

# Physiological quality of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) seed under two storage conditions

## Calidad fisiológica de semilla de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) en dos condiciones de almacenamiento

Aureliano Peña-Lomelí; Linda Angélica Moreno-Sánchez; Alexa Sánchez-Mejía; Natanael Magaña-Lira\*; Juan Martínez-Solís; Jaime Sahagún-Castellanos

Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de Fitotecnia. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

\*Corresponding author: mlnatanael@gmail.com, tel. 595 102 82 88.

### Abstract

In order to evaluate the physiological quality of tomatillo seeds over time and the effect of two environments, seeds of four varieties produced in 2013 were stored for three years under ambient conditions ( $23.43 \pm 0.64$  °C and 23 % RH) and at the Germplasm Bank (-20 °C and 13 % RH) of the *Universidad Autónoma Chapingo*, Mexico. They were sampled every year from October 2013 to November 2016. Germination and vigor tests were performed in each sampling under a completely randomized experimental design with six replications. Germination percentage was determined at 30 °C for 21 days in a germination chamber. Vigor was evaluated by means of the germination speed index (GSI), seedling length (SL), seedling dry weight (SDW) and percentage of normal seedlings (NS). After three years of storage, germination decreased 4.3 %, where the highest percentages were obtained with the Diamante and Tecozautla 04 varieties. However, the four varieties evaluated showed more than 90 % germination. No significant effect of storage environments on germination was observed, although the highest GSI and NS values were obtained under the storage conditions of the Germplasm Bank. The Diamante variety showed the highest germination percentage and GSI values. In the vigor variables (GSI, SL and SDW) a negative influence was observed due to the effect of storage time.

**Keywords:** germination, vigor, seed quality, deterioration, conservation.

### Resumen

Con el fin de evaluar la calidad fisiológica de semillas de tomate de cáscara a través del tiempo y el efecto de dos ambientes, se almacenaron semillas de cuatro variedades producidas en 2013 durante tres años en condiciones ambientales ( $23.43 \pm 0.64$  °C y HR 23 %) y en el Banco de Germoplasma (-20 °C y HR 13 %) de la Universidad Autónoma Chapingo, México. Se muestreó cada año desde octubre de 2013 hasta noviembre de 2016. En cada muestreo se hicieron pruebas de germinación y vigor bajo un diseño experimental completamente al azar con seis repeticiones. El porcentaje de germinación se determinó a 30 °C durante 21 días en una cámara germinadora. El vigor se evaluó por medio del índice de velocidad de germinación (IVG), longitud de plántula (LP), peso seco de plántulas (PSP) y porcentaje de plántulas normales (PN). Después de tres años de almacenamiento, la germinación decreció 4.3 %, donde los porcentajes más altos se obtuvieron con las variedades Diamante y Tecozautla 04. Sin embargo, las cuatro variedades evaluadas presentaron más del 90 % de germinación. No se observó efecto significativo de los ambientes de almacenamiento sobre la germinación, aunque se presentaron los valores más altos de IVG y PN bajo las condiciones de almacenamiento del Banco de Germoplasma. La variedad Diamante presentó los mayores valores de porcentaje de germinación e IVG. En las variables de vigor (IVG, LP y PSP) se observó una influencia negativa por efecto del tiempo de almacenamiento.

**Palabras clave:** germinación, vigor, calidad de semilla, deterioro, conservación.



## Introduction

The tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.), also known as the Mexican husk tomato, is a vegetable that has been consumed in Mexico since pre-Columbian times (Santiaguillo-Hernández et al., 2012). As an olericultural species, it has great economic and cultural importance for the Mexican population. It is currently ranked the sixth horticultural crop in terms of planted area, after chili pepper (*Capsicum annuum* L.), squash (*Cucurbita argyosperma*), potato (*Solanum tuberosum* L.), tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and onion (*Allium cepa* L.). It is planted in 30 states of the Mexican Republic, and its cultivated area is 42,464 ha, with an average yield of 19.9 t·ha<sup>-1</sup> and a production value of \$3,006,099.93 MXN (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2021).

One of the most important inputs in an efficient production system is the seed, which is the starting point to have a favorable response to commercial growing conditions, produce vigorous plants and, consequently, achieve higher fruit production. Seed represents a strategic input par excellence, which allows sustaining agricultural activities, and contributes significantly to improving production in terms of quality and profitability (Coronado-González, Peña-Lomelí, Magaña-Lira, Sahagún-Castellanos, & Ybarra-Moncada, 2019).

Seed quality is a multi-faceted concept comprising several components, including physical, genetic, sanitary and physiological ones (Pérez-Camacho, González-Hernández, Molina-Moreno, Ayala-Garay, & Peña-Lomelí, 2008b; Pérez-Camacho et al., 2012). Physiological attributes are those related to seed metabolism, i.e., the expression of the maximum developmental potential of the seed (Pichardo-González et al., 2010), such as viability, germination capacity and vigor. On the other hand, deterioration means the loss of some of the key physiological functions, which ultimately leads to the loss of essential attributes for seed quality such as vigor and germination capacity (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2011).

Seed deterioration is associated with changes in its metabolism. The factors that in interaction can lead to deterioration and loss of vigor and viability, total or partial, are temperature, moisture, oxygen pressure, bacteria, fungi, insects and rodents (Doria, 2010). The rate of deterioration depends on the environmental conditions during storage and the storage time of the seeds.

The objective of storage is to reduce the speed and effects of deterioration to keep the seeds viable and in good physical and physiological condition until

## Introducción

El tomate de cáscara o tomate verde (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.), también llamado tomatillo, es una hortaliza que se consume en México desde tiempos precolombinos (Santiaguillo-Hernández et al., 2012). Como especie olerícola, presenta gran importancia tanto económica como cultural para la población mexicana. Actualmente, es el sexto cultivo hortícola en cuanto superficie sembrada, después del chile (*Capsicum annuum* L.), la calabaza (*Cucurbita argyosperma*), la papa (*Solanum tuberosum* L.), el jitomate (*Solanum lycopersicum* L.) y la cebolla (*Allium cepa* L.). Se siembra en 30 estados de la República Mexicana, y su superficie cultivada es de 42,464 ha, con un rendimiento promedio de 19.9 t·ha<sup>-1</sup> y un valor de la producción de \$3,006,099.93 MXN (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2021).

Uno de los insumos más importantes en un sistema de producción eficiente es la semilla, que es el punto de partida para tener una respuesta favorable a las condiciones de cultivo comercial, producir plantas vigorosas y, consecuentemente, alcanzar una mayor producción de fruto. La semilla representa un insumo estratégico por excelencia, la cual permite sustentar las actividades agrícolas, y contribuye significativamente a mejorar la producción en términos de calidad y rentabilidad (Coronado-González, Peña-Lomelí, Magaña-Lira, Sahagún-Castellanos, & Ybarra-Moncada, 2019).

La calidad de la semilla es un concepto múltiple que comprende varios componentes: físicos, genéticos, sanitarios y fisiológicos (Pérez-Camacho, González-Hernández, Molina-Moreno, Ayala-Garay, & Peña-Lomelí, 2008b; Pérez-Camacho et al., 2012). Los atributos fisiológicos son aquellos relacionados con el metabolismo de la semilla; es decir, la expresión del potencial máximo de desarrollo de la semilla (Pichardo-González et al., 2010), como la viabilidad, la capacidad germinativa y el vigor. En contra parte, el deterioro significa la pérdida de algunas de las funciones fisiológicas clave, lo cual, finalmente, conduce a la pérdida de atributos esenciales para la calidad de las semillas como el vigor y la capacidad germinativa (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2011).

El deterioro de la semilla está asociado con cambios en su metabolismo. Los factores que en interacción pueden conducir al deterioro, la pérdida del vigor y de la viabilidad, total o parcial, son temperatura, humedad, presión de oxígeno, bacterias, hongos, insectos y roedores (Doria, 2010). La tasa de deterioro depende de las condiciones ambientales durante el almacenamiento y del tiempo de almacenamiento de las semillas.

sowing, where they are expected to have satisfactory germination and adequate vigor in seedling emergence (Jara, 1997). In tomatillo, as in many other species, it is common to observe that stored seed quickly loses viability with storage temperatures above 30 °C, a condition that frequently occurs in agricultural field warehouses (Pérez-Camacho et al., 2012).

Little research has been conducted on the quality of tomatillo seed and its deterioration. Detailed knowledge of the morphological and physiological characteristics of the seeds of this species could help to identify the factors involved in their deterioration. This aspect is important in breeding and germplasm conservation programs (Pérez-Camacho et al., 2008b; Coronado-González et al., 2019). Therefore, the aim of this research was to determine the impact of storage conditions and time on the germination and vigor of seeds of four tomatillo varieties.

### Materials and methods

The research was carried out at the National Plant Germplasm Bank and the Ecology and Seed Analysis Laboratories of the Plant Science Department of the *Universidad Autónoma Chapingo* (UACH) (19° 30' North latitude and 98° 59' West longitude, at 2,250 m a. s. l.). This work is part of the Tomatillo Breeding Program.

The biological material used in the experiments was produced in the spring-summer 2013 cycle in the experimental field of UACH (Gema, Tecozautla 04 and Diamante varieties) and the *Colegio de Postgraduados*, Campus Montecillo, State of Mexico (Manzano Tepetlixpa variety). The varieties analyzed are registered in the National Catalogue of Plant Varieties (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas [SNICS], 2021).

Crop management was carried out as described by Martínez-Solís, Peña-Lomelí, and Montalvo-Hernández (2004) for the production of tomatillo seed. Seedlings were transplanted into the open field in the first week of April 2013, at a density of 30,000 plants-ha<sup>-1</sup>. The fruits were harvested in the second week of June, when they were physiologically mature and had a light green to yellow color, in the case of the Gema, Tecozautla 04 and Diamante varieties, and a yellow color in Manzano Tepetlixpa. Seed extraction of each variety was performed immediately after harvest with a pulping machine suitable for tomatillo (Coronado-González et al., 2019).

The seed was sun-dried on racks (Martínez-Solís et al., 2004) and subsequently processed in October 2013 with an air screen cleaner (model LA-LS/B, Seedburo®, USA), with a 1 HP motor. With the use of 1.5, 2.0 and

El objetivo del almacenamiento es reducir la velocidad y los efectos del deterioro para mantener las semillas viables y en buena condición física y fisiológica hasta su siembra, donde se espera tener una germinación satisfactoria y vigor adecuado en la emergencia de plántula (Jara, 1997). En tomate de cáscara, como en muchas otras especies, es común observar que la semilla almacenada pierde rápidamente la viabilidad con temperaturas de almacenamiento superiores a 30 °C, condición que ocurre frecuentemente en bodegas de campos agrícolas (Pérez-Camacho et al., 2012).

La investigación en relación con la calidad de la semilla de tomate de cáscara y su deterioro es escasa. El conocimiento detallado de las características morfológicas y fisiológicas de las semillas de dicha especie podría ayudar a identificar los factores involucrados en su deterioro. Este aspecto es importante en los programas de mejoramiento genético y de conservación de germoplasma (Pérez-Camacho et al., 2008b; Coronado-González et al., 2019). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue determinar el impacto de las condiciones y el tiempo de almacenamiento sobre la germinación y el vigor de semillas de cuatro variedades de tomate de cáscara.

### Materiales y métodos

La investigación se realizó en el Banco Nacional de Germoplasma Vegetal y en los Laboratorios de Ecología y Análisis de Semillas del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) (19° 30' latitud norte y 98° 59' longitud oeste, a 2,250 m s. n. m.). El presente trabajo forma parte del programa de Mejoramiento Genético de Tomate de Cáscara.

El material biológico empleado en los experimentos se produjo en el ciclo primavera-verano 2013 en el campo experimental de la UACH (variedades Gema, Tecozautla 04 y Diamante) y del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México (variedad Manzano Tepetlixpa). Las variedades analizadas se encuentran inscritas en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas [SNICS], 2021).

El manejo del cultivo se realizó de acuerdo con lo descrito por Martínez-Solís, Peña-Lomelí, y Montalvo-Hernández (2004) para la producción de semilla de tomate de cáscara. Las plántulas se trasplantaron a campo abierto en la primera semana de abril de 2013, a una densidad de 30,000 plantas-ha<sup>-1</sup>. La cosecha de frutos se realizó en la segunda semana de junio, cuando éstos estaban maduros fisiológicamente y tenían color verde claro a amarillo, en el caso de las variedades Gema, Tecozautla 04 y Diamante, y color

3.0 mm round sieves, three seed sizes were obtained: small, standard and large, respectively. The impurities were separated and the empty seed was removed. At the end of the drying and conditioning process, the seed was stored with a moisture content of 5 % in Gema, 6 % in Tecozautla 04, 6.4 % in Diamante and 7.8 % in Manzano Tepetlixpa (Coronado-González et al., 2019). For the study, a 1 kg sample of standard size (2 mm) seed was taken from each variety, which is the one generally marketed. Each sample was divided into two parts of 500 g each. Of the eight subsamples, four were stored in the seed laboratory and the other four in the UACH germplasm bank as described below.

One study factor was the storage condition, which had two levels and was established in February 2014. The first level was the environmental conditions of the Seed Laboratory, with no temperature or relative humidity (RH) control. The annual average temperature was  $23.43 \pm 0.64$  °C; average RH,  $23.55 \pm 0.06$  %; dew point temperature,  $1.46 \pm 0.56$  °C, and absolute humidity,  $4.95 \pm 0.18$  g·m<sup>-3</sup>. Of each variety, 500 g of conditioned seed were placed in an aluminized plastic bag with a 30 x 22 cm “Ziploc”-type hermetic seal, which resembles the container in which tomatillo seed is marketed. The second level was the National Germplasm Bank, where the seeds were kept at -20 °C and 13 % RH. Of each variety, 500 g of conditioned seed were placed, together with a plastic bag with silica gel (3 x 3 cm), in translucent glass jars of 500 mL volume with a hermetic seal.

The second factor evaluated was the variety, which corresponded to four tomatillo genotypes produced in the spring-summer 2013 cycle. The Gema, Tecozautla 04 and Diamante varieties were produced at the Experimental Agricultural Field of the Plant Science Department, and the Manzano Tepetlixpa variety at the Colegio de Postgraduados.

The third study factor was seed storage time, which had four levels. Germination was evaluated, in the four varieties, in October 2013 (time 1, zero months of storage), October 2014 (time 2, one year of storage), October 2015 (time 3, two years of storage) and October 2016 (time 4, three years of storage). Vigor was evaluated in the four varieties and the two storage conditions at 6 (time 1), 12 (time 2), 24 (time 3) and 36 (time 4) months of storage. To evaluate germination and vigor, a sample of 5 g of seeds per variety was taken from both environments.

In order to determine physiological quality in relation to germination percentage, a 2 x 4 x 4 incomplete factorial treatment design was used, in which the levels of storage condition (2), variety (4) and storage time (4) were combined. Since at time 1 the seed was

amarillo en Manzano Tepetlixpa. La extracción de las semillas de cada variedad se realizó inmediatamente después de la cosecha con una máquina despulpadora apropiada para tomate de cáscara (Coronado-González et al., 2019).

La semilla se secó al sol sobre bastidores (Martínez-Solís et al., 2004) y, posteriormente, fue beneficiada en octubre de 2013 con una máquina de aire y zarandas (modelo LA-LS/B, Seedburo®, EUA), con motor de 1 HP. Con el uso de cribas redondas de 1.5, 2.0 y 3.0 mm, se obtuvieron tres tamaños de semilla: chica, estándar y grande, respectivamente. Las impurezas se separaron y se eliminó la semilla vana. Al finalizar el proceso de secado y acondicionamiento, la semilla se almacenó con un contenido de humedad de 5 % en Gema, 6 % en Tecozautla 04, 6.4 % en Diamante y 7.8 % en Manzano Tepetlixpa (Coronado-González et al., 2019). Para el estudio, se tomó una muestra de 1 kg de semilla de tamaño estándar (2 mm) de cada variedad, que es la que se comercializa generalmente. Cada muestra se dividió en dos partes de 500 g cada una. De las ocho submuestras, cuatro se almacenaron en el laboratorio de semillas, y las otras cuatro, en el banco de germoplasma de la UACH como se describe a continuación.

Un factor de estudio fue la condición de almacenamiento, la cual tuvo dos niveles y se estableció a partir de febrero de 2014. El primero fueron las condiciones ambientales del Laboratorio de Semillas, sin control de temperatura ni de humedad relativa (HR). La temperatura promedio anual fue de  $23.43 \pm 0.64$  °C; la HR promedio, de  $23.55 \pm 0.06$  %; la temperatura de punto de rocío, de  $1.46 \pm 0.56$  °C, y la humedad absoluta, de  $4.95 \pm 0.18$  g·m<sup>-3</sup>. De cada variedad, se colocaron 500 g de semilla acondicionada en una bolsa de plástico aluminizada con cierre hermético tipo “Ziploc” de 30 x 22 cm, la cual semeja el envase en el que se comercializa la semilla de tomate de cáscara. El segundo nivel fue el Banco Nacional de Germoplasma, donde se mantuvieron las semillas a -20 °C y HR de 13 %. De cada variedad se colocaron, junto con una bolsa de plástico con silicagel (3 x 3 cm), 500 g de semilla acondicionada en frascos de cristal translúcidos de 500 mL de volumen con cierre hermético.

El segundo factor evaluado fue variedad, al cual correspondieron cuatro genotipos de tomate de cáscara producidas en el ciclo primavera-verano 2013. Las variedades Gema, Tecozautla 04 y Diamante se produjeron en el Campo Agrícola Experimental del Departamento de Fitotecnia, y la variedad Manzano Tepetlixpa, en el Colegio de Postgraduados.

El tercer factor de estudio fue tiempo de almacenamiento de las semillas, el cual tuvo cuatro

not yet stored, there were only four combinations (four varieties and one storage condition). At times 2, 3 and 4 there were eight combinations (two storage conditions and four varieties), giving a total of 28 treatments.

The experimental design was completely randomized, with four replications at time 1 (16 experimental units) and six replications at times 2, 3 and 4, where the four varieties of the two storage environments (48 experimental units per year) were evaluated. Each experimental unit consisted of a transparent plastic Petri dish 95 mm in diameter by 10 mm deep, with 100 seeds evenly distributed on medium-pore filter paper moistened with 5 mL of distilled water at the beginning, and that necessary to maintain moisture throughout the test. The experimental units were placed in a germination chamber (model D- 7140, Seedburo®, USA) at  $30 \pm 1$  °C and 90 % RH, conditions proposed by Martínez-Solís, Mendoza, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí, and Peña (2006), for 21 days according to the standards of the International Seed Testing Association (ISTA, 2004), and following the methodology used by Coronado-González et al. (2019). Germination percentage (GP) was evaluated based on the number of seeds sown and the number of seeds with radicle emission in normal seedlings at the end of the test.

To determine physiological quality in relation to seed vigor with respect to storage time, a  $2 \times 4 \times 4$  full factorial treatment design was used, combining the levels of storage condition, variety and storage time, respectively, which resulted in 32 treatments. The experimental design was completely randomized with six replications at all times, where the four varieties were evaluated in the two storage environments, resulting in 48 experimental units per time. In this case, each experimental unit consisted of a plastic Petri dish 135 mm in diameter by 22 mm deep, with 50 seeds evenly distributed on medium-pore filter paper permanently moistened with 10 mL of distilled water. The experimental units were placed in a germination chamber (Precision 818, Thermo Scientific™, USA) at  $30 \pm 1$  °C (Martínez-Solís et al., 2006; Coronado-González et al., 2019), with 24-h lighting during the 14 days of the test. Germinated seedling counts were made every 48 h until the end of the test. Seven days after the start of the test, 5 % Captan® was applied to prevent fungal damage.

The vigor-related traits evaluated are described below. 1) Germination speed index (GSI): germinated seeds were counted every 48 h, considering as such the emergence of the radicle, and the GSI was calculated according to the formula proposed by Maguire (1962); 2) average seedling length (SL): a sample of 10 seedlings per experimental unit was taken, and the

niveles. La germinación se evaluó, en las cuatro variedades, en octubre de 2013 (tiempo 1, cero meses de almacenamiento), octubre de 2014 (tiempo 2, un año de almacenamiento), octubre de 2015 (tiempo 3, dos años de almacenamiento) y octubre de 2016 (tiempo 4, tres años de almacenamiento). El vigor se evaluó en las cuatro variedades y las dos condiciones de almacenamiento a los 6 (tiempo 1), 12 (tiempo 2), 24 (tiempo 3) y 36 (tiempo 4) meses de almacenamiento. Para evaluar la germinación y el vigor, se tomó una muestra de 5 g de semillas por variedad de ambos ambientes.

Con el propósito de determinar la calidad fisiológica en relación con el porcentaje de germinación, se usó un diseño de tratamientos factorial incompleto  $2 \times 4 \times 4$ , en el cual se combinaron los niveles de condición de almacenamiento (2), variedad (4) y tiempo de almacenamiento (4). Dado que en el tiempo 1 aún no se almacenaba la semilla, sólo se tuvieron cuatro combinaciones (cuatro variedades y una condición de almacenamiento). En los tiempos 2, 3 y 4 se tuvieron ocho combinaciones (dos condiciones de almacenamiento y cuatro variedades), lo cual dio un total de 28 tratamientos.

El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro repeticiones en el tiempo 1 (16 unidades experimentales) y seis repeticiones en los tiempos 2, 3 y 4, en donde se evaluaron las cuatro variedades de los dos ambientes de almacenamiento (48 unidades experimentales por año). Cada unidad experimental consistió en una caja Petri plástica transparente de 95 mm de diámetro por 10 mm de profundidad, con 100 semillas uniformemente distribuidas sobre papel filtro de poro mediano humedecido con 5 mL de agua destilada al inicio, y la necesaria para mantener la humedad durante toda la prueba. Las unidades experimentales se colocaron en una cámara germinadora (modelo D- 7140, Seedburo®, EUA) a  $30 \pm 1$  °C y 90 % de HR, condiciones propuestas por Martínez-Solís, Mendoza, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí, y Peña (2006), por 21 días según las normas de la *International Seed Testing Association* (ISTA, 2004), y siguiendo la metodología utilizada por Coronado-González et al. (2019). El porcentaje de germinación (PG) se evaluó con base en el número de semillas sembradas y el número de semillas con emisión de radículas en plántulas normales al finalizar la prueba.

Para determinar la calidad fisiológica en relación con el vigor de las semillas respecto al tiempo de almacenamiento, se usó un diseño de tratamientos factorial completo  $2 \times 4 \times 4$ , combinando los niveles de condición de almacenamiento, variedad y tiempo de almacenamiento, respectivamente, con lo cual se obtuvieron 32 tratamientos. El diseño experimental

length (cm) of each seedling was measured from the tip of the primary root to the tip of the cotyledonary leaves and the average length was calculated; 3) average seedling dry weight (SDW): once the seedlings were measured, they were dried to constant weight for 72 h at 72 °C in a constant climate oven (Memmert HPP110, Wisconsin Oven, USA), then weighed (mg) on an analytical balance (Pioneer, Oahu®, USA) and the average was calculated; 4) percentage of normal seedlings (NS): it was obtained as a function of the number of normal seedlings counted at the end of the test. Normal plants were those that showed all their essential structures, according to ISTA (2004) standards.

The data for germination percentage and percentage of normal seedlings were transformed before the analysis of variance using the arcsine  $\sqrt{y/100}$  formula (Sokal & Rohlf, 1995), in order to correct their deviation from a normal distribution. In addition, an analysis of variance was performed on the data for each character evaluated and, subsequently, Tukey's comparisons of means ( $P \leq 0.05$ ) were made. For these analyses, the SAS version 9.3 statistical software package (SAS Institute Inc., 2011) was used.

## Results and discussion

The results of the analysis of variance for the germination percentage (Table 1) show a significant effect ( $P \leq 0.01$ ) of varieties and storage time, but not for storage environment. Only the Variety x Storage time interaction was significant. The low coefficient of variation indicates that the results are reliable.

The two storage environments evaluated were equally efficient in maintaining seed germination. This can be explained by the fact that storage occurred, in both cases, at temperatures below 30 °C, which is the point at which deterioration accelerates in tomatillo (Pérez-Camacho et al., 2008b; Pichardo-González et al., 2010). In addition, the seed was stored in an airtight container, so its moisture was presumably kept low in both environments.

The varieties with the highest germination were Diamante and Tecozautla 04, which outperformed Gema and Manzano Tepetlixpa (Table 2), the latter with the lowest germination value. These results can be attributed to the genetic condition of the seeds, since the varieties come from different breeds, so they probably have different earliness and chemical composition, which is reflected in different seed sizes, in the degree of physiological maturity and, consequently, in different germination percentages (Pichardo-González et al., 2010; Pérez-Camacho et al., 2012; Peña-Lomelí, Ponce-Valerio, Sánchez-del Castillo, & Magaña-Lira, 2014).

fue completamente al azar con seis repeticiones en todos los tiempos, donde se evaluaron las cuatro variedades en los dos ambientes de almacenamiento, lo cual dio lugar a 48 unidades experimentales por tiempo. En este caso, cada unidad experimental consistió en una caja Petri plástica de 135 mm de diámetro por 22 de profundidad, con 50 semillas distribuidas uniformemente sobre papel filtro de poro mediano humedecido permanentemente con 10 mL de agua destilada. Las unidades experimentales se colocaron en una cámara germinadora (Precision 818, Thermo Scientific™, EUA) a  $30 \pm 1$  °C (Martínez-Solís et al., 2006; Coronado-González et al., 2019), con iluminación las 24 h durante los 14 días que duró la prueba. Se realizaron conteos de plántulas germinadas cada 48 h hasta el final de la prueba. A los siete días de iniciada la prueba, se aplicó Captan® al 5 % para evitar el daño por hongos.

Los caracteres evaluados, relacionados con el vigor, se describen a continuación. 1) Índice de velocidad de germinación (IVG): se realizaron conteos de semillas geminadas cada 48 h, considerando como tal la emergencia de la radícula, y el IVG se calculó de acuerdo con la fórmula propuesta por Maguire (1962); 2) longitud promedio de plántula (LP): se tomó una muestra de 10 plántulas por unidad experimental, y a cada plántula se le midió la longitud (cm) desde la punta de la raíz primaria hasta la punta de las hojas cotiledonales y se calculó la longitud promedio; 3) peso seco promedio de plántulas (PSP): una vez medidas las plántulas, se secaron hasta peso constante durante 72 h a 72 °C en una estufa de clima constante (Memmert HPP110, Wisconsin Oven, EUA), posteriormente se pesaron (mg) en una balanza analítica (Pioneer, Oahu®, EUA) y se calculó el promedio; 4) porcentaje de plántulas normales (PN): se obtuvo en función del número de plántulas normales contabilizadas al final de la prueba. Las plantas normales fueron las que mostraron todas sus estructuras esenciales, de acuerdo con las normas de la ISTA (2004).

Los datos de porcentaje de germinación y porcentaje de plántulas normales se transformaron antes del análisis de varianza mediante la fórmula  $\sqrt{y/100}$  (Sokal & Rohlf, 1995), con el propósito de corregir su desviación respecto a una distribución normal. Además, se realizó un análisis de varianza de los datos de cada carácter evaluado y, posteriormente, se realizaron comparaciones de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Para estos análisis, se empleó el programa estadístico SAS versión 9.3 (SAS Institute Inc., 2011).

## Resultados y discusión

Los resultados del análisis de varianza del porcentaje de germinación (Cuadro 1) muestran un efecto

**Table 1. Mean squares of the analysis of variance of the germination percentage (arcsine  $\sqrt{y/100}$ ) of seeds of four varieties of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex. Horm.) stored in two environments for three years.**

**Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza del porcentaje de germinación (arcoseno  $\sqrt{y/100}$ ) de semillas de cuatro variedades de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex. Horm.) almacenadas en dos ambientes durante tres años.**

Source of variation/ Fuente de variación	Degrees of freedom/ Grados de libertad	Mean squares/ Cuadrados medios
Variety/Variedad	3	395.77**
Environment/Ambiente	1	0.62
Storage time/Tiempo de almacenamiento	3	156.80**
Variety x Environment/Variedad x Ambiente	3	51.74
Variety x Storage time/Variedad x Tiempo de almacenamiento	9	74.52**
Environment x Storage time/ Ambiente x Tiempo de almacenamiento	2	0.31
Variety x Environment x Storage time/ Variedad x Ambiente x Tiempo de almacenamiento	6	52.21
Error	132	24.25
Total	159	
Coefficient of variation (%) / Coeficiente de variación (%)		6.44

\*\* = significant with  $P \leq 0.01$ .

\*\* = significativo con  $P \leq 0.01$ .

In the results of the comparison of storage time means, no significant differences were found between the samples obtained in the first year (time 2) of evaluation. From the second year (time 3), a descending behavior in germination was observed, although not significant with the 2015 (time 3) and 2016 (time 4) tests. In the three years of sampling, a 4.13 % decrease in germination was recorded, with the largest decrease from year two to year three (2.16 %). This dynamic coincides with that reported by Pérez-Camacho et al. (2008a) on the germination of tomatillo seeds stored for 1, 2, 3 and 5 years, where germination decreased linearly. However, the annual decrease (8.7 %) reported by these authors was much higher than that obtained in the present work. This may be due to the origin of the seed, since in the aforementioned study each variety was produced in a different year, and in the present work the seed was produced specifically for the study, in the same year and under the same growing conditions.

It is clear that there is a loss of germination due to the effect of deterioration, which begins at physiological maturity and can lead to the total loss of germination capacity (Delouche, 2002), due to the consumption of seed reserves during storage (Copeland & McDonald, 2001) or to an increase in the physiological processes of the seeds (such as respiration or metabolic activation) (Pichardo-González et al., 2010).

significativo ( $P \leq 0.01$ ) de las variedades y del tiempo de almacenamiento, no así para el ambiente de almacenamiento. Únicamente la interacción Variedad x Tiempo de almacenamiento fue significativa. El coeficiente de variación bajo indica que los resultados son confiables.

Los dos ambientes de almacenamiento evaluados resultaron igualmente eficientes para mantener la germinación de la semilla. Lo anterior se puede explicar porque el almacenamiento ocurrió, en ambos casos, a temperaturas inferiores a 30 °C, que es el punto a partir del cual se acelera el deterioro en tomate de cáscara (Pérez-Camacho et al., 2008b; Pichardo-González et al., 2010). Además, la semilla se almacenó en un contenedor hermético, por lo cual, presumiblemente, su humedad se mantuvo baja en ambos ambientes.

Las variedades con mayor germinación fueron Diamante y Tecozautla 04, las cuales superaron a Gema y Manzano Tepetlixpa (Cuadro 2), esta última con menor valor de germinación. Dichos resultados se pueden atribuir a la condición genética de las semillas, debido a que las variedades provienen de razas distintas, por lo que, probablemente, tienen diferente precocidad y composición química, lo cual se refleja en diversos tamaños de semilla, en el grado de madurez fisiológica y, consecuentemente, en diversos porcentajes de germinación (Pichardo-González et

**Table 2. Comparison of means of germination percentages for varieties, storage environments, and storage times of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) seed.**

**Cuadro 2. Comparación de medias de los porcentajes de germinación para variedades, ambientes de almacenamiento y tiempos de almacenamiento de semillas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.)**

Factor/Levels Factor/Niveles	Germination (%)/ Germinación (%)	Germination 1 (transformed <sup>y</sup> )/ Germinación 1 (transformada <sup>y</sup> )
<b>Variety /Variedad</b>		
Diamante /Diamante	95.8	79.8 a <sup>z</sup>
Tecozautla 04	94.5	77.6 ab
Gema	93.1	75.4 bc
Manzano Tepetlixpa	90.9	73.1 c
HSD /DMSH		2.9
<b>Environment /Ambiente</b>		
Laboratory /Laboratorio	93.8	76.9 a
Germplasm Bank/Banco de Germoplasma	93.2	76.0 a
HSD/DMSH		1.6
<b>Time /Tiempo</b>		
1 (year 0)/1 (año 0)	95.6	80.4 a
2 (year 1)/2 (año 1)	94.7	77.4 ab
3 (year 2)/3 (año 2)	93.8	76.4 b
4 (year 3)/4 (año 3)	91.5	74.3 b
HSD /DMSH		3.2

HSD = honestly significant difference. <sup>y</sup>Germination percentage transformed with the arcsine formula. <sup>z</sup>For the levels of each factor, means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

DMSH = diferencia mínima significativa honesta. <sup>y</sup>Porcentaje de germinación transformado con la fórmula. <sup>z</sup>Para los niveles de cada factor, medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

The lowest germination recorded during the storage time was 91.5 %, a value that exceeds the standard required for certification, which is at least 85 % (FAO, 2011). This indicates that, even after three years, the seed lots would be viable for commercial use.

The results of the analysis of variance of the vigor variables (Table 3) presented significant ( $P \leq 0.05$ ) effects in the variety, environment and storage time factors in all variables. Likewise, the Variety x Environment interaction was significant for NS; Variety x Storage time, for GSI and NS, and Variety x Environment x Storage time, for SL.

Unlike the germination percentage, in the vigor evaluation, the effect of the different storage conditions on the three variables can be observed. This is due to the methodology of both tests, since in the case of germination it was sufficient to have the emergence of the radicle at the end of the test, while in the vigor test the GSI, SL and SDW were recorded. It may also

al., 2010; Pérez-Camacho et al., 2012; Peña-Lomelí, Ponce-Valerio, Sánchez-del Castillo, & Magaña-Lira, 2014).

En los resultados de la comparación de medias del tiempo de almacenamiento, no se encontraron diferencias significativas entre las muestras obtenidas en el primer año (tiempo 2) de evaluación. A partir del segundo año (tiempo 3), se observó un comportamiento descendente en la germinación, aunque no significativo con las pruebas de 2015 (tiempo 3) y 2016 (tiempo 4). En los tres años de muestreo, se registró una disminución de 4.13 % en la germinación, con la mayor disminución del año dos al año tres (2.16 %). Esta dinámica coincide con lo reportado por Pérez-Camacho et al. (2008a) en la germinación de semillas de tomate de cáscara almacenadas por 1, 2, 3 y 5 años, donde la germinación disminuyó linealmente. No obstante, la disminución anual (8.7 %) reportada por estos autores fue muy superior a la obtenida en el presente trabajo. Esto se



**Table 3. Mean squares of the analysis of variance of the vigor variables of the seed of four varieties of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) stored in two environments for three years.****Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza de las variables de vigor de cuatro variedades de semilla de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) almacenadas en dos ambientes durante tres años.**

Source of variation / Fuente de variación	DF / GL	GSI / IVG	SL / LP	SDW / PSP	NS1 / PN1
Variety / Variedad	3	29.49 **	1.10 **	2.70 *	451.9 **
Environment / Ambiente	1	37.22 **	1.19 *	3.50 *	282.5 **
Storage time / Tiempo de almacenamiento	3	19.65 **	12.68 **	142.13 **	4765.5 **
Variety x Environment / Variedad x Ambiente	3	1.39	0.62	0.71	146.9 **
Variety x Storage time / Variedad x Tiempo de almacenamiento	9	4.82 **	0.26	0.82	83.2 **
Environment x Storage time / Ambiente x Tiempo de almacenamiento	3	1.65	0.07	1.29	7.9
Variety x Environment x Storage time / Variedad x Ambiente x Tiempo de almacenamiento	9	0.45	0.57 *	0.78	46.7
Error	160	0.97	0.23	0.85	36.6
Total	191				
Coefficient of variation (%) / Coeficiente de variación (%)		7.35	12.82	11.45	8.45

DF = degrees of freedom; GSI = germination speed index; SL = seedling length; SDW = seedling dry weight; NS1 = percentage of normal seedlings transformed with the arcsine formula  $\arcsin \sqrt{y/100}$ . \* and \*\* = significant with  $P \leq 0.05$  and  $P \leq 0.01$ , respectively.

GL = grados de libertad; IVG = índice de velocidad de germinación; LP = longitud de plántula; PSP = peso seco de plántula; PN1 = porcentaje de plántulas normales transformado con la fórmula  $\arcsen \sqrt{y/100}$ . \* y \*\* = significativo con  $P \leq 0.05$  y  $P \leq 0.01$ , respectivamente.

be due to deterioration affecting vigor, before reducing germination.

The results of the comparison of means for vigor (Table 4) show that the variety with the highest GSI was Diamante ( $P \leq 0.05$ ), which surpassed Tecozautla 04 by 8 %, Gema by 9.8 % and Manzano Tepetlixpa by 12 %. Diamante presented, statistically, a shorter SL compared to the other varieties by 8 %, and Manzano Tepetlixpa presented a lower percentage of NS by 6 %.

The first stage in germination is the rehydration of the seed with water by imbibition (Doria, 2010), where the amount of water absorbed during this stage depends on factors such as seed size, which does not exceed two to three times its dry weight (Coronado-González et al., 2019; Jara, 1996; Méndez-Natera, Merazo-Pinto, & Montaña-Mata, 2008). In this context, the average seed weight of Diamante (1.38 mg) is lower than that of the other three varieties, whose value fluctuates from 1.46 to 1.48 mg (Coronado-González et al., 2019). This situation makes it evident that Diamante, being smaller, imbibes faster and, consequently, its GSI is higher than that of the other varieties. Additionally, having fewer reserves, Diamante's SL was shorter than that

puede deber al origen de la semilla, pues en el estudio citado cada variedad se produjo en diferente año, y en el presente trabajo la semilla se produjo exprofeso para el estudio, en el mismo año y bajo las mismas condiciones de cultivo.

Queda claro que hay pérdida de germinación por efecto del deterioro, el cual comienza a partir de la madurez fisiológica, y puede llevar hasta la pérdida total de la capacidad germinativa (Delouche, 2002), por consumo de reservas de la semilla durante el almacenamiento (Copeland & McDonald, 2001) o por incremento en los procesos fisiológicos de las mismas (como respiración o activación metabólica) (Pichardo-González et al., 2010).

La menor germinación registrada durante el tiempo de almacenamiento fue de 91.5 %, valor que supera el estándar requerido para la certificación, que es de al menos 85 % (FAO, 2011). Lo anterior indica que, aún después de tres años, los lotes de semilla serían viables para uso comercial.

Los resultados del análisis de varianza de las variables de vigor (Cuadro 3) presentaron efectos significativos ( $P \leq 0.05$ ) en los factores variedad, ambiente y tiempo de almacenamiento en todas las variables. Asimismo,

**Table 4. Comparison of means of seed vigor variables for varieties, storage environments and storage times of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) seeds.****Cuadro 4. Comparación de medias de variables de vigor de semilla para variedades, ambientes de almacenamiento y tiempos de almacenamiento de semillas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.).**

Factor/Levels Factor/Niveles	GSI/ IVG	SL (cm)/ LP (cm)	SDW (mg)/ PSP (mg)	NS (%)/ PN (%)	NS1/ PN1
<b>Variety/Variiedad</b>					
Diamante	14.48 a <sup>z</sup>	3.55 b	7.77 b	89.3	74.2 a
Tecozautla 04	13.32 b	3.82 a	8.27 a	88.5	73.0 a
Gema	13.06 bc	3.89 a	8.23 ab	87.7	72.1 a
Manzano Tepetlixpa	12.66 c	3.84 a	7.87 ab	83.8	67.2 b
HSD /DMSH	0.52	0.26	0.49		3.2
<b>Environment /Ambiente</b>					
Laboratory /Laboratorio	12.93 b	3.85 a	8.18 a	86.0	70.4 b
Germplasm Bank/ Banco de Germoplasma	13.81 a	3.70 b	7.89 b	88.6	72.8 a
HSD /DMSH	0.28	0.14	0.26		1.7
<b>Time/Tiempo</b>					
1 (6 months)/1 (6 meses)	13.79 a	4.17 a	7.86 b	95.8	80.3 a
2 (12 months)/2 (12 meses)	13.72 a	4.23 a	9.43 a	90.4	72.8 b
3 (24 months)/3 (24 meses)	13.56 a	3.17 c	9.17 a	93.0	75.9 b
4 (36 months)/4 (36 meses)	12.42 b	3.53 b	5.62 c	70.0	57.4 c
HSD /DMSH	0.52	0.26	0.49		3.2

GSI = germination speed index; SL = seedling length; SDW = seedling dry weight; NS = percentage of normal seedlings; NS1 = percentage of normal seedlings transformed with the arcsine formula. HSD = honestly significant difference. <sup>z</sup>For the levels of each factor, means with the same letter within each column do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

IVG = índice de velocidad de germinación; LP = longitud de plántula; PSP = peso seco de plántula; PN = porcentaje de plántulas normales; PN1 = porcentaje de plántulas normales transformado con la fórmula. DMSH = diferencia mínima significativa honesta. <sup>z</sup>Para los niveles de cada factor, medias con la misma letra dentro de cada columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

of the other varieties, and its SDW was also the lowest, only significantly different from Tecozautla 04.

The seed conserved in the Germplasm Bank generated higher GSI and NS values than those obtained in seed stored in the Seed Laboratory by 3.3 and 2.8 %, respectively. These results are due to a lower deterioration generated by conservation at low temperature (-20 °C) and low RH (13 %) prevailing in the Germplasm Bank. In addition, the moisture content of the seeds (5 to 7 %) at the time of storage may have caused them to reach a glassy state (which is produced by the accumulation of sucrose, possibly in conjunction with oligosaccharides such as raffinose), which helps to preserve the membrane and protein structure (Bradford, 2004). Under these circumstances, the diffusion of molecules in the cytoplasm is minimal and, consequently, seed deterioration is reduced (Carrillo-Salazar, Pichardo-González, Ayala-Garay, González-

la interacción Variedad x Ambiente fue significativa para PN; Variedad x Tiempo de almacenamiento, para IVG y PN, y Variedad x Ambiente x Tiempo de almacenamiento, para LP.

A diferencia del porcentaje de germinación, en la evaluación del vigor sí se puede observar el efecto de las diferentes condiciones de almacenamiento sobre las tres variables. Esto se debe a la metodología de ambas pruebas, pues en el caso de germinación bastó con tener la emergencia de la radícula al final de la prueba, mientras que en la prueba de vigor se contabilizaron el IVG, la LP y el PSP. También se puede deber a que el deterioro afecta el vigor, antes de reducir la germinación.

Los resultados de la comparación de medias del vigor (Cuadro 4) muestran que la variedad con mayor IVG fue Diamante ( $P \leq 0.05$ ), la cual superó en 8 % a Tecozautla

Hernández, & Peña-Lomelí, 2011), which consequently minimizes the negative effect on germination and vigor.

The highest SL value was obtained in seeds stored without environmental control in the Seed Laboratory, exceeding by 3 % the results of seeds stored in the Germplasm Bank ( $P = 0.05$ ). This behavior contrasts with what has been previously reported in the sense that the greatest expression of vigor must have come from the seeds in the best storage conditions. In this regard, Popinigis (1985) argues that seedling growth is highly variable, and strongly influenced by genetic and environmental factors during establishment, which may explain the discrepancy in the result discussed.

The results of mean comparisons to assess the effect of storage time on the four vigor variables (Table 4) show significant differences in all variables. In GSI, SDW, SL and NS, a trend of reduced vigor with a longer storage time is observed by 9.9, 29.9, 15 and 28.5 %, respectively, which implies that over the 36 months of evaluation, deterioration reflects a negative effect on vigor.

Under these circumstances, it is considered that the storage conditions in the laboratory (23 °C and 23 % RH) and in the Germplasm Bank (-20 °C and 13 % RH) allowed, to a large extent, maintaining seed vigor during the 36 months of evaluation, since it is proven that the reduction of temperature and RH during storage retards deterioration. In the first case, the decrease in temperature prevents an increase in the respiration rate (FAO, 2011), while, in the second, the low relative humidity prevents the moisture content in the seed from rising (Navarro, Febles, & Torres, 2012). The latter prevents increased metabolic activity that could lead to energy release and heating (Carrillo-Salazar et al., 2011; Pérez-Camacho et al., 2012), which leads to the loss of seed viability, germination and vigor. On the other hand, having dried the seeds (5 to 7 % moisture), prior to their storage, also had an important effect, since it possibly reduced the respiration rate and, consequently, enzyme activity, which slowed deterioration (Pérez-Camacho et al., 2008b; Carrillo-Salazar et al., 2011).

The Variety x Storage time interaction is reflected in germination, since as shown in Figure 1a, the Diamante, Tecozautla 04 and Gema varieties showed a decrease in germination of 7, 6.2 and 6 %, respectively. The Manzano Tepetlixpa variety showed a stable behavior, around 90 % germination. As previously stated, this behavior can be attributed to the genetic condition of the seeds due to the fact that the varieties come from different races (Coronado-González et al., 2019).

04, 9.8 % a Gema y 12 % a Manzano Tepetlixpa. Diamante presentó, estadísticamente, menor LP respecto a las otras variedades en un 8 %, y Manzano Tepetlixpa presentó menor porcentaje de PN en un 6 %.

La primera etapa en la germinación es la rehidratación de la semilla con agua por imbibición (Doria, 2010), donde la cantidad de agua absorbida durante esta etapa depende de factores como el tamaño de semilla, que no excede de dos a tres veces el peso seco de esta (Coronado-González et al., 2019; Jara, 1996; Méndez-Natera, Merazo-Pinto, & Montaña-Mata, 2008). En este contexto, el peso promedio de semilla de Diamante (1.38 mg) es menor que el de las tres variedades restantes, cuyo valor fluctúa de 1.46 a 1.48 mg (Coronado-González et al., 2019). Esta situación hace evidente que Diamante, al ser más pequeña, se imbebe más rápido y, consecuentemente, su IVG es mayor que el de las variedades restantes. Adicionalmente, al tener menos reservas, la LP de Diamante fue inferior al de las otras variedades, y su PSP también fue el menor, sólo significativamente diferente de Tecozautla 04.

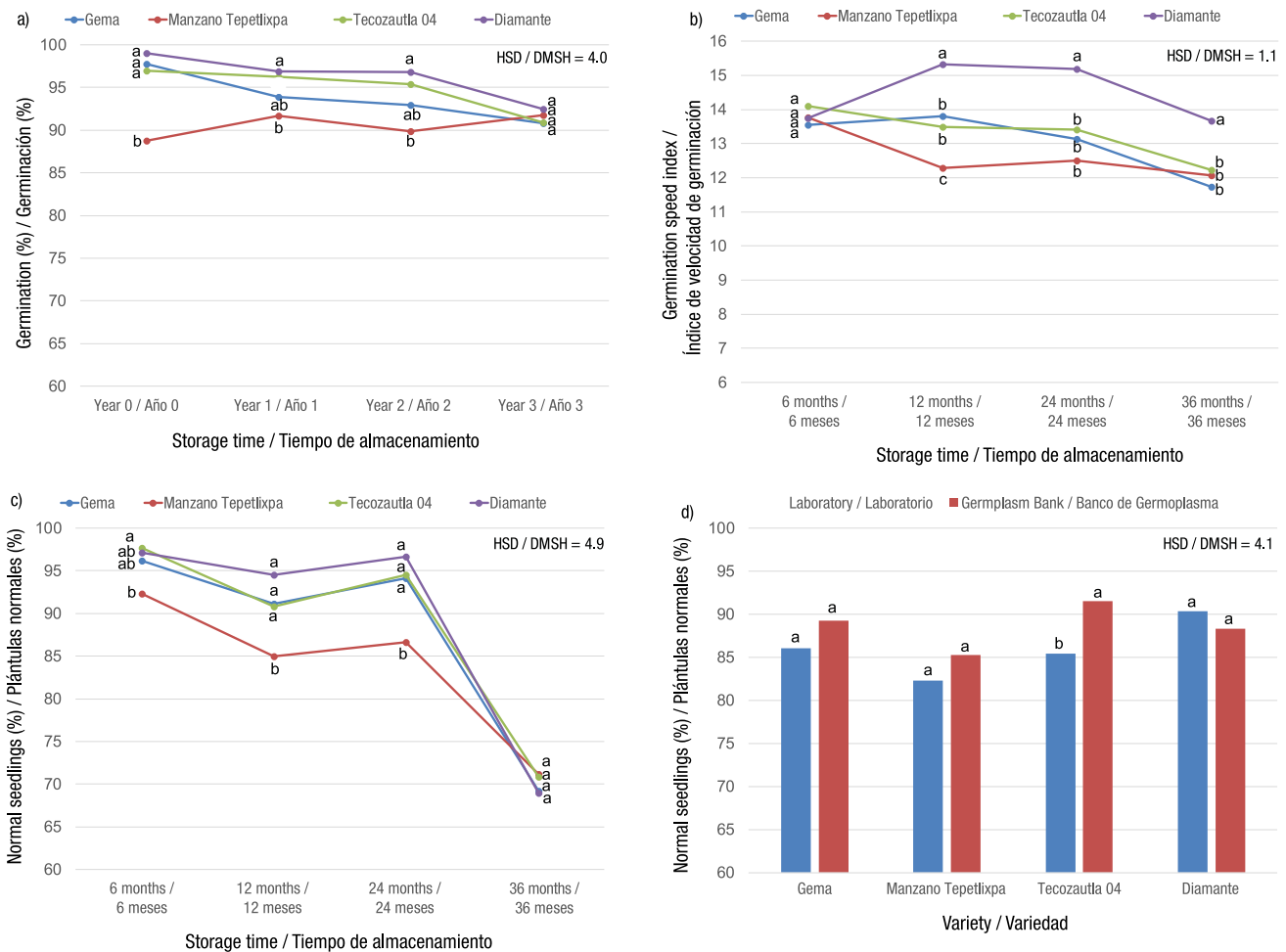
La semilla conservada en el Banco de Germoplasma generó valores de IVG y PN superiores a los obtenidos en semillas almacenadas en el Laboratorio de Semillas en un 3.3 y 2.8 %, respectivamente. Estos resultados se deben a un menor deterioro generado por la conservación a baja temperatura (-20 °C) y baja HR (13 %) prevalecientes en el Banco de Germoplasma. Además, el porcentaje de humedad de las semillas (5 a 7 %), al momento del almacenamiento, pudo haber generado que éstas llegaran a un estado vidrioso (que se produce por la acumulación de sacarosa, posiblemente en conjunción con oligosacáridos como rafinosa), lo cual contribuye a preservar la membrana y la estructura de las proteínas (Bradford, 2004). En estas circunstancias, la difusión de moléculas en el citoplasma es mínima y, por consiguiente, se reduce el deterioro de la semilla (Carrillo-Salazar, Pichardo-González, Ayala-Garay, González-Hernández, & Peña-Lomelí, 2011), lo que en consecuencia minimiza el efecto negativo en germinación y vigor.

El mayor valor de LP se obtuvo en semillas almacenadas sin control ambiental en el Laboratorio de Semillas, superando en 3 % a los resultados de las semillas almacenadas en el Banco de Germoplasma ( $P = 0.05$ ). Este comportamiento se contrapone con lo referido previamente en el sentido de que la mayor expresión de vigor debió provenir de las semillas en las mejores condiciones de almacenamiento. Al respecto, Popinigis (1985) argumenta que el crecimiento de las plántulas es muy variable, y fuertemente influenciado por factores genéticos y ambientales durante su establecimiento, lo cual puede explicar la discrepancia del resultado discutido.

The interaction also affected vigor in the GSI and NS variables. As can be seen in Figure 1b, at six months all varieties had similar GSI values. With 12 months of storage, the Gema variety remained stable, and Diamante had an increase in its GSI, while the Manzano Tepetlixpa and Tecozautla 04 varieties reduced their GSI by 12 and 13 %, respectively. The GSI of Manzano Tepetlixpa and Diamante remained unchanged from 12 to 24 months, while Gema and Tecozautla 04 showed a slight decrease. From 24 to 36 months of storage, all varieties reduced their GSI. In this period, Diamante was significantly superior to the other three varieties. Regarding NS (Figure 1c), Manzano Tepetlixpa was observed to have lower percentages, compared to the other varieties, by 4, 6 and 8 % during 6, 12 and 24

Los resultados de las comparaciones de medias para valorar el efecto del tiempo de almacenamiento en las cuatro variables de vigor (Cuadro 4) muestran diferencias significativas en todas las variables. En IVG, PSP, LP y PN se observa una tendencia de reducción del vigor a mayor tiempo de almacenamiento en un 9.9, 29.9, 15 y 28.5 %, respectivamente, lo cual supone que en los 36 meses de evaluación el deterioro refleja un efecto negativo en el vigor.

Bajo estas circunstancias, se considera que las condiciones de almacenamiento en el laboratorio (23 °C y 23 % de HR) y en el Banco de Germoplasma (-20 °C y 13 % de HR) permitieron, en buena medida, mantener el vigor de las semillas durante los 36 meses de



**Figure 1. Comparisons of means of combinations of germination and vigor variables in tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) seeds of four varieties stored for 36 months: a) germination percentage in four storage times, b) germination speed index in four storage times, c) percentage of normal seedlings in four storage times and d) percentage of normal seedlings in two storage conditions. Means with the same letter in each figure do not differ statistically (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).**

**Figura 1. Comparaciones de medias de combinaciones de variables de germinación y vigor en semillas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.) de cuatro variedades almacenadas durante 36 meses: a) Porcentaje de germinación en cuatro tiempos de almacenamiento, b) índice de velocidad de germinación en cuatro tiempos de almacenamiento, c) porcentaje de plántulas normales en cuatro tiempos de almacenamiento y d) porcentaje de plántulas normales en dos condiciones de almacenamiento. Medias con la misma letra en cada figura no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).**

months of storage, respectively. However, at 36 months it is observed that the percentage of NS decreases severely in the four varieties, with no significant differences among them.

With these results, the loss of vigor and aging of the seed is evident, which increases over time (Pérez-Camacho et al., 2012). During natural seed aging, the total content of reserves such as carbohydrates and proteins is reduced, causing important effects on the growth and development of the new seedling (Basavarajappa, Shetty, & Prakash, 1991; Pichardo-González et al., 2010).

The Variety x Environment interaction was significant for NS, as shown in Figure 1d. In the Gema, Manzano Tepetlixpa and Diamante varieties, no significant differences were observed between storage conditions, while Tecozautla had a significantly higher percentage of NS in seeds stored in the Germplasm Bank compared to those stored in the Laboratory.

## Conclusions

Storage for three years slightly impacted the germination of the Gema, Tecozautla 04 and Diamante varieties, while the Manzano Tepetlixpa variety maintained constant germination during the same period.

All four varieties studied maintained germination above 90 %, indicating that even after three years of storage, the seed lots would be viable for commercial use.

Both storage environments were favorable for maintaining germination, but not for vigor. Seeds stored in the Germplasm Bank had a higher germination speed and percentage of normal seedlings.

Storage time negatively affected the vigor of the seeds, which is an indicator of their deterioration.

In the vigor test, the Diamante variety presented the highest germination speed index values.

## End of English version

## References / Referencias

- Basavarajappa, B. S., Shetty, H. S., & Prakash, H. S. (1991). Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. *Seed Science and Technology*, 19(2), 279-286.
- Bradford, K. J. (2004). *Seed production and quality*. Davis CA, USA: Department of Vegetable Crop and Weed Science. University of California.

evaluación, ya que está comprobado que la reducción de temperatura y HR durante el almacenamiento retarda el deterioro. En el primer caso, la disminución de la temperatura impide el incremento de la tasa de respiración (FAO, 2011), mientras que, en el segundo, la baja humedad relativa evita que se eleve el contenido de humedad en la semilla (Navarro, Febles, & Torres, 2012). Esto último previene el incremento de la actividad metabólica que podría derivar en la liberación de energía y calentamiento (Carrillo-Salazar et al., 2011; Pérez-Camacho et al., 2012), lo cual conduce a la pérdida de viabilidad, germinación y vigor de la semilla. Por otra parte, haber secado las semillas (5 a 7 % de humedad), previo a su almacenamiento, también tuvo un efecto importante, en virtud de que, posiblemente, se redujo la tasa de respiración y, consecuentemente, la actividad enzimática, lo cual desaceleró el deterioro (Pérez-Camacho et al., 2008b; Carrillo-Salazar et al., 2011).

La interacción Variedad x Tiempo de almacenamiento se ve reflejada en la germinación, ya que como se muestra en la Figura 1a, las variedades Diamante, Tecozautla 04 y Gema presentaron una disminución en la germinación de 7, 6.2 y 6 %, respectivamente. La variedad Manzano Tepetlixpa mostró un comportamiento estable, alrededor del 90 % de germinación. Como se dijo anteriormente, este comportamiento se puede atribuir a la condición genética de las semillas debido a que las variedades provienen de razas distintas (Coronado-González et al., 2019).

La interacción también afectó el vigor en las variables IVG y PN. Como se observa en la Figura 1b, a los seis meses todas las variedades tenían valores similares de IVG. Con 12 meses de almacenamiento, la variedad Gema se mantuvo estable, y Diamante tuvo un incremento en el IVG, mientras que las variedades Manzano Tepetlixpa y Tecozautla 04 redujeron su IVG en 12 y 13 %, respectivamente. El IVG de Manzano Tepetlixpa y Diamante no sufrió cambios de los 12 a los 24 meses, en tanto que Gema y Tecozautla 04 mostraron una ligera disminución. De los 24 a los 36 meses de almacenamiento, todas las variedades redujeron su IVG. En este periodo, Diamante fue significativamente superior a las otras tres variedades. En cuanto a las PN (Figura 1c), se observa como Manzano Tepetlixpa tiene menores porcentajes, comparada con las otras variedades, en un 4, 6 y 8 % durante 6, 12 y 24 meses de almacenamiento, respectivamente. Sin embargo, a los 36 meses se observa que el porcentaje de PN disminuye severamente en las cuatro variedades, sin diferencias significativas entre ellas.

Con estos resultados es evidente la pérdida de vigor y el envejecimiento de la semilla, el cual se incrementa con el transcurso del tiempo (Pérez-Camacho et al., 2012). Durante el envejecimiento natural de la

- Carrillo-Salazar, J. A., Pichardo-González, J. M., Ayala-Garay, O. J., González-Hernández, V. A., & Peña-Lomelí, A. (2011). Adaptación de un modelo de deterioro a semillas de tomate de cáscara. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(1), 53-61. Retrieved from <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/34-1/7a.pdf>
- Copeland, O. L., & McDonald, M. B. (2001). *Principles of seed science and technology*. New York, USA: Kluwer Press.
- Coronado-González, J., Peña-Lomelí, A., Magaña-Lira, N., Sahagún-Castellanos, J., & Ybarra-Moncada, C. (2019). Extracción y beneficio de semilla de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(2), 147-154. doi: 10.35196/rfm.2019.2.147
- Delouche, J. C. (2002). Germinación, deterioro y vigor de semillas. *Seed News*, 6(6), 60-64. Retrieved from <https://seednews.com.br/artigos/2018-germinacao-deterioracao-e-vigor-da-semente-edicao-novembro-2002>
- Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 74-85. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v31n1/ctr11110.pdf>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2011). *Semillas en emergencias: Manual técnico*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Retrieved from <http://www.fao.org/3/i1816s/i1816s.pdf>
- International Seed Testing Association (ISTA). (2004). *International rules for seed testing. Rules 2004*. Zurich, Switzerland: ISTA Editions.
- Jara, L. F. (1996). *Biología de las semillas forestales*. Turrialba, Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Retrieved from [http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/547/Biologia\\_de\\_semillas\\_forestales.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/547/Biologia_de_semillas_forestales.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Jara, L. F. (1997). *Secado, procesamiento y almacenamiento de semillas forestales*. Turrialba, Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Retrieved from [http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/3934/secado\\_procesamiento\\_y\\_almacenamiento.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/3934/secado_procesamiento_y_almacenamiento.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Maguire, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(1), 176-177. doi: 10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x
- Martínez-Solís, J., Peña-Lomelí, A., & Montalvo-Hernández, D. (2004). *Producción y tecnología de semilla de tomate de cáscara*. Chapingo, México: Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo.
- Martínez-Solís, J., Mendoza, N. M., Rodríguez-Pérez, J. E., Peña-Lomelí, A., & Peña, G. M. (2006). Efecto de la temperatura en la germinación de semillas de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture*, 50, 7-12. <https://www.pubhort.org/iasth/50/0002.htm>
- semilla, se reduce el contenido total de reservas como carbohidratos y proteínas, que causan importantes efectos en el crecimiento y desarrollo de la nueva plántula (Basavarajappa, Shetty, & Prakash, 1991; Pichardo-González et al., 2010).
- La interacción Variedad x Ambiente fue significativa para PN, como se muestra en la Figura 1d. En las variedades Gema, Manzano Tepetlixpa y Diamante no se observaron diferencias significativas entre condiciones de almacenamiento, mientras que Tecozautla tuvo un porcentaje significativamente mayor de PN en las semillas almacenadas en el Banco de Germoplasma respecto de las almacenadas en el Laboratorio.

### Conclusiones

El almacenamiento durante tres años impactó ligeramente la germinación de las variedades Gema, Tecozautla 04 y Diamante, en tanto que la variedad Manzano Tepetlixpa mantuvo una germinación constante durante el mismo periodo.

Las cuatro variedades estudiadas mantuvieron una germinación superior al 90 %, lo cual indica que, aún después de tres años de almacenamiento, los lotes de semilla serían viables para su uso comercial.

Ambos ambientes de almacenamiento fueron favorables para conservar la germinación, mas no para vigor. Las semillas almacenadas en el Banco de Germoplasma presentaron mayor índice de velocidad de germinación y porcentaje de plántulas normales.

El tiempo de almacenamiento afectó negativamente el vigor de las semillas, lo cual es un indicador del deterioro de éstas.

En la prueba de vigor, la variedad Diamante presentó los valores más altos de índice de velocidad de germinación.

### Fin de la versión en español

- Méndez-Natera, J. R., Merazo-Pinto, J. F., & Montaña-Mata, N. J. (2008). Relación entre la tasa de imbibición y el porcentaje de germinación en semillas de maíz (*Zea mays* L.), caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y quinchoncho (*Cajanus cajan* (L.) Mill.). *Revista UDO Agrícola*, 8(1), 61-66. Retrieved from <http://udoagricola.orgfree.com/V8UDOAg/V8Mendez61.pdf>
- Navarro, M., Febles, G., & Torres, V. (2012). Bases conceptuales para la estimación del vigor de las semillas a través de indicadores del crecimiento y el desarrollo inicial.

- Pastos y Forrajes* 35(3), 233-246. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/pyf/v35n3/pyf01312.pdf>
- Peña-Lomelí, A., Ponce-Valerio, J. J., Sánchez-del Castillo, F., & Magaña-Lira, N. (2014). Desempeño agronómico de variedades de tomate de cáscara en invernadero y campo abierto. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37(4), 381-391. Retrieved from <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/37-4/9a.pdf>
- Pérez-Camacho, I., Ayala-Garay, O. J., González-Hernández, V. A., Carrillo-Salazar, J. A., Peña-Lomelí, A., & García-de los Santos, G. (2008a). Indicadores morfológicos y fisiológicos del deterioro de semillas en tomate de cáscara. *Agrociencia*, 42(8), 891-901. Retrieved from <https://agrociencia-colpos.mx/index.php/agrociencia/article/view/685/685>
- Pérez-Camacho, I., González-Hernández, V. A., Molina-Moreno, J. C., Ayala-Garay, O. J., & Peña-Lomelí, A. (2008b). Efecto de desarrollo y secado de semillas de *Physalis ixocarpa* Brot. en germinación, vigor y contenido de azúcares. *Interciencia*, 33(10), 726-766. Retrieved from [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442008001000011&lng=es&nr m=iso](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442008001000011&lng=es&nr m=iso)
- Pérez-Camacho, I., González-Hernández, V. A., Ayala-Garay, O. J., Carrillo-Salazar, J. A., García-de los Santos, G., Peña-Lomelí, A., & Cruz-Crespo, E. (2012). Calidad fisiológica de semillas de *Physalis ixocarpa* en función de madurez a cosecha y condiciones de almacenamiento. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(1), 67-78. Retrieved from <https://cienciasagricolas.inifap.gob.mx/editorial/index.php/agricolas/article/view/1481>
- Pichardo-González, J. M., Ayala-Garay, O. J., González-Hernández, V. A., Flores-Ortiz, C. M., Carrillo-Salazar, J. A., Peña-Lomelí, A., Robledo-Paz, A., & García-de los Santos, G. (2010). Calidad fisiológica, ácidos grasos y respiración en semillas de tomate de cáscara deterioradas artificialmente. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33(3), 231-238. Retrieved from <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/33-3/6r.pdf>
- Popinigis, F. (1985). *Fisiologia da semente*. Brasília, Brasil: Agiplan.
- Santiago-Hernández, J. F., Vargas-Ponce, O., Grimaldo-Juárez, O., Magaña-Lira, N., Caro-Velarde, J. F., Peña-Lomelí, A., & Sánchez-Martínez, J. (2012). *Diagnóstico del tomate de cáscara*. México, D.F.: Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas - Universidad Autónoma Chapingo. Retrieved from: [https://www.researchgate.net/publication/283492117\\_Diagnostico\\_del\\_Tomate\\_de\\_Cascara](https://www.researchgate.net/publication/283492117_Diagnostico_del_Tomate_de_Cascara)
- SAS Institute Inc. (SAS). (2011). *SAS/ QC 9.3 User's guide*, ver. 9.3. Cary, N. Y., USA: Author. Retrieved from <https://support.sas.com/documentation/cdl/en/qcug/63964/PDF/default/qcug.pdf>
- Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). (2021). *Catálogo Nacional de Variedades Vegetales*. México: Secretaría de agricultura y desarrollo rural - SNICS. Retrieved May, 2021 from <https://www.gob.mx/snics/articulos/catalogo-nacional-de-variedades-vegetales-en-linea>
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2021). *Cierre de la producción agrícola*. México: Author. Retrieved May, 2021 from <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1995). *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York, USA: Freeman and Company.