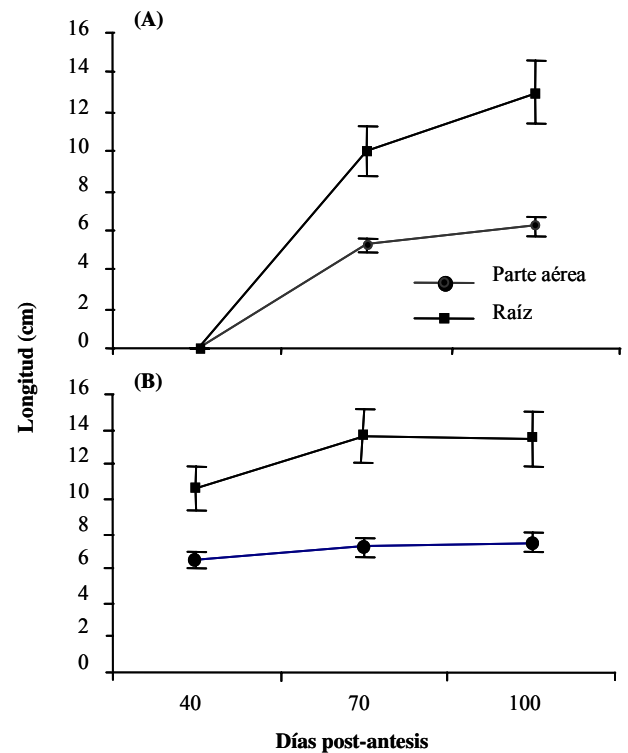


Figura 2. Longitud de plántula determinada en la prueba de velocidad de emergencia, en semillas provenientes de frutos de calabaza (*C. moschata*) no almacenados (A) y con dos meses de almacenamiento (B).

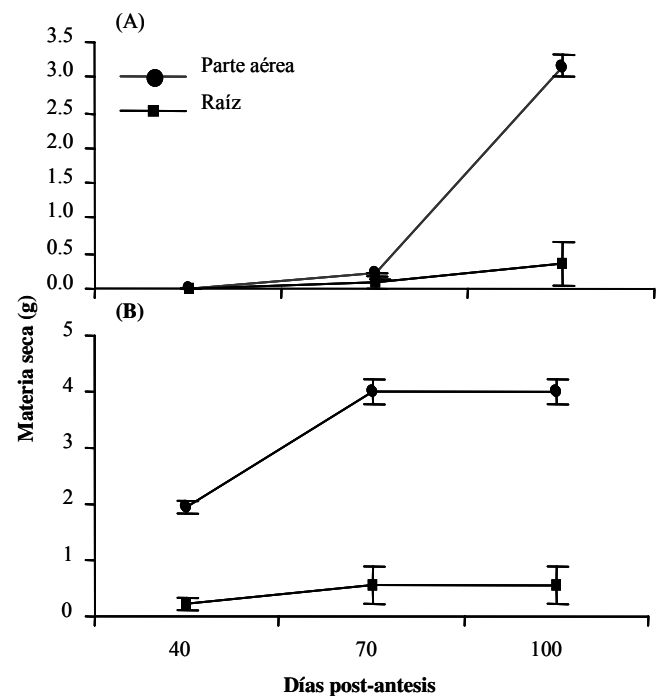


Figura 3. Distribución de materia seca total de plántulas obtenidas en la prueba de velocidad de emergencia, en semillas provenientes de frutos de calabaza (*C. moschata*), sin almacenamiento (A) y con almacenamiento (B) cosechados en tres fases de maduración.

CONCLUSIONES

En *C. moschata*, las semillas de frutos cosechados 40 dda presentaron los niveles más bajos de germinación, viabilidad e índice de velocidad de emergencia, con decrementos de 38.8, 35.5 y 71.2 % respectivamente, respecto a las semillas de frutos cosechados a 100 dda. Esto repercutió en un menor tamaño de plántula y acumulación de materia seca, a diferencia de los frutos cosechados 100 dda cuyas semillas presentaron los mejores niveles de calidad.

El almacenamiento de post-maduración por dos meses de los frutos mejoró considerablemente la calidad fisiológica de las semillas más jóvenes, ya que las semillas de los frutos cosechados a 40 dda incrementaron en 51, 61 y 85 % la emergencia, germinación y viabilidad, respectivamente; también las semillas de frutos cosechados a 70 dda incrementaron en 69, 83 y 84 % en las mismas variables. Es decir, la cosecha anticipada requiere un almacenamiento de preextracción, para no interrumpir drásticamente el desarrollo de la semilla.

El secado al aire libre favoreció en mayor grado la calidad fisiológica de las semillas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración del proyecto McKnight al proporcionar el material genético utilizado en la segunda fase de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Burni F, A C Leopld (1992)** Pools of water in anhydrobiotic organisms. A thermally stimulated depolarization current study. *Biophysical J.* 63:663-672.
- Crowe J H, F A Hoekstra, L M Crowe (1992)** Anhydrobiosis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 54:579-599.
- Dasgupta J, J D Bewley, E C Yeung (1982)** Desiccation-tolerant and desiccation intolerant stages during the development and germination of *Phaseolus vulgaris* seeds. *J. Exp. Bot.* 33:1045-1057.
- García E (1987)** Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köpen. UNAM. Instituto de Geografía. 635 p.
- Hendry G A F, W E Finch-Savage, P C Thorpe, N M Atherton, S M Buckland, K A Nilsson, W E Seel (1995)** Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus rubra* L. *New Phytol.* 122:273-279.
- Hernández A (1995)** Fases fenológicas de dos genotipos de calabaza (*Cucurbita moschata* Duch.) en cuanto a fechas de siembra. *Cultivos Tropicales* 16(3):64-68.
- Hong T D, R H Ellis (1997)** The effect of the initial rate of drying on the subsequent ability of immature seeds of Norway maple (*Acer platanoides* L.) to survive rapid desiccation. *Seed Sci. Res.* 7:41-45.
- ISTA (International Seed Testing Association) (1993)** International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* 21, supplement 1:288 p.
- Javare G S, K C Talukdar, H Ramaiah (1990)** Effect of drying methods on seed quality in tomato (*Lycopersicon lycopersicum*). *Seed Res.* 18(2):126-129.
- Kermode A R (1997)** Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. *Seed Sci. Res.* 7:75-95.
- Lane B G (1991)** Cellular desiccation and hydration: developmentally regulated proteins, and the maturation and germination of seed embryos. *FASEB Journal* 5:2893-2901.
- Leprince O, G A F Hendry, B D McKersie (1993)** The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Sci. Res.* 3:231-246.
- Lira S R (1995)** Estudios Taxonómicos y Ecogeográficos de las *Cucurbitaceae* Latinoamericanas de Importancia Económica. IPGRI. UNAM, México 281 p.
- Maguire J D (1962)** Speed of germination, Aid in selection and evaluation or seedling emergence and vigour. *Crop Sci.* 2:176-177.
- Nerson H, H S Paris (1991)** Fruit age and seed extraction procedures affect germinability of cucurbit seeds. *Seed Sci. Technol.* 19:185-195.
- Nerson H, H s Paris (1988)** Effects of fruit age, fermentation and storage on germination of cucurbit seeds. *Scientia Hort.* 35:15-26.
- Rincón S F, J Molina M (1990)** Efecto del método de envejecimiento artificial sobre la germinación de semilla de maíz. *Agron. Me-soamer.* 1:51-53.