

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS



"ALGUNOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PERDIDA  
DE GERMINACION DE LA SEMILLA DE CALABACITA  
*Cucurbita pepo* L. DURANTE SU ALMACENAMIENTO"

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

BIOLOGO

PRESENTA

~~GUILLERMO~~ FEDERICO ORTEGA BLAKE

México D.F.

Enero de 1982



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## RECONOCIMIENTOS

AGRADEZCO A :

La M. en C. Genoveva García Aguirre su asesoría y ayuda en el desarrollo de - ésta tesis.

El Instituto de Biología por las facilidades que me brindó para realizar la investigación.

La Productora Nacional de Semillas el proporcionar las semillas que se utilizaron en el estudio.

La M. en C. Guadalupe Mora Vital , su asesoría en el análisis estadístico.

La Embajada de la República Popular de Bulgaria su interés y ayuda en la obtención de información sobre el tema en - su país.

El Biol. David Delgado Viveros , su colaboración en la traducción de la bibliografía en lengua rusa.

El Dr. Ernesto Moreno Martínez, M. en C. Cora Salinas Chapa, Dr. Teófilo Herrera Suárez y Dr. Carlos Vázquez Yanes, la - revisión del trabajo.

- I N D I C E -

INTRODUCCION Y ANTECEDENTES.....	1
OBJETIVOS.....	12
MATERIALES Y METODOS.....	13
RESULTADOS.....	17
DISCUSION.....	33
CONCLUSIONES.....	36
BIBLIOGRAFIA.....	37

## INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

Se reconocen al menos tres especies de calabazas: *Cucurbita pepo* L., *Cucurbita maxima* Duch. y *Cucurbita moschata* Zhiteneva. Las cucurbitas son plantas herbáceas y anuales. *Cucurbita pepo* L. es más compacta de lo que es típico en su género, generalmente no produce zarcillos, el tallo es semirecto, los entrenudos son cortos, monoica ( presenta flores unisexuales con ambos sexos en la misma planta ). La calabacita pertenece a la familia de las cucurbitáceas; a esta familia pertenece un gran número de hortalizas; entre las más conocidas están la sandía, los melones y las calabazas.

Las cucurbitáceas son de origen americano; datos arqueológicos señalan que *Cucurbita pepo* estaba distribuida ampliamente por el Norte de México y el Suroeste de los Estados Unidos desde 7,000 años A.C.; por evidencias históricas se conoce que también está distribuida en otras regiones, como el Centro y el Este de los Estados Unidos; en la región del río Guadalupe, en Texas, crece una forma de cucurbita silvestre, *Cucurbita texana* Gray: es pequeña, amarga y de corteza dura, en la sierra de México existe una cucurbita silvestre con las mismas características que la texana, se le conoce como chicayota, la cual podría ser la forma ancestral de *Cucurbita pepo* (Soto, 1978).

*Cucurbita pepo* pudo haber sido la primera especie plantada por el hombre 6,000 años A.C.; registros arqueológicos en Ocampo, México, indican que ésta, estaba siendo cultivada incluso antes que el maíz. (Díez, 1979).

Las semillas de las cucurbitáceas son relativamente ricas en aceite y están presentes en una gran cantidad y a todo lo largo del fruto, pero tienen poca importancia comercial como semillas oleaginosas; sin embargo fueron utilizadas en Bulgaria durante la Segunda Guerra Mundial como fuente de aceite, las de *Cucurbita pepo* contienen de un 47 a un 48% de aceite (Vaughan, 1970).

## Descripción anatómica de la semilla:

Testa.- La epidermis externa consiste de células en empalizada hasta de 300 micras de altura y 50 micras de grosor; contiene -

pequeños granos de almidón y una costilla en pared radial, -ramificándose hacia la punta, las costillas están lignificadas y desaparecen ó son pequeñas en la parte media de la semilla. Dentro de la epidermis se encuentra una región de varias capas de células parenquimatosas con pequeñas perforaciones; ésta va seguida por una sola capa de células pétreas en sección transversal con una dimensión radial aproximada de -90 micras y una dimensión tangencial de 20 a 65 micras, las paredes de estas células son gruesas y poco onduladas. La capa de células pétreas tiene una región esponjosa de células parenquimatosas delgadas y muy perforadas o reticuladas, con grandes espacios aéreos intercelulares. El resto de la testa consiste de células parenquimatosas aplanadas, con tejido vascular y organelos verdes menores de 2 micras de diametro, los cuales pudieran ser cloroplastos. Se ha considerado que la -testa se ha desarrollado sólo del óvulo.

**Perispermo.-** El perispermo consiste en 3 o 4 capas de células pequeñas, la capa más externa contiene células regulares con paredes gruesas y aceitosas.

**Endospermo.-** Contiene una sola capa de células con gotas de aceite y granulos de aleurona.

**Embrión.-** Esta compuesto sólo por células pequeñas.

El resto de las células que forman los cotiledones, son parenquimatosas con gotas de aceite y granulos de -aleurona, de 4 a 8 micras de diametro, con inclusiones.(Vaughan, 1970).

El cultivo de la calabacita se encuentra difundido ampliamente en México; en 1977 fueron destinadas 5,470 Has. a la siembra de esta hortaliza, siendo este valor un 25% mayor que el registrado en 1974, aumentando también los Estados que la siembran a 22, ésto ha generado una producción de -62, 333 toneladas, que es 44% superior a la de 1974, lo que indica que la producción por hectárea también ha sido incrementada; por lo anterior se puede concluir que este cultivo está logrando una rápida expansión en el país (Dirección General de Economía Agrícola; ver tabla I).

TABLA I

Superficie, rendimiento y producción del cultivo  
de calabacita por Estados durante 1974 y 1977

	Superficie Has.		Rendimiento Ton./Ha		Producción Ton.	
	1974	1977	1974	1977	1974	1977
Sinaloa	1545	1417	10.5	9.8	16223	13887
Sonora	882	1116	13.3	16.8	11762	18729
Morelos	360	371	8.2	12.1	2955	4482
Hidalgo	420	600	7.0	7.0	2940	4200
Tamaulipas	445	590	3.1	3.5	1386	2067
San Luis Potosí	75	125	18.0	15.0	1350	1875
Puebla	90	140	12.0	12.0	1080	1680
Aguascalientes	50	90	10.0	12.0	500	1080
Durango	40	213	15.0	15.0	600	3194
Zacatecas	54	50	8.0	8.0	432	400
Guanajuato	10	100	8.4	15.0	84	1500
Jalisco	45	320	12.0	18.0	540	5775
Nayarit	58	34	18.0	13.0	1044	448
Coahuila	14	31	12.1	14.4	170	446
Querétaro	--	25	--	10.0	--	250
Michoacán	300	180	7.3	8.9	2200	1600
Oaxaca	--	443	--	15.0	--	6643
Guerrero	--	27	--	15.0	--	405
Colima	--	3	--	2.0	--	6
México	--	6	--	6.0	--	36
Veracruz	--	24	--	4.2	--	101
Baja California Sur	--	8	--	21.5	--	172
Sumas y Promedios:	4388	5470	9.9	11.4	43266	62333

Fuente: SARH Dirección General de Economía Agrícola, Boletín Mensual del No. 609 al 632, en Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos, 1977.



Durante 1979 la exportación de calabacita representó el 4% del volumen de hortalizas y frutas que México destinó al mercado exterior, participando con el 5% del valor de las exportaciones hortícolas nacionales; en el año de 1980 fueron exportadas 42,328 toneladas de calabacita (Unión Nacional de Productores de Hortalizas, 1980).

La calabacita ha formado parte importante de la dieta alimenticia del pueblo mexicano desde antes de la llegada de los europeos al continente y, junto con el tomate, el cacao y el maíz, ha contribuido a hacer más variada la alimentación mundial.

El consumo nacional aparente de calabacita ha crecido aceleradamente durante la década pasada; sin embargo su aumento ha sido distorsionado a partir de 1977; esto es debido al aumento en el costo, por la demanda que existe para la exportación y al deterioro de los salarios reales (Díez, 1979).

Sin embargo hay que tener presente que existen en el país una gran cantidad de huertos en donde son cultivadas superficies pequeñas de hortalizas, que casi en su totalidad se destinan al autoconsumo familiar; es por ésto que el consumo nacional aparente de calabacita (calculado como la producción global menos la exportación) podría ser significativamente inferior al consumo interno real (Díez, 1979; ver tabla II)

En nuestro país son cultivadas diversas variedades de calabazas y calabacitas; la mayoría de las semillas utilizadas para la siembra son de importación. México en 1977 importó 79.4 toneladas de semilla de calabacita para siembra, a un costo de 11 millones de pesos y exportó ese mismo año 1,051 toneladas de semilla para usos industriales a un costo de 10 millones (Anuario Estadístico de Comercio Exterior, 1977).

Estos datos sugieren que en México existen - problemas en la obtención y/o almacenamiento de semillas de calabacita para siembra; sin embargo estos datos no son tan drásticos como aparentan puesto que, el motivo de la importación de una gran parte de las semillas de hortalizas, en general, se debe a convenios existentes entre grupos de horticultores mexicanos y compañías norteamericanas.

TABLA II

Consumo Nacional Aparente de Calabacita  
en la Republica Mexicana.  
-toneladas-

AÑO	PRODUCCION (%)		EXPORTACION (%)		CONSUMO NAL. APARENTE (%)	
1971	24,902	100%	13,984	56.2%	10,918	43.8%
1972	33,232	100%	16,616	50.0%	16,616	50.0%
1973	43,632	100%	17,453	40.0%	26,179	60.0%
1974	43,266	100%	21,149	48.8%	22,117	51.2%
1975	47,986	100%	17,700	36.9%	30,286	63.1%
1976	54,866	100%	21,872	39.9%	32,988	60.1%
1977	62,333	100%	29,979	48.1%	32,354	51.9%
1978*	66,946	100%	33,849	50.6%	33,097	49.4%
1979*	71,900	100%	43,957	61.1%	27,947	38.9%

\* Cifras estimadas.

## FUENTE:

Unión Nacional de Productores de Hortalizas, Boletín Bimestral No. 38 pag. 66 México 1979.

Las semillas durante su almacenamiento pueden llegar a presentar deterioro ocasionándose una pérdida de calidad; ésta es debida a condiciones desfavorables de almacenamiento provocadas tanto por causas bióticas como por abióticas e interacciones que se presentan entre ambas.

Las principales causas bióticas en la pérdida de calidad y cantidad de granos y semillas almacenadas son, roedores, insectos, ácaros y hongos siendo los últimos muy importantes en este aspecto. Los principales tipos de pérdidas causadas por hongos que se desarrollan en granos y semillas almacenados son las siguientes: reducción en el poder germinativo, ennegrecimiento total o parcial de los granos y semillas (generalmente embriones), calentamiento y hedor, diversos cambios bioquímicos y la producción ocasional de toxinas que al ser ingeridas pueden ser dañinas al hombre y animales domésticos (Christensen y Kaufman, 1976).

Como principales causas abióticas tenemos - la humedad relativa, la temperatura y el período de almacenamiento; éstas pueden considerarse como factores que al interactuar pueden llegar a provocar una desviación en la fisiología normal de la semilla. Debido a esto, en zonas tropicales donde la humedad relativa y la temperatura son altas y considerando que éstas favorecen el desarrollo de los organismos que pueden provocar deterioro en las semillas, como son los hongos, insectos y ácaros, el período que puede permanecer un lote de granos o semillas con buena calidad en condiciones naturales, es muy corto.

Han sido realizadas investigaciones sobre las causas fisiológicas del deterioro de las semillas en almacenamiento seco, encontrando que el daño puede ser debido a reacciones de peroxidación causando deterioro en los lípidos y proteínas de la membrana. Este proceso es autocatalítico y puede causar un daño general a través de las células; el hecho de secar los tejidos no necesariamente previene de tales reacciones de peroxidación, se ha sugerido-

que el agua que se encuentra en la vecindad inmediata a las macromoléculas se encuentra en un estado semi - cristalino (Verzar, 1968); este remanente de agua se encuentra fuertemente unido a los coloides celulares (Askenov, Askochenskaya y Petinov, 1969) y, por lo tanto, una pequeña cantidad de agua puede permitir reacciones de peroxidación, las cuales requieren sólo la proximidad del agua y oxígeno a el doble enlace de los lípidos insaturados de las membranas citoplásmicas, - muchas reacciones enzimáticas, especialmente aquéllas relacionadas con grandes unidades estructurales probablemente no ocurran bajo estas condiciones (Villiers y Edgcumbe, 1975).

En el estudio del envejecimiento, la teoría de las mutaciones somáticas tiene un apoyo experimental convincente. Existe un incremento de mutaciones durante el envejecimiento; un organismo se vuelve gradualmente menos eficiente, tanto como la acumulación de mutaciones que vaya adquiriendo (Curtis, 1967).

Es posible que existan dos factores separados pero relacionados con la pérdida de viabilidad de las semillas, estos son: daño a los sistemas de membrana y enzimas y daño al genoma. Siguiendo el desarrollo de la germinación de las plántulas, siendo que estas están controladas por su genoma, las divisiones celulares aberrantes, ciertas deformidades y la pérdida de vigor en las plántulas son posiblemente expresiones del daño acumulado por el genoma durante el almacenamiento seco de las semillas; en suma, el retraso encontrado antes de la germinación de semillas viejas puede deberse a la necesidad de un período durante el cual exista reparación de daños y remplazo de organelos (Berjak y Villiers, 1972).

Si esta hipótesis es correcta uno se puede preguntar por qué la longevidad de las semillas es incrementada bajando el contenido de humedad de las semillas en el almacenamiento en aire seco; ésto es debido a que, dentro del intervalo de contenidos de humedad obtenidos por las semillas almacenadas en aire seco, no es posible que exista un mantenimiento controlado por enzimas, pero cualquier cambio en el almacén que tienda a aumentar la estabilidad de las macromoléculas prolongará la viabilidad de las semillas. Por lo tanto bajando el contenido de humedad de las semillas en almacenamiento en aire seco se puede esperar un incremento en el período de viabilidad. Cuando se tiene una atmósfera saturada de humedad en la cual las semillas tienen el contenido de humedad máximo alcanzado en estas condiciones, es probable que un contenido de humedad mucho más elevado sea el necesario antes de que pueda ocurrir una reparación macromolecular normal y una síntesis de membrana.

Se considera por lo tanto que la pérdida de viabilidad de semillas en almacenamiento seco es causada por la inhabilidad de reparación en tejidos con un bajo contenido de agua. Consecuentemente el daño a las macromoléculas puede acumularse y sólo puede ser reparado cuando las semillas son imbibidas en agua para su germinación, pero el daño puede ser demasiado extenso para que la reparación sea efectiva. En semillas en almacenamiento húmedo ( en contacto con agua líquida ) o en semillas en el campo, el daño puede ser reparado cuando ocurra y no esperar hasta que los sistemas de mantenimiento celular ya no puedan repararlo ( Villiers y Edgcumbe, 1975 ).

En semillas de calabaza han sido realizadas diversas investigaciones, algunas de ellas pueden ser divididas en tres aspectos distintos:

- 1).-El efecto de la humedad relativa y la temperatura en la viabilidad de la semilla durante su almacenamiento.
- 2).-El efecto del período de almacenamiento de la semilla en la productividad que desarrolla en el campo.
- 3).-Los sitios de infección de distintos hongos de almacén y su efecto sobre la semilla.

Como ejemplo de lo anterior se señala lo siguiente:

Efecto de la humedad relativa y la temperatura.

Kononkov y col. (1975), demostraron que - semillas en una humedad relativa de 45% y temperatura de 25°C, conservan su viabilidad alta sin deterioro alguno, pero en humedad relativa de 82% y la misma temperatura - las semillas pierden su viabilidad rápidamente, teniendo un período de almacenamiento máximo de dos meses o menos.

En otro estudio realizado por Villareal y col. (1972), es mostrado que la semilla presenta una mayor resistencia a la pérdida de viabilidad en condiciones desfavorables para su almacenamiento comparándola con otras semillas en las mismas condiciones; la razón por lo que la semilla es resistente puede deberse a su cubierta. La cubierta de la semilla presenta 2 membranas, la membrana externa es más permeable a los gases que la interna; ésta actúa como una barrera al oxígeno (Brown, 1940); a esto puede deberse que al tener la semilla una menor cantidad de oxígeno disponible, su metabolismo disminuye y la deterioración es menor.

Efecto del período de almacenamiento sobre la productividad:

Novruzov (1972), analiza este efecto y - encuentra que el rendimiento de cultivos de cucurbitáceas es mayor conforme aumenta el período de almacenamiento, - disminuyendo la cantidad de frutos de calidad pero aumentando la producción total, observándose también que el - período de almacenamiento de las semillas no muestra efectos en las diversas fases del desarrollo de las plantas.

Por otro lado Abou Hussein y El-Beltagy (1972), investigaron el efecto del período de almacenamiento de semillas en la floración y sexualidad de plantas de calabaza, encontrando que la cantidad total de flores en los 2 períodos de floración de la calabaza no es alterada significativamente por el período de almacenamiento de semillas, pero hay fluctuaciones en la relación de flores masculinas y femeninas producidas durante los períodos de floración, en semillas almacenadas - por mayor tiempo se observa un incremento de flores femeninas y una reducción de flores masculinas, resultando de ésto un mayor rendimiento en el cultivo. Esto es atribuido a cambios concomitantes con el período de almacenamiento, los niveles de auxinas, giberelinas y citoquininas favorecen la feminización.

#### Sitios de infección fúngica en las semillas:

Harman y Pflieger (1974), realizaron un estudio de la patogenicidad y los sitios de infección de varias especies de *Aspergillus* en semillas almacenadas, entre éstas, semillas de calabaza, encontrando que éstas usualmente no son invadidas, sólo cuando las semillas - fueron inoculadas con *Aspergillus flavus* Link las capas del perispermo y el endospermo que envuelven al embrión son infectadas, el embrión permanece sin infección. El 84% de estas semillas crece normalmente si la testa y los cotiledones son separados y los embriones crecen en cultivo de tejidos, en contraste con ésto sólo el 50% de las semillas que se les dejan los cotiledones crece normalmente, los embriones de calabaza son muertos sin una invasión física, sugiriendo ésto la presencia de una toxina difusible; aparentemente el deterioro de las semillas de calabaza durante la germinación está relacionado con esta toxina. La incapacidad de varias especies de *Aspergillus* para invadir los embriones de calabaza indican la existencia de compuestos químicos preformados que inhiben la invasión, probablemente localizados en las capas externas de los embriones.

Existen numerosas investigaciones sobre el almacenamiento de semillas hortícolas, que en su mayoría se enfocan a lograr las condiciones óptimas de almacenamiento. Es notable que en México el número de investigaciones dirigidas a dar solución a problemas de almacenamiento que no buscan condiciones ideales, sino las adecuadas al tipo de desarrollo agrícola y al clima, es reducido no obstante los problemas que existen en cuanto a baja calidad en las semillas que son almacenadas en zonas tropicales y subtropicales en condiciones naturales no controladas. Es por esto que se deben impulsar estas investigaciones buscando una tecnología aplicable al almacenamiento en el medio rural que resulte congruente con las condiciones que lo caracterizan, residiendo aquí la posibilidad de generar nuevos métodos y enfoques para solucionar los problemas existentes a este respecto.

En México en las zonas tropicales y subtropicales como el Valle de Apatzingán en Michoacán ó el Valle de Muna en Yucatán entre otros, el almacenamiento de semillas de hortaliza es deficiente debido a la falta de almacenes adecuados, así como al desconocimiento de un buen manejo de estas semillas aunado a las condiciones ambientales favorables para el rápido deterioro de las semillas.

Las investigaciones que han sido realizadas para semillas de calabaza contemplan distintos aspectos en su almacenamiento, pero no han sido hechas investigaciones que contemplen las interacciones entre los distintos factores que afectan su calidad, esto es necesario puesto que en un almacenamiento normal no va a ser un factor el que afecte sino todos en conjunto y como tales hay que estudiarlos. Trabajos relativos a este fin en semillas hortícolas hay pocos en México, como el realizado para semillas de cebolla y coliflor por Coutiño y col. en 1969.



## OBJETIVOS

De acuerdo a lo anteriormente expuesto, esta investigación es realizada para obtener información acerca del efecto de las interacciones entre contenido de humedad de las semillas, humedad relativa y micoflora presente durante el período de almacenamiento de semillas de calabacita en temperatura alta, para dilucidar lo siguiente:

- 1) El efecto que tiene el contenido de humedad inicial de la semilla sobre su longevidad durante el almacenamiento.
- 2) Determinar si el deterioro de las semillas en almacenamiento sometidas a humedades relativas y temperaturas altas, es causado primariamente por hongos de almacén ó por otros factores.
- 3) El tiempo que se pueden conservar las semillas con buena calidad en almacenamiento abierto, en humedades relativas y temperaturas altas.

Este es un trabajo preliminar para estudios posteriores en semillas hortícolas, tendientes a obtener una información más completa sobre las causas del deterioro de estas semillas durante su almacenamiento, con el objeto de llegar a sugerir medidas prácticas, económicas y viables para el almacenamiento de estos productos en las diversas regiones del país.

## MATERIALES Y METODOS

## Semilla:

La semilla de calabacita utilizada en el presente trabajo, proporcionada por la Productora Nacional de Semillas, fue de la variedad "Gray Zucchini", cosechada en el ciclo primavera-verano de 1979 en el Valle de Santo Domingo Baja California Sur, de categoría certificada, presentando las siguientes características: - El contenido de humedad de la semilla fue de 6.9%, con una germinación del 85% y 0% de semillas invadidas por hongos.

## Contenido de Humedad:

El contenido de humedad fue determinado utilizando el método de secado en horno, pesando de uno a dos gramos de semillas en cajas de aluminio previamente pesadas, siendo posteriormente sometidas a una temperatura de 130°C durante una hora (Kulik, 1973); transcurrido este tiempo las cajas fueron tapadas y sacadas del horno colocándolas en un desecador con gel de sílice hasta enfriarse, pesándolas posteriormente en una balanza analítica. El porcentaje de humedad fue obtenido por diferencia de peso y se expresa con base en el peso húmedo.

## Ajuste del contenido de humedad:

El contenido de humedad inicial del lote fue reducido en el horno a 35°C por cuatro horas; al término, las semillas fueron homogeneizadas y guardadas, determinándose de nuevo el contenido de humedad, habiéndose reducido éste hasta 5.5%; la germinación se conservo en 85%.

Reducido el contenido de humedad se procedió a separar las semillas en dos lotes y a uno de ellos le fue ajustado el contenido de humedad, elevándose a

8.9%, mediante la adición de agua, cuya cantidad fue calculada con la siguiente fórmula:

$$\frac{100 - \% \text{ de humedad presente}}{100 - \% \text{ de humedad deseada}} - 1 = F$$

Siendo F un factor que multiplicado por el número de gramos dará el número de mililitros de agua destilada necesarios para alcanzar el contenido de humedad deseado (Harcin y col., 1966). Para ajustar el contenido de humedad de las semillas se agregó el agua a un frasco de vidrio grande conteniendo las semillas, después de lo cual fue agitado vigorosamente hasta que el agua fue absorbida completamente por las semillas, obteniéndose un contenido de humedad de 8.9%.

#### Germinación:

El porcentaje de germinación fue determinado utilizando como sustrato toallas de papel húmedas - en las que se colocaron 50 semillas enrollándolas y guardándolas después en bolsas de polietileno perforadas, a temperatura aproximada de 26°C. Fueron utilizadas 400 semillas para determinar la germinación del lote original y 100 semillas para cada una de las muestras y repeticiones del experimento. Este método es una modificación del descrito por Christensen y López en 1962, posteriormente la cuenta de semillas germinadas fue hecha a los 4 y 8 días de acuerdo a lo recomendado por la Asociación Internacional de Analistas de Semillas, I.S.T.A. (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 1975).

#### Determinación del número y clase de hongos:

Las muestras de semillas fueron desinfectadas superficialmente con NaOCl al 2% durante 90 segundos; después se procedió a sembrar 50 semillas distribuidas en dos cajas de Petri por cada muestra y repetición; el medio de cultivo fue Malta-Sal-Agar que es un medio selectivo para los hongos de almacén y cuya fórmula es la siguiente:

Extracto de malta	2%
Cloruro de Sodio	6%
Agar	2%

Las siembras fueron realizadas dentro de una cámara estéril (Micro-void) para evitar contaminaciones. Después de sembradas las cajas fueron colocadas en un cuarto a temperatura constante aproximada a 26°C durante 8 días, al cabo de los cuales se procedió a contar el número de semillas invadidas por hongos y a identificar los mismos. No se presentaron hongos de campo, los hongos de almacén fueron identificados hasta especie según las claves de Raper y Fennel (1965).

#### Diseño Experimental:

El diseño experimental seleccionado es uno factorial, completamente aleatorio; fue utilizado este diseño tomando en cuenta, el volumen de semillas necesarias en cada muestreo y el número de muestreos durante el período de almacenamiento, así como lo homogéneo de los datos originales presentados en las semillas, las condiciones del almacenamiento y la precisión con que podrían ser controladas. De acuerdo con este diseño se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

Y = variable de respuesta

i = factor A

j = factor B

k = factor C

$\mu$  = media general

$\alpha$  = efecto de A

$\beta$  = efecto de B

$\gamma$  = efecto de C

donde:

$\alpha\beta$  = interacción AxB

$\alpha\gamma$  = interacción AxC

$\beta\gamma$  = interacción BxC

$\alpha\beta\gamma$  = interacción AxBxC

$\epsilon$  = error experimental

A = Humedad Relativa

B = Contenido de humedad

C = Período de almacenamiento

En el trabajo fue analizada la variabilidad entre las unidades experimentales por medio de un análisis de varianza, para observar si las semillas presentaron comportamientos diferentes en las distintas condiciones de almacenamiento, el cual nos determinó que había diferencias estadísticamente significativas. Por lo tanto se analizaron estas diferencias, determinando su localización y magnitud por medio de la prueba de Diferencia Significativa Mínima de contraste de medias, para determinar cómo las humedades relativas y los contenidos de humedad iniciales afectaron la calidad de la semilla en los períodos de almacenamiento.

#### Almacenamiento de semillas:

Muestras de semillas con 2 contenidos de humedad, 5.5 y 8.9%, fueron almacenadas en vasos de plástico perforados conteniendo aproximadamente 220 semillas cada uno, en 2 humedades relativas, 70 y 80%, fueron hechas tres repeticiones por tratamiento y colocadas con distribución aleatoria dentro de cajas de plástico de 40 x 20 x 10cm. Cada vaso fue etiquetado con el No. de tratamiento, la repetición, el No. de muestra y la humedad relativa que le correspondía, las muestras fueron depositadas sobre una base de plástico de 3cm. de altura para evitar el contacto directo con las soluciones, fueron sacadas muestras cada 15 días a excepción de las 2 primeras (cada 10 días), por un período de 215 días. Las humedades relativas dentro de las cajas de plástico fueron mantenidas con una solución sobresaturada de Sulfato de Amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  para 80% a 26°C (Winston y Bates, 1960), la segunda humedad relativa se logró con una solución de glicerina y agua, con un 62.5 y 37.5 v/v (Braun y Braun, 1958). En cada muestreo fueron determinados: contenido de humedad, porcentaje de germinación y porcentaje de semillas invadidas por hongos, las pruebas fueron efectuadas de la manera descrita anteriormente.

-RESULTADOS-

En la tabla III se muestran los promedios de germinación, contenidos de humedad y porcentaje de invasión en las semillas por cada especie de hongos a través de todo el período de almacenamiento en una temperatura aproximada de 26°C, humedades relativas de 70 y 80%, y contenidos de humedad iniciales de 5.5 y 8.9% en un período de almacenamiento de 215 días.

TABLA No. III

12

Efecto del contenido de humedad inicial y hongos de almacén sobre la germinación de semilla de calabacita almacenada por 215 días a diferentes humedades relativas a temperatura aproximada de 26°C.

PERIODO DE ALMACENAMIENTO (DIAS)	Humedad Relativa %	Contenido de Humedad %	Germinación %	% de semillas invadidas por hongos A <i>chevalieri</i> var <i>intermedius</i> A <i>pseudogigicus</i>	
0	70	5.5	85	0	0
		8.9	85	0	0
	80	5.5	85	0	0
		8.9	85	0	0
10	70	8.15	83	0	0
		8.56	70	0	0
	80	10.72	80	0	0
		10.68	80	0	0
20	70	8.03	95	0	0
		8.29	93	0	0
	80	10.53	90	0	0
		10.57	90	0	0
35	70	8.08	92	0	0
		8.29	88	0	0
	80	10.69	86	9	A 9
		10.65	92	10	B 8
50	70	8.30	86	0	0
		8.51	90	1	0
	80	11.06	84	36	36
		11.09	80	25	C 11
65	70	8.29	96	4	0
		8.50	93	0	0
	80	11.02	70	51	D 23
		11.04	71	19	E 10
80	70	8.09	94	0	0
		8.36	96	0	0
	80	10.78	76	38	F 17
		10.81	81	38	15
95	70	7.93	96	0	0
		8.09	90	0	0
	80	10.59	70	95	32
		10.47	69	90	23
110	70	8.13	93	0	0
		8.23	93	0	0
	80	10.64	71	74	18
		10.78	71	76	17
125	70	7.88	92	0	0
		8.05	96	0	0
	80	10.65	37	72	32
		10.61	29	91	51

TABLA No. III

Continuación.

PERIODO DE ALMACENAMIENTO (días)	Humedad Relativa %	Contenido de Humedad %	Germinación %	% de semillas invadidas por hongos A. chevalieri var. intermedium    A. pseudoglaucus	
140	70	7.82	96	0	0
		8.09	93	0	0
	80	10.61	36	77	36
		10.53	35	82	24
155	70	7.73	80	0	0
		7.87	81	0	0
	80	10.53	25	79	21
		10.52	22	85	22
170	70	7.65	81	0	0
		7.85	83	0	0
	80	10.45	13	77	24
		10.40	15	83	24
185	70	7.75	78	0	0
		7.90	80	0	0
	80	10.35	5	78	25
		10.37	1	81	25
200	70	7.78	67	0	0
		7.90	66	0	0
	80	10.58	1	78	30
		10.60	1	83	28
215	70	8.04	56	0	0
		8.22	55	0	0
	80	11.02	1	81	31
		11.01	1	80	31

SE PRESENTARON TAMBIEN SEMILLAS INVADIDAS POR:

A.....	<i>Aspergillus terreus</i>	7%
	<i>Aspergillus candidus</i>	7%
	<i>Aspergillus tamarici</i>	2%
B.....	<i>Aspergillus terreus</i>	4%
	<i>Aspergillus candidus</i>	3%
C.....	<i>Aspergillus candidus</i>	1%
D.....	<i>Aspergillus terreus</i>	1%
E.....	<i>Penicillium sp.</i>	7%
F	<i>Aspergillus candidus</i>	1%



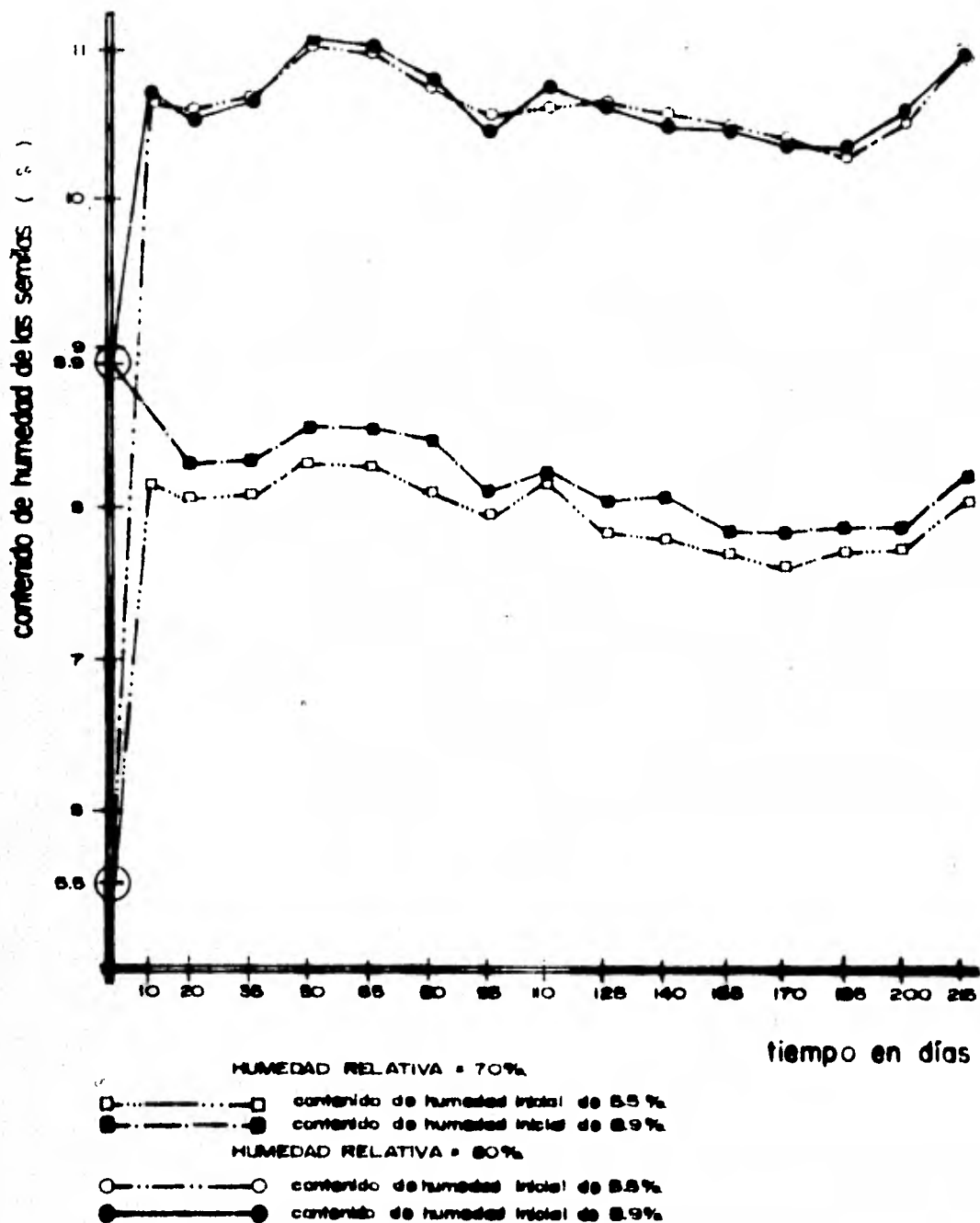
En la figura 1 se presentan los resultados del contenido de humedad de las semillas sometidas a humedades relativas de 70 y 80% a través del período de almacenamiento.

En la humedad relativa de 70% la humedad en equilibrio de la semilla fue observada en el muestreo realizado 20 días después de iniciado el almacenamiento, siendo ésta de  $8.1 \pm 0.3\%$ , en esta humedad relativa se notan diferencias ligeras en el contenido de humedad de las semillas con contenidos de humedad iniciales diferentes; esto parece corresponder al fenómeno de histeresis (Pixton y Warburton, 1973), que ha sido observado en una gran variedad de semillas.

En la humedad relativa de 80% la humedad en equilibrio de la semilla fue observada en el muestreo realizado 10 días después de iniciado el almacenamiento, siendo ésta de  $10.7 \pm 0.3\%$ , no se observaron a partir de este momento diferencias notables entre los dos contenidos de humedad de las semillas con diferentes contenidos de humedad iniciales.

figura 1

Contenido de humedad de la semilla de calabacita variedad "Fra. Zucchini" almacenada en humedades relativas de 70 y 80%, con contenidos de humedad iniciales de 5.5 y 8.9%



En la figura 2 se muestra el porcentaje de semillas invadidas por los hongos *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius* Thom et Raper y *Aspergillus pseudoglaucus* Blochwitz, detectados en la humedad relativa de 80% a lo largo del período de almacenamiento.

*Aspergillus chevalieri* var. *intermedius* es aislado a partir de los 35 días de almacenamiento observándose un incremento rápido hasta los 95 días, período en el cual fue encontrado en el 92% de las semillas, a partir de este momento las poblaciones se estabilizaron y así permanecieron hasta el final de nuestro experimento.

Por otra parte *Aspergillus pseudoglaucus* también se presenta a partir de los 35 días, pero sus poblaciones fueron incrementándose lentamente; a los 140 días se observa como máximo un 35% de semillas invadidas por esta especie; a partir de los 155 días los incrementos fueron más homogéneos y tendiendo hacia una estabilización posterior cercana al 30% de semillas invadidas por el hongo. Las diferencias que existen entre los porcentajes de semillas invadidas por el hongo con contenidos de humedad iniciales distintos, son pequeñas y tienden a reducirse conforme aumenta el período de almacenamiento.

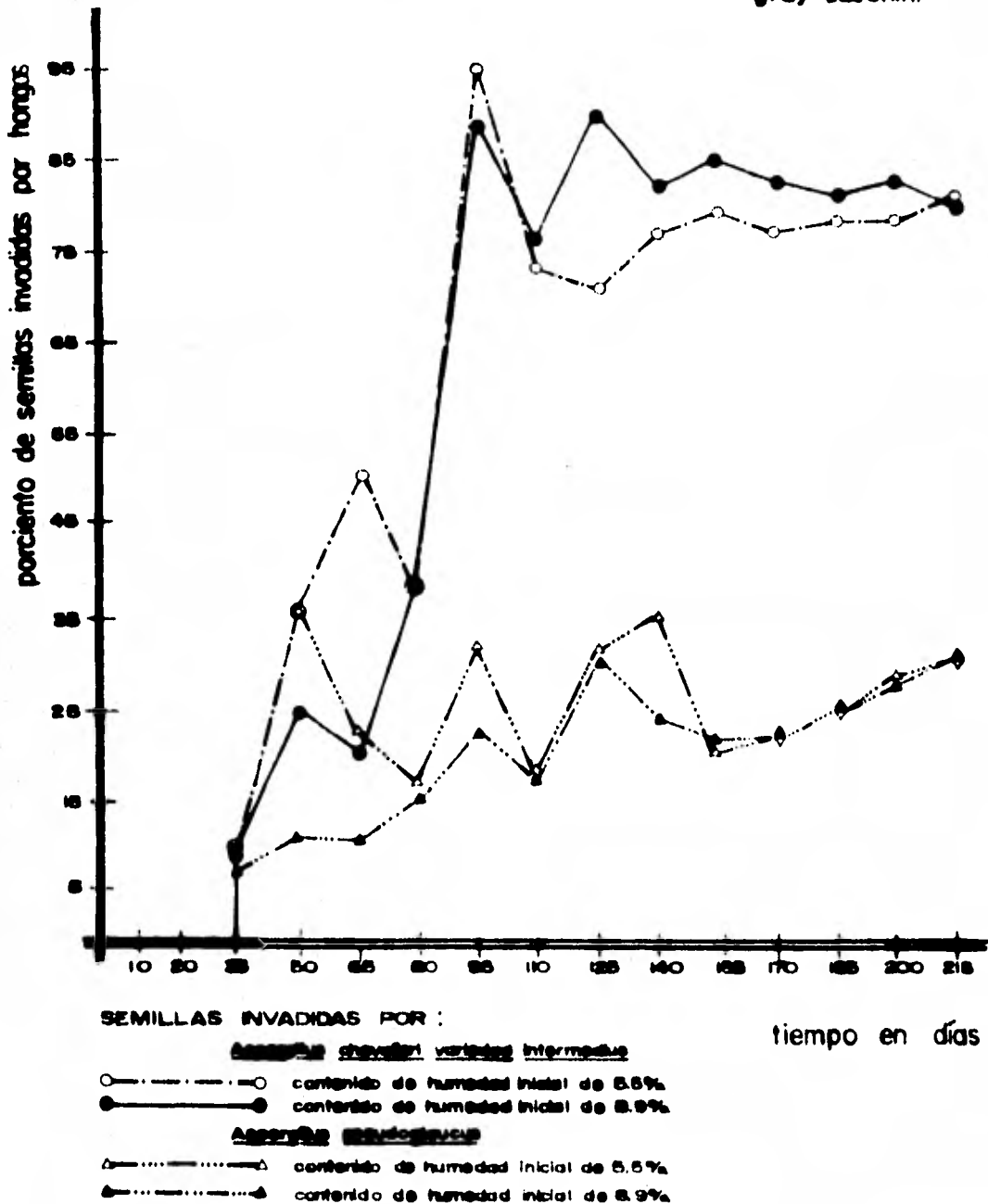
El hecho de que se presentaran sólo especies del grupo A. *glaucus* posiblemente sea debido a que este grupo es considerado xerotolerante y crece con contenidos de humedad relativamente bajos, que son encontrados a lo largo del presente experimento.

Las diferencias que se observan entre los porcentajes de invasión de cada especie de hongos puede deberse a algún antagonismo entre las dos especies antes mencionadas o a que *Aspergillus pseudoglaucus* requiere de contenidos de humedad mínimos para su crecimiento un poco más altos que los requeridos por la otra especie, es importante hacer notar que el contenido de humedad de la semilla es promedio de los contenidos de humedad de cada una de ellas y pueden existir diferencias mínimas que permiten el crecimiento de los hongos en unas y en otras no.

En la humedad relativa de 70% fueron aisladas distintas especies de hongos en porcentajes muy bajos, en los muestreos realizados a los 35, 50 y 65 días (ver tabla III), esto puede deberse a las diferencias en el contenido de humedad de cada una de las semillas o a contaminaciones accidentales durante la realización del muestreo.

figura 2

efecto del contenido de humedad inicial y humedad relativa de 80% durante el período de almacenamiento sobre el desarrollo de micoflora en semillas de calabacita variedad "gray zucchini"



En la figura 3 se presenta el porcentaje de germinación a lo largo del período de almacenamiento para los dos contenidos de humedad iniciales de nuestra semilla, almacenada en dos humedades relativas distintas.

Podemos decir con un 99% de seguridad que las diferencias que existen entre los distintos porcentajes de germinación debidas a los contenidos de humedad iniciales no son significativas, tampoco existen interacciones entre estos y la humedad relativa y el período de almacenamiento (tabla IV y V).

También con 99% de seguridad podemos decir que las diferencias que se observan por el efecto de la humedad relativa a través del almacenamiento son significativas. Los promedios más altos del porcentaje de germinación fueron obtenidos en las muestras almacenadas en la humedad relativa de 70%, en el período de 20 a 140 días después de iniciado el almacenamiento, esto también es cierto para las muestras almacenadas desde 20 a 35 días en la humedad relativa de 80% y estos promedios son iguales entre sí. En humedad relativa de 70% el promedio de germinación del muestreo de los 155 días es diferente a todos los anteriores a excepción del primero, y es igual a las dos medias de germinación de los dos muestreos siguientes realizados a los 170 y 215 días, que también son diferentes entre sí (tabla V ; cuadro 1 y 2).

efecto del contenido de humedad inicial y humedad relativa durante el periodo de almacenamiento sobre la germinación de semillas de calabacita variedad "gray zucchini"

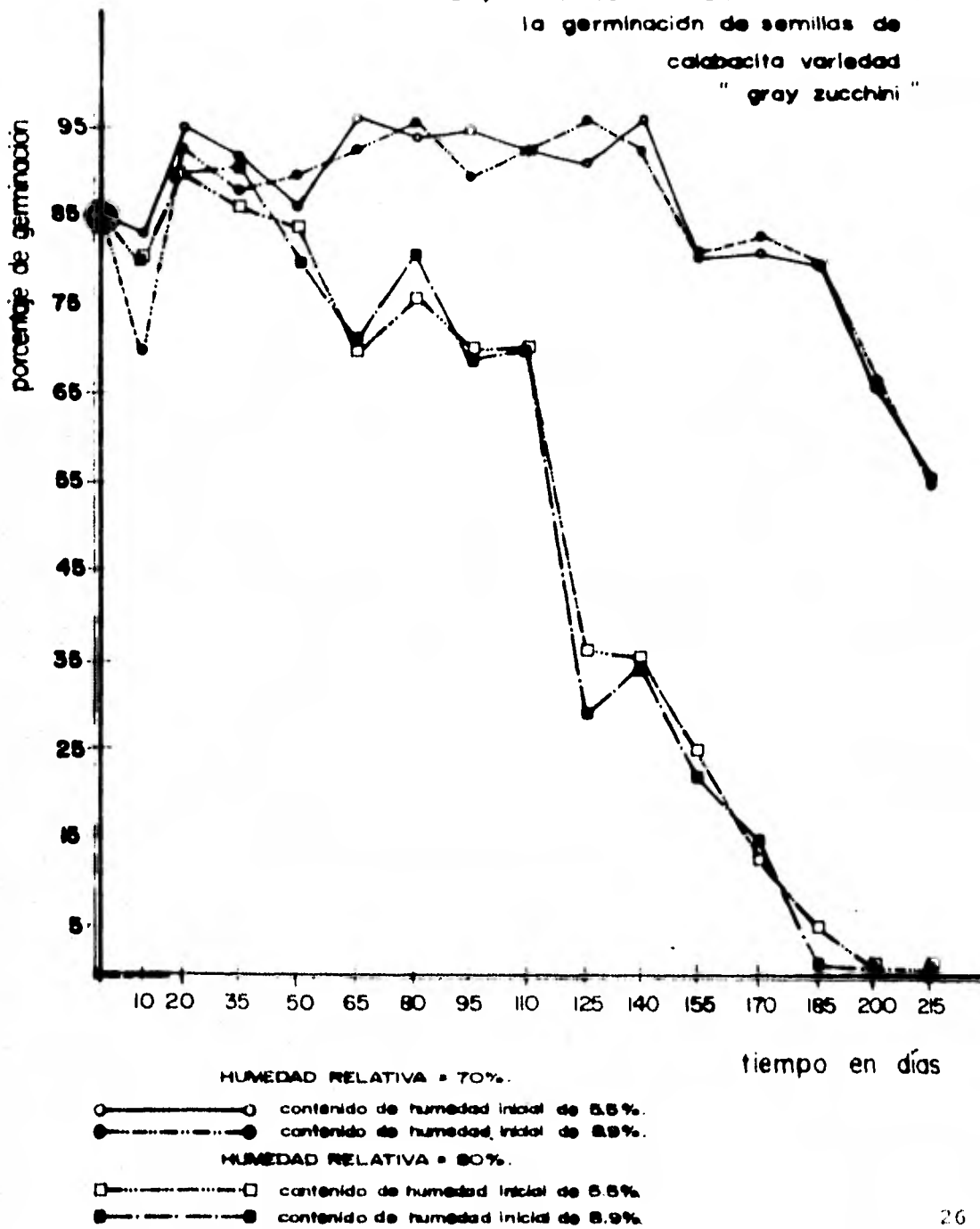


TABLA IV

## Prueba de F.

Análisis de Varianza total, para los porcentajes de germinación de semillas de calabacita almacenada - por 215 días en Humedad Relativa de 70 y 80% y contenidos de humedad inicial de 5.5 y 8.9%.

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Nivel de Significancia	
				F	0.05 0.01
Humedad Relativa	1	56,710.67	56,710.67	2,461.61	* *
Contenido de Humedad inicial	1	40.14	40.14	1.73	° °
Periodo de almacenamiento	14	78,355.75	5,596.83	241.95	* *
Humedad / Contenido de humedad	1	3.52	3.52	0.15	° °
Humedad/ Periodo de almacenamiento	14	33,150.97	2,367.92	102.36	* *
Contenido de Humedad/ Periodo de almacenamiento	14	216.66	0.25	0.01	° °
Humedad/ Contenido de Humedad/ Periodo de almacenamiento	14	412.20	29.42	1.27	° °
Error	120	2,775.92	23.13	--	
Total	179	171,625.67	--	--	

\* Altamente significativa.

° No significativa.



TABLA  $\bar{V}$  :

Contraste de medias\* de germinación de semilla de calabacita, almacenada por 215 días en humedad relativa de 70 y 80%, y contenidos de humedad inicial de 5.5 y 8.9%.

El contraste fue realizado con la prueba de Diferencia Significativa Mínima, en un nivel de significancia  $\alpha$  0.01 y prueba de F positiva.

H1 = Humedad Relativa de 70%

H2 = Humedad Relativa de 80%

C1 = Contenido de humedad inicial de 5.5%

C2 = Contenido de humedad inicial de 8.9%

M = Muestreo ( 1-15 )

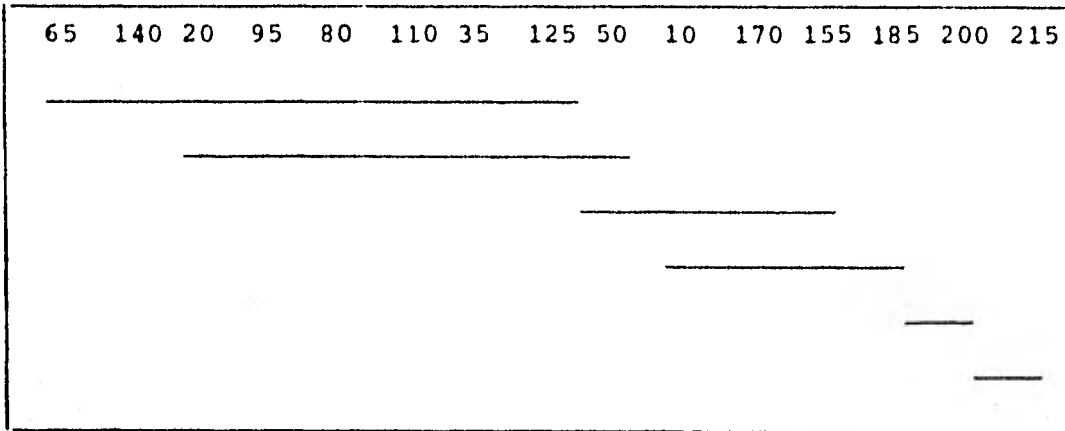
\* Cada media representa tres repeticiones.



CUADRO 1

Contraste de medias de germinación de semillas de calabacita almacenada con contenido de humedad inicial de 5.5% en humedad relativa de 70%, en un nivel de significancia  $\alpha$  0.01

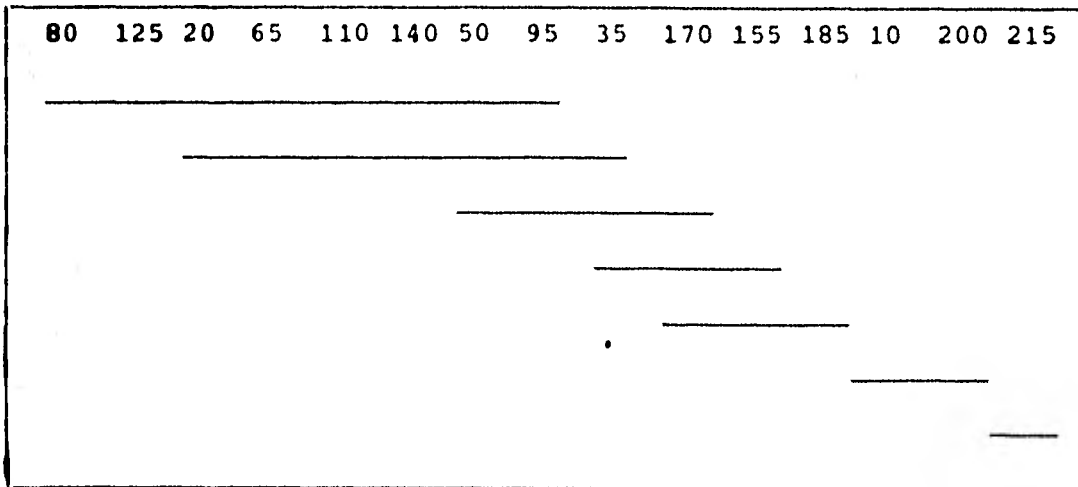
-días-



CUADRO 2

Contraste de medias de germinación de semillas de calabacita almacenada con contenido de humedad inicial de 8.9% en humedad relativa de 70%, en un nivel de significancia  $\alpha$  0.01

-días-



En la humedad relativa de 80%, los promedios de germinación en los muestreos de 35 y 50 días son diferentes al de 65 días, el cual es igual a los de 80, 95 y 110 días, se muestra una clara diferencia entre todos estos promedios y el de 125 días que es igual al de 140 y diferentes ambos a los posteriores de 155, 170 y 185 días, que también son diferentes entre sí, el de 185 días es igual a los de 200 y 215 días (tabla  $\bar{V}$ ; cuadros 3 y 4).

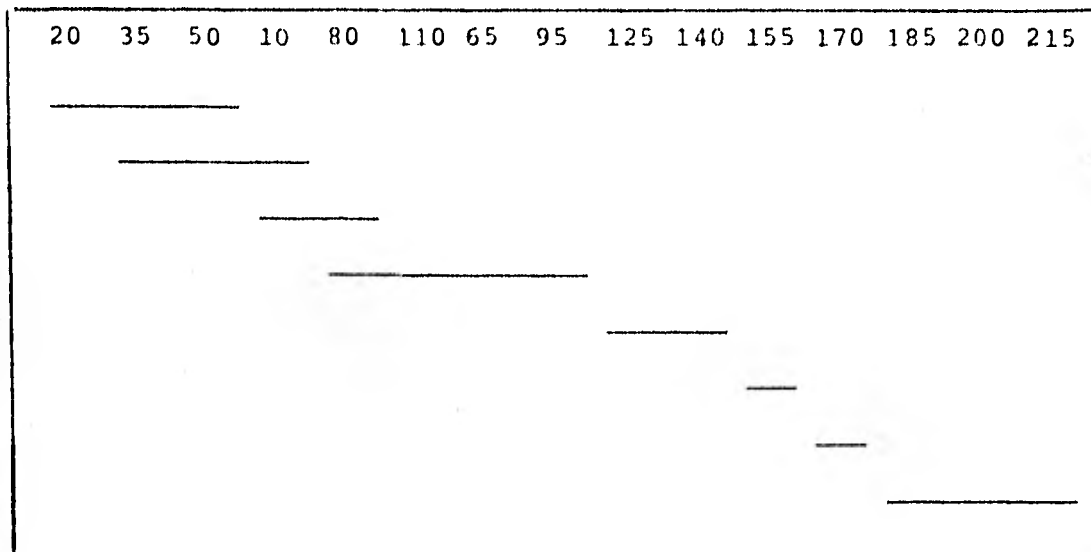
De acuerdo con estos datos sugerimos que la humedad relativa durante el almacenamiento tiene un efecto crucial en la germinación. En humedad relativa de 80% después de los 50 días de almacenamiento se nota claramente el inicio del descenso en el porcentaje de germinación, mientras que en una humedad relativa de 70% se conserva el porcentaje de germinación alto por un tiempo de 140 días, a partir de este muestreo se inicia el descenso en el porcentaje de germinación con una pendiente similar a la observada en el inicio del descenso en el porcentaje de germinación de las semillas almacenadas en 80% de humedad relativa.

Los promedios de germinación en ambas humedades relativas y contenidos de humedad inicial del primer muestreo son diferentes a los promedios de los muestreos subsecuentes, existiendo un aumento en el porcentaje de germinación dentro de los primeros 20 días, este aumento va de 85% de germinación original hasta un 90 y 95% conservándose en las semillas en la humedad relativa de 70% hasta los 140 días. Este aumento no esperado en el porcentaje de germinación, lo atribuimos a procesos de latencia que serán discutidos posteriormente.

CUADRO 3

Contraste de medias de germinación de semillas de calabacita almacenada con contenido de humedad - inicial de 5.5% en humedad relativa de 80%, en - un nivel de significancia  $\alpha$  0.01

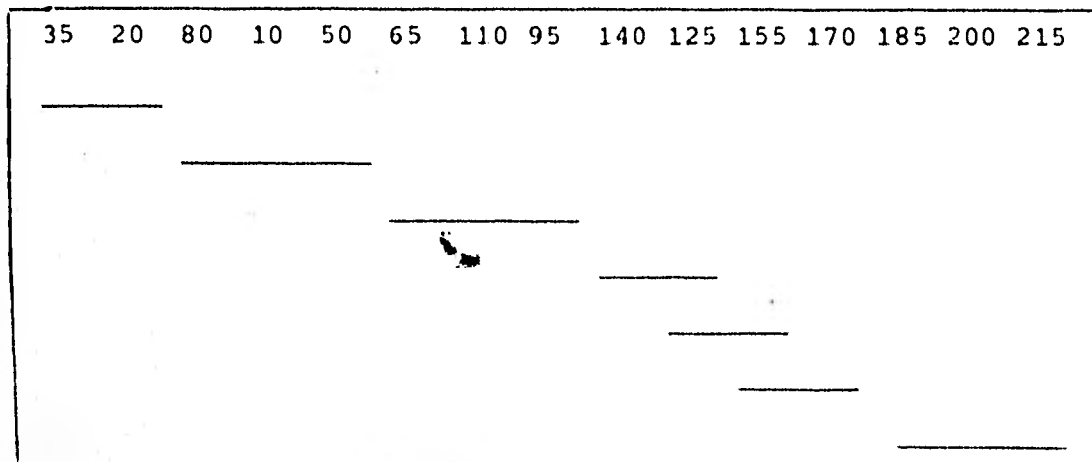
-días-



CUADRO 4

Contraste de medias de germinación de semillas de calabacita almacenada con contenido de humedad - inicial de 8.9% en humedad relativa de 80%, en un nivel de significancia  $\alpha$  0.01

-días-



## DISCUSION

Como se ha mostrado en los resultados, el contenido de humedad inicial a pesar de presentar aparentemente el fenómeno de histeresis no se refleja en la capacidad de germinación de la semilla, por lo tanto podemos desechar el control de este parámetro siempre y cuando el almacenamiento sea abierto y con buena aereación; esto se debe a que el contenido de humedad se equilibra rápidamente y no tiene mayor efecto posterior.

Con respecto a la micoflora que se presentó en la humedad relativa de 80% está formada por dos especies de hongos del grupo *Aspergillus glaucus* una de estas especies, *Aspergillus chevalieri* var. *intermedius* Thom et Raper, invade rápidamente hasta un 92% de semillas en 95 días; esto quizás tenga un efecto sinérgico junto con el contenido de humedad de las semillas, produciéndose un incremento en el deterioro de éstas; otra especie de *Aspergillus* que fue encontrada es *Aspergillus pseudoglaucus* Blochwitz en una proporción mucho más baja, que también puede ayudar a este efecto. En la humedad relativa de 70% no se presentó desarrollo importante de micoflora por lo que cualquier deterioro se debe a otras causas.

Las curvas de germinación en humedad relativa de 80% son similares a la propuesta por Roberts en 1973, quien propone un decaimiento exponencial en la germinación por causas fisiológicas, en particular el parámetro del decaimiento depende exponencialmente del contenido de humedad. Esto sugeriría que las curvas de germinación observadas representan sólo el deterioro fisiológico, la invasión casi total de la población de semillas a los 95 días no produce un cambio drástico en la curva de germinación que muestre una influencia decisiva de la presencia de hongos sobre la germinación, sin embargo

no podemos descartar la posibilidad de que la invasión - por hongos de almacén acelere el proceso de decaimiento - en forma similar al contenido de humedad.

La curva de germinación en la humedad relativa de 70% muestra una estabilidad por un tiempo prolongado y se produce el descenso en la forma que se esperaba de la ecuación de Roberts, en este caso no existe invasión por hongos, por lo que las causas del deterioro parecen ser debidas en gran medida a los procesos fisiológicos. Hay que hacer notar, que una comparación entre las curvas a las distintas humedades relativas apoya la idea de que estos hongos pertenecientes al grupo de *Aspergillus glaucus* no afectan el porcentaje de germinación para esta semilla, de acuerdo con el trabajo de Harman y Pflieger en 1974.

Una observación interesante es que la germinación óptima fue obtenida 20 días después del inicio - del almacenamiento en las diferentes humedades relativas - usadas en este experimento, y no al inicio del mismo. Esto puede deberse a que una pequeña parte de la población de semillas presentaba latencia, si tomamos en cuenta que las semillas estuvieron almacenadas a 5°C por varios meses antes del inicio del experimento y ya en este a 26°C, podemos discutir por qué en estas condiciones es posible terminar con la latencia de un pequeño porcentaje de semillas que aún la tenían, para esto debemos tomar en cuenta lo siguiente:

Para algunas especies la ruptura de la latencia ocurre gradualmente, las semillas adquieren la capacidad de germinar en temperaturas medias después de permanecer largos períodos en temperaturas bajas. La latencia de los embriones usualmente está relacionada con concentraciones altas de ácido abscísico; al descender la concentración de éste se puede iniciar la germinación .

Se sabe que el efecto del frío afecta el balance de

inhibidores y estimuladores del crecimiento, se ha encontrado que no sólo en semillas latentes sino también en semillas activas el balance hormonal es afectado por el frío; un ejemplo de esto es con las semillas de maíz, hay acumulación de concentraciones muy altas de ácido indolacético hasta el final del período frío, éstas bajan drásticamente al momento de iniciarse la germinación (Nikolaeva, 1977).

Cuando existen semillas cuya latencia puede ser terminada por períodos de almacenamiento en frío, el mecanismo de inhibición fisiológica está asociado con una acción inhibitoria de las cubiertas externas del embrión; éstas interfieren en el intercambio gaseoso como una barrera pasiva al retener oxígeno. Al bajar la temperatura, las cubiertas no afectan el suministro de oxígeno por la reducción de la tasa metabólica; de esta manera el embrión puede desarrollarse y sobreponerse a la acción inhibitoria de las cubiertas externas; en algunos casos, la ruptura de la latencia aparece sólo cuando el embrión presenta un desarrollo posterior durante un período de temperaturas medias. Es conveniente hacer notar que los diferentes tipos de latencia y la profundidad de ésta, no sólo son diferentes entre especies, sino también dentro de una misma especie y aún en cada semilla, estas diferencias son el resultado de variaciones en el origen geográfico, grado de madurez y la naturaleza y duración del almacenamiento. No es raro que se encuentren semillas de diferentes especies con el mismo tipo de latencia, que responden diferente; esto puede deberse a peculiaridades anatómicas fisiológicas y/o bioquímicas (Nikolaeva, 1977).

De acuerdo con esto podemos pensar que un porcentaje de nuestra semilla presentaba latencia, que al pasar de una temperatura de 5°C a una de 26°C el embrión pudo terminar su desarrollo y, de esta manera terminar su período de latencia, incrementándose así el porcentaje original de germinación.



## CONCLUSIONES

Este estudio nos ha permitido en parte dilucidar los objetivos del trabajo, el efecto del contenido de humedad inicial previo al almacenamiento no influye, en condiciones de laboratorio, en la calidad de las semillas siempre y cuando sea un almacenamiento abierto y con buena aereación.

La determinación de que si la causa primaria del deterioro es debida a los hongos de almacén o por otras causas en humedades relativas altas (80%) no ha quedado totalmente dilucidada; si bien la evidencia sugiere que los hongos no afectan la germinación, es necesario desarrollar un estudio en el que se demuestre esto.

Con respecto a nuestro tercer objetivo podemos asegurar que la variedad estudiada de calabacita, en condiciones de almacenamiento abierto en humedad relativa de 80% y temperatura de 26°C mantiene una calidad aceptable para las normas del Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas de la S.A.R.H. (1975), de 85% de germinación hasta los 35 días de almacenamiento. El período de almacenamiento con una calidad aceptable de la semilla del 85% de germinación, se prolonga hasta los 140 días al almacenarse la semilla en una humedad relativa de 70%.

## BIBLIOGRAFIA CITADA

- Abou Hussein, M.R. and M.S. El-Beltagy. 1977. Effect of seed storage period on flowering and sexuality of squash plants. Egypt. J. Hort., 4(2): 175-180
- Anuario Estadístico de Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos de 1977. Editado por la Secretaría de Programación y Presupuesto - México, 1979.
- Askenov, S.I., Askochenskaya, N.A., and Petinov, N.S. 1969. The fractions of water in wheat seed. Fiziologiya Rast., 16: 58-62
- Berjak, P. and T.A. Villiers. 1972. Ageing in plants embryos. II Age-induced damage and its repair during early germination. New Phytol., 3: 761-774.
- Braun, J.V. and J.D. Braun. 1958. A simplified method of preparing solutions of glycerol and water for humidity control. Corrosion, 14: 17-18
- Brown, R. 1940. An experimental study on the permeability to gases of seed coat membranes of *Cucurbita pepo* L.. Ann. Bot., 4: 379-395
- Christensen, C.M. y L.C. López. 1962. Daños que causan en México los hongos a los granos almacenados. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Folleto Técnico No. 44, 29pp.
- Christensen, C.M. y H.H. Kaufmann. 1976. Contaminación por hongos en granos almacenados. Primera Edición en Español, Editorial Pax-México.

- Curtis, H.J. 1967. Radiation and ageing. In Aspects of Biology of Ageing (Ed. H.W. Woolhouse), pp. 51 S.E.P. Symposium XXI, Cambridge University - Press.
- Coutiño, M.B., E. Moreno y M. Zenteno. 1970. Efecto de ciertas condiciones de almacenamiento sobre la viabilidad de la semilla de cebolla *Allium cepa* L. y coliflor *Brassica oleracea* L. Rev. Lat. Amer. Microbiol., 12: 109-114
- Díez, M.G. 1979. El cultivo de la calabacita en México y sus perspectivas de exportación a Estados Unidos y Canada en la temporada 1979-1980. Unión Nacional de Productores de Hortalizas, Boletín Bimestral, 38: 71-83
- Dirección General de Economía Agrícola. 1979. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos, 1977. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, México
- Harein, K.P. and E.L. Soderstrom. 1966. Coleoptera Infesting Stored Products. Academic Press Inc. New York
- Harman, G.E. and F.L. Pflieger. 1974. Pathogenicity and infection sites of *Aspergillus* species in stored-seeds. Phytopathology 64: 1339-1344
- Kononkov, F.P., YA.V. Kravchuk, V.A. Vasianova. 1975. El cambio en la calidad de semillas de cultivos de legumbres bajo el efecto continuo de la variación de temperatura y humedad ambiental. Doklady Vsesoyuznoi Ordena Lenina Akademii - Sel' skokhozya'stvennykh Nauk Imeni V.I. Lenina 7: 15-16

- Kulik, M.M. 1973. Susceptibility of stored vegetable seeds to rapid invasion by *Aspergillus amstelodami* and *Aspergillus flavus* and effect on germinability. Seed Sci. and Technol., 1: 799-803
- Nikolaeva, M.G. 1977. Factors controlling the seed dormancy pattern. In The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination. (Ed. - A.A. Khan), pp. 55-74. North Holland Publishing Company, Amsterdam
- Novruzov, K. 1972. La influencia del tiempo en el almacenamiento de semillas en las cosechas de los cultivos de cucurbitáceas. Izvestiya Akademii Nauk Turkmenskoi SSR, Biologicheskii Nauki, 1: 80-82
- Pixton, S.W. and S. Warburton. 1973. The influence of the method used for moisture adjustment on the equilibrium relative humidity of stored products. J. Stored Prod. Res., 9: 189-197
- Raper, K.B. and D.I. Fennell. 1965. The genus Aspergillus. The Williams and Wilkins Company. Baltimore, U.S.A.
- Roberts, E.H. 1973. Predicting the storage life of seeds. Seed. Sci. and Technol., 1:499-514
- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1975. Normas para la Certificación de Semillas. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas. Dirección General de Agricultura, 91 pp.

- Soto, J.E. 1978. Situación nacional del cultivo de la calabacita y perspectivas de exportación a Estados Unidos y Canada. Unión Nacional de Productores de Hortalizas, Boletín Bimestral, Año 5, 29:1161-1168
- Unión Nacional de Productores de Hortalizas. 1980. Memorias de la X Convención Anual y XXI Asamblea General Ordinaria. Culiacán Sinaloa, México
- Vaugham. J.G. 1970. The Structure and Utilization of Oil Seeds. Chapman and Hall Ed. New York pp. 63-65
- Verzar, F. 1968. Intrinsic and extrinsic factors of molecular ageing. Exp. Gerontol., 3: 69-75
- Villarreal, R.L., J.B. Balagedan, and A.D. Castro. 1972. The effect of packeting materials and storage conditions on the vigor and viability of squash *Cucurbita maxima* Duch. patola *Lufa acutangula* Land upo *Langenaria siceraria* Mol. seeds. Philippine Agriculturist 56(3/4): 59-76
- Villiers, T.A. and D.J. Edgcumbe. 1975. On the cause of seed deterioration in dry storage. Seed Sci. and Technol., 3: 761-774
- Winston, P.W. and D.H. Bates. 1960. Saturated solutions of the control of humidity in biological research. Ecology 41: 232-237