

## RESPUESTA FISIOLÓGICA DE LA SEMILLA CHILE PIQUÍN [*Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill] AL ÁCIDO GIBERÉLICO E HIDROTERMIA\*

### PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF CHILI PIQUIN PEPPER [*Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill] SEEDS TO GIBBERELIC ACID AND HOT WATER

Alfonso García Federico<sup>1</sup>, Salvador Montes Hernández<sup>2</sup>, José Antonio Rangel Lucio<sup>1§</sup>, Edmundo García Moya<sup>3</sup> y Mariano Mendoza Elos<sup>1</sup>

\*Instituto Tecnológico de Roque-SEP. Carretera Celaya-J. Rosas, km 8. Celaya, Guanajuato, México. A. P. 38110. Tel. 461 6117757. (gafa6209@yahoo.com.mx). <sup>2</sup>Campo Experimental Bajío. INIFAP. Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5. Celaya, Guanajuato, México. A. P. 38110. Tel. 461 6115431. (monteshs@yahoo.com.mx).

<sup>3</sup>Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco, km 36.5. Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56230. Tel. 55 55045929. (edmundo@colpos.mx). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: arangel\_1@yahoo.com.

### RESUMEN

El chile piquín es un fruto silvestre de recolección, de alta demanda como condimento y sujeto a una fuerte presión antropógena. Además, muestra baja incorporación de plantas a sus poblaciones debido a la germinación lenta e irregular de la semilla y está en riesgo un aprovechamiento sostenido. El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del ácido giberélico e hidrotermia en la germinación y vigor de la semilla de chile piquín, procedente de Querétaro, México. Se utilizaron dos productos comerciales de ácido giberélico y el tratamiento hidrotérmico consistió en introducir la semilla en agua a 45, 50, 55 y 60 °C, por 3, 6 y 9 min. La germinación estándar y vigor de la semilla se determinaron en laboratorio, y emergencia en invernadero. La aplicación de Cyto-Gibb favoreció la germinación y vigor de la semilla de ambos sitios de colecta. El efecto del calor de agua en la semilla de Higuerillas durante 6 y 9 min, arrojó el mejor vigor de semilla expresado en plántulas emergidas. El ácido giberélico estimula la germinación y vigor de plántulas y la hidrotermia aumenta el vigor de la semilla al evaluar las plántulas de chile piquín en invernadero.

**Palabras clave:** germinación estándar, plántula de chile, vigor de semilla.

### ABSTRACT

The piquin chili pepper is a wild harvest fruit, highly popular for its use as a condiment and subject to strong anthropogenic pressure. Also, it shows little incorporation of plants to its population due to the slow and irregular germination of its seeds, and sustainable use is at risk. The aim of this study was to evaluate the effect of gibberellic acid and hydrothermia on the germination and vigor of the piquin chili pepper seed, from Querétaro, Mexico. Two commercial gibberellic acid products were used, and the hydrothermic treatment involved introducing the seed in water at 45, 50, 55 and 60 °C, for 3, 6 and 9 min. Standard germination and vigor of the seed were established in the lab, and emergence, in a greenhouse. The application of Cyto-Gibb favored germination and vigor of the seed from both collection sites. The effect of the heat from the water in the Higuerillas seed for 6 and 9 min produced the best seed vigor expressed in emerged plantlets. The gibberellic acid stimulates the germination and vigor of plantlets, whereas hypothermia increases the vigor of the seed when evaluating the piquin chili plantlets in the greenhouse.

**Key words:** chili plantlet, seed vigor, standard germination.

\* Recibido: septiembre de 2009  
Aceptado: junio de 2010

## INTRODUCCIÓN

El rendimiento potencial del chile está en la semilla, si el manejo y ambiente son óptimos (Wall *et al.*, 2002). Aunque rasgos genéticos, morfológicos y fisiológicos de la semilla son importantes para la sobrevivencia de plantas silvestres, son críticos para la calidad de semilla y el rendimiento agrícola (Leubner-Metzger, 2003). El chile piquín (CHP) se reconoce como el ancestro más cercano de la variedad cultivada (Pozo *et al.*, 1991), es de ocurrencia natural y amplia distribución en México; el fruto se recolecta y genera ingresos importantes durante el acopio (Montes *et al.*, 2006). El aprovechamiento comercial se ha explorado bajo diversos criterios agronómicos (Rodríguez del Bosque *et al.*, 2003) con poco éxito, debido a la variación fenotípica y genotípica y germinación baja (Ramírez-Meraz *et al.*, 2003); que reduce el establecimiento ecológico y cultivo de la planta (Vázquez-Dávila, 1996). También se ha buscado la preservación de ésta especie en sitios de distribución natural (Montes *et al.*, 2006).

Estudios de CHP revelan que varía en tamaño, color y forma de fruto (IBPGR, 1983). Esta heterogeneidad, lo mismo que la germinación, podría ser un proceso de adaptación (Meyer *et al.*, 1995), o producto del microclima local (Hernández-Verdugo *et al.*, 2006), suelo (humedad, fertilidad, temperatura, biología, materia orgánica, salinidad) y manejo (fecha y método de siembra) (Wall *et al.*, 2002). Semillas de plantas silvestres se asocian a latencia, al finalizar la madurez del fruto en la planta, un mecanismo que previene la germinación pero asegura la sobrevivencia a desastres naturales y disminuye la competición en la especie (Finch-Savage y Leubner-Metzger, 2006; Finkelstein *et al.*, 2008). Besnier (1989) denota un significado ecológico a la latencia de semillas, como ocurre en chile silvestre recién cosechado (Bosland y Votava, 2000) o de mayor edad (Handle y Homna, 1981), aunque toma calidad y peso antes del periodo de llenado (Shaw y Loomis, 1950). Watkins y Cantliffe (1983) sugieren que la testa de la semilla de chile no restringe la germinación, pues su remoción conduce a la protrusión de la radícula.

Las giberelinas promueven la germinación de la semilla (Bentsink y Koornneef, 2008); comercialmente se tiene el ácido giberélico (AG). Petruzzelly *et al.* (2003) asocian la acumulación de  $\beta$ -1,3-gluconasa con el AG, pues reblandece la testa de la semilla de chile y tomate en germinación. El remojo de la semilla con 200  $\mu$ L de AG mejoró germinación y emergencia de plántulas de chile y tomate (Andreoli y Khan, 1999).

## INTRODUCTION

The potential yield of chili pepper is in its seed, if handling and environment are optimal (Wall *et al.*, 2002). Although genetic, morphological and physiological traits are important for the survival of wild plants, they are crucial for seed quality and agricultural yield (Leubner-Metzger, 2003). The piquin chili pepper (CHP) is known to be the closest relative of the planted variety (Pozo *et al.*, 1991). It is a natural occurrence and widely distributed in Mexico; the fruit is collected and brings large incomes during stockpile (Montes *et al.*, 2006). Its commercial use has been explored under several agronomic criteria (Rodríguez del Bosque *et al.*, 2003) with little success, due to the phenotypic variation and low germination (Ramírez-Meraz *et al.*, 2003), which reduces the environmental incidence and growth of the plant (Vázquez-Dávila, 1996). The preservation of this species has also been sought in natural distribution sites (Montes *et al.*, 2006).

Studies on CHP reveal that the fruit varies in size, color and shape (IBPGR, 1983). This heterogeneity, like germination, could be an adaptation process (Meyer *et al.*, 1995) or product of the local microclimate (Hernández-Verdugo *et al.*, 2006), soil (humidity, fertility, temperature, biology, organic matter, salinity) and management (date and method of plantation) (Wall *et al.*, 2002). Seeds from wild plants are associated with latency at the end of the fruit's ripening process, a mechanism that prevents germination but guarantees survival to natural disasters and reduces competition in the species (Finch-Savage and Leubner-Metzger, 2006; Finkelstein *et al.*, 2008). Besnier (1989) gives ecological meaning to seed latency, such as in the case of newly planted (Bosland and Votava, 2000) or older (Handle and Homna, 1981) chili peppers, although they acquire quality and weight before the filling period (Shaw and Loomis, 1950). Watkins and Cantliffe (1983) suggest that the chili seed testa does not restrict germination, since its removal leads to the protrusion of the radical.

Gibberellines promote seed germination (Bentsink and Koornneef, 2008); commercially there is gibberellic acid (AG). Petruzzelly *et al.* (2003) relate the accumulation of  $\beta$ -1, 3-gluconasa with AG, since it softens the chili and tomato seed testa in germination. Soaking the seed in 200  $\mu$ L of AG improved germination and chili and tomato plantlet emergence (Andreoli and Khan, 1999).

El agua caliente es una alternativa sencilla y práctica de bajo costo y efectiva en el control sanitario de la semilla, entre ellas el chile (Miller y Lewis, 2006), pero casi no se usa como promotor de la germinación. No obstante, la semilla de chile rojo bajo hidrotermia y 40 ppm de AG logra la tasa máxima de germinación a 30 °C (Chung, 1985); a 40 °C, sólo germinó 1% de la semilla (Carter y Vavrina, 2000). El crecimiento de plántulas es útil para medir vigor de semillas (Geneve y Kester, 2001), pero la distribución de peso entre la parte aérea y radical de la plántula, representaría la condición maternal de crecimiento o exhibir el vigor de la semilla en un ambiente nuevo, producto de la procedencia (Alderete *et al.*, 2005), estrés salino (Nakano *et al.*, 2003), sequía (Li, 1998) o disponibilidad de agua (Awe *et al.*, 1976) y deficiencia de fósforo edáfico (Kant y Kafkafi, 2007).

La semilla de chile piquín por ser una especie silvestre, la importancia del estudio radica en el alto valor económico y social para ciertas regiones de México, pero expuesta a presión antropógena y ambiental intensa durante la recolecta de fruto (Montes *et al.*, 2006); además, se tienen pocos conocimientos relacionados con el cultivo. Con base en lo antes mencionado, el estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de ácido giberélico y tratamiento hidrotérmico en la germinación y vigor de la semilla de chile piquín, bajo la hipótesis que la semilla se vería beneficiada en su calidad fisiológica por un regulador de crecimiento y se simularían condiciones que soporta la semilla al pasar por el tracto digestivo de las aves y conducir, en ambos casos, a la mayor germinación y vigor de la semilla del chile silvestre.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los frutos de chile piquín se recolectaron de plantas silvestres de dos comunidades de Querétaro, México. El Patol, municipio de Tolimán, se localiza a 20° 47' latitud norte y 99° 52' longitud oeste, a 1 847 m de altitud; presenta clima seco semicálido con lluvias en verano, 20 °C de temperatura promedio y precipitación pluvial de 594 mm anuales. Higuerillas, municipio de Cadereyta, se ubica a 20° 56' latitud norte y 99° 52' longitud oeste y 1 628 m, tiene clima semiseco con temperatura promedio de 18 °C y precipitación pluvial de 455 mm anuales.

Los frutos se obtuvieron en forma masal, de cinco a ocho plantas elegidas al azar por localidad; se secaron por cinco días al ambiente. Las semillas viables se seleccionaron por inmersión en agua, las flotantes se eliminaron. El

Hot water is a cheap, simple, practical and effective alternative in the sanitary control of the seed, including chili (Miller and Lewis, 2006), but it is hardly used as a germination enhancer. However, the red chili seed under hydrothermia and 40 ppm of AG reaches the highest rate of germination at 30 °C (Chung, 1985); at 40°C, only 1% of the seed germinated (Carter and Vavrina, 2000). The growth of plantlets is useful for measuring seed vigor (Geneve and Kester, 2001), yet the weight distribution between the radical and aerial parts of the plantlet, would represent the maternal growth condition or display the seed's vigor in a new environment, as a result of the source (Alderete *et al.*, 2005), salt stress (Nakano *et al.*, 2003), drought (Li, 1998) or water availability (Awe *et al.*, 1976) and edaphic phosphorous availability (Kant and Kafkafi, 2007).

Because the piquin chili seed is a wild species, the importance of the study resides in the high economic and social value for certain areas in Mexico, yet subject to intense anthropogenic and environmental pressure during fruit collection (Montes *et al.*, 2006); also, there is little knowledge on the crop. Based on the information above, the aim of the study was to evaluate the effect of gibberellic acid and hydrothermal treatment on the germination and vigor of the piquin chili seed, in their hypothesis that the seed would benefit physiologically by a growth regulator, and conditions the seed undergoes in the digestive tract of birds would be simulated, and in both cases, lead to greater germination rate and vigor of the wild chili seed.

## MATERIALS AND METHODS

Piquin chili fruits were collected in two locations in Querétaro, Mexico. El Patol, municipality of Tolimán, is located 20° 47' latitude north and 99° 52' longitude west, at 1 847 m of altitude; its climate is dry and mild, with rains in summer, an average temperature of 20 °C and yearly rainfall of 594 mm. Higuerillas, in the municipality of Cadereyta, is located 20° 56' latitude north and 99° 52' longitude west and 1 628 m of altitude, semi dry climate with an average temperature of 18 °C and a yearly rainfall of 455 mm.

Fruits were obtained massively: five to eight plants chosen at random from each location; they were dried for five days in the open. The viable seeds were selected by

procedimiento tardó 1 min, el agua excedente se eliminó con papel absorbente y se secaron a temperatura ambiente del laboratorio.

Cinco días después se colocaron 150 g de semillas de chile en estufa Felisa® a 28 °C, por 72 h, para estandarizar humedad, para obtener 60% de germinación con 7.5% de humedad (Pruthi, 2003). Despues se seleccionaron por peso en la mesa de gravedad (Wuestrop®, tipo LAK), calibrada a 1.5 cm de inclinación y cinco charolas receptoras. El peso volumétrico (P) se obtuvo al pesar la semilla/recipiente plástico de 10 mL, en la balanza analítica marca And®, valor con el que se estimó P en kg hL<sup>-1</sup>. Tambien se obtuvo peso de 1 000 semillas (PMS), producto de diez repeticiones de 100 semillas\*10. En ésta fase no se hizo análisis estadísticos, pero la semilla se usó para los ensayos.

Muestras de 50 semillas se imbibieron por 24 h en 5 000 ppm de Cyto-Gibb® (3% de ácidos húmicos y 10% AG) y Bio Gibb® (10% AG); es decir, 10 g de Cyto-Gibb y 10 g de Bio Gibb, individualmente, en 200 mL de agua. La prueba de germinación estándar se hizo con 50 semillas dispuestas entre dos hojas de papel filtro y agua destilada estériles (repuesta cada 72 h) en cajas petri de 90\*15 mm. La combinación de tratamientos se formó por la localidad (El Patol e Higuerillas), peso de semilla (peso menor y peso mayor) y producto (Cyto-Gibb y Bio Gibb); el testigo (semilla con agua destilada), se introdujo como nivel de estudio en producto. Los 12 tratamientos se repitieron cuatro veces y las cajas petri se introdujeron a la cámara de germinación (Conviron®, modelo 234) bajo un diseño experimental completamente al azar, a 28 °C y fotoperiodo de 8 h. La germinación de la semilla se registró 21 días después, aunque en chile se sugiere realizar el registro a 6, 10 y 14 días después de la siembra (Wall *et al.*, 2002). El vigor se estimó por el aspecto de la semilla germinada y morfología de plántulas y longitud de raíz e hipocotilo (Peretti, 1994). Para detectar grado y nivel de significancia de las diferencias entre tratamientos se realizó un análisis de varianza y una vez detectadas, se aplicó la separación de medias a través de la prueba de Tukey con  $p=0.05$ , mediante el paquete estadístico SAS versión 6.12.

La temperatura fue de 45, 50, 55 y 60 °C y tiempo de inmersión en agua caliente de 3, 6 y 9 min, para dos grupos de semillas clasificadas por peso volumétrico en dos localidades, esta combinación produjo 48 tratamientos. Se eligieron 50 semillas de chile piquín y envolvieron en tela de "tul"; se uso la estufa marca Felisa® y se calibró para cada temperatura, posteriormente se introdujo un vaso de precipitado de 1 L con 500 mL de agua destilada estéril, al estabilizarse en

immersion in water, eliminating seeds that floated. The procedure took 1 minute, all excess water was removed with tissue paper and seeds were dried at room temperature in the laboratory.

Five days later, 150 g of chili seeds were placed in a Felisa® heater at 28 °C, for 72 h, to standardize humidity, to obtain at 60% germination with 7.5% humidity (Pruthi, 2003). They were then selected by weight in the gravity separator (LAK type Wuestrop®), calibrated at a slope of 1.5 cm and five trays below. Volumetric weight (P) was obtained when weighing the seed/10 mL on the And® analytical scale. This figure was used to estimate P in kg hL<sup>-1</sup>. Also, the weight of 1 000 seeds (PMS) was taken, in repetitions of 100 seeds\*10. In this phase there were no statistical analyses, but the seed was used for tests.

Samples of 50 seeds were imbibed for 24 h in 5 000 ppm of Cyto-Gibb® (3% humic acids and 10% AG) and Bio Gibb® (10% AG); that is, 10 g of Cyto-Gibb and 10 g of Bio Gibb, individually, in 200 mL of water. The standard germination test was carried out with 50 seeds laid out between two sheets of filter paper and distilled water (response every 72 h) in 90\*15 mm petri-dishes. Treatments were combined by location (El Patol and Higuerillas), seed weight (lower and greater weight) and product (Cyto-Gibb and Bio Gibb); the control (seed with distilled water) was introduced as a study level in the product. The 12 treatments were repeated four times and the petri dishes were placed in a germination chamber (Conviron® 234) under a randomized experimental design, at 28 °C and a photoperiod of 8 h. Seed germination was observed 21 days later, although in chilies, it is recommended to observe 6, 10 and 14 days after planting (Wall *et al.*, 2002). Vigor was estimated by the look of the germinated seed, plantlet morphology and root length and hypocotyls (Peretti, 1994). To detect the grade and significance of the differences between treatments, an analysis of variance was carried out, and once detected, averages were separated with a Tukey test with  $p=0.05$ , using the statistical package SAS version 6.12.

Temperature was 45, 50, 55 and 60 °C, and immersion time in hot water was 3, 6 and 9 min, for two seed groups, classified by volumetric weight in two locations; this combination produced 48 treatments. Fifty piquin chili seeds were selected and wrapped in tulle; a Felisa® heater was used, calibrated for each temperature. Later, a glass 1 L of precipitate with 500 mL of sterile distilled water was

el tratamiento deseado, se registró con un termómetro; de inmediato se colocaron los tres grupos de repeticiones de semillas envueltas, se cerró la puerta de cristal de la estufa para conservar el calor y la semilla recibió el tratamiento por el tiempo establecido. Al término del periodo, se colocó la semilla sobre papel germinador en laboratorio por 24 h.

Estas semillas se acondicionaron con 2 g de Metacaptan® por litro de agua y se sembraron en invernadero a 1 cm de profundidad en el sustrato a base de arena, arcilla y *peat moss* (relación 1:1:1), desinfectado con 250 mL de Bushan 30WB® en 30 L de agua. Las semillas se distribuyeron a 0.5 cm de distancia y 5 cm entre hileras. Cada tratamiento se repitió tres veces y recibieron manejo similar, a base de riego manual con regadera de salida fina cada tres días. Despues de 14 días de la siembra, se evaluó la emergencia de plántulas (EP) de 0.5 cm de altura y se repitió a 21, 28 y 35 días despues de la siembra (DDS).

Se efectuó un análisis de varianza para un diseño experimental completo con arreglo factorial y la comparación de medias se hizo con la prueba Dunnett, para seleccionar al mejor tratamiento. La prueba Dunnett ( $p \leq 0.05$ ) se hizo con 48 tratamientos y cuatro testigos; los testigos fueron semillas de menor P colectadas de El Patol (tratamiento 49) y semillas de mayor P (tratamiento 50); semillas de menor P de Higuerillas (tratamiento 51) y semillas de mayor P (tratamiento 52). Los 48 tratamientos se dividieron en cuatro grupos y se compararon con cada testigo: 1 a 12 vs 49, 13 a 24 vs 50, 25 a 36 vs 51, 36 a 48 vs 52. Los demás factores se compararon con la prueba de medias Tukey  $p = 0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de calidad física de la semilla de chile piquín del Cuadro 1, indican que 48% (72 g) de semillas de frutos de El Patol fluyó hacia la charola 3 (peso menor) y 52% (78 g) a la cuarto (peso mayor); en cambio 61% (91.5 g) de semillas de chile de Higuerillas cayó en la charola 3 y 39% (58.5 g) en la 4. No existió captación de semillas en las charolas 1, 2 y 5. El predominio de peso de semillas de El Patol recibidas por la charola 4 se mantuvo en P y PMS, con valores que representaron 0.54 y 2.16% respecto a semillas captadas en la charola 3 (Cuadro 1). Estos valores son congruentes con la proporción de semillas registrada en ambas categorías de peso de El Patol y con la mayor captación de semillas (2.17%) en la charola 3, dada la variabilidad de peso de la semilla de poblaciones de chile piquín (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001).

introduced. Once stabilized in the desired treatment, temperature was taken with a thermometer; three groups of repetitions of wrapped seeds were added, the heater's glass door was closed to retain heat and the seed received the treatment for the time established. At the end of this period, the seed was placed on the germinating paper in the lab for 24 h.

These seeds were conditioned with 2 g of Metacaptan® per liter of water and planted in a greenhouse at a depth of 1 cm in the substrate based on sand, clay and peat moss (proportion 1:1:1), disinfected with 250 mL of Bushan 30WB® in 30L of water. The seeds were then distributed 0.5 cm from each other and 5 cm between rows. Each treatment was repeated three times and handled similarly, and irrigated under a fine spray every three days. Fourteen days after plantation, plantlet emergence (EP) was assessed for those 0.5 cm tall, and redone 21, 28 and 35 days after plantation (DDS).

An analysis of variance was carried out for a complete experimental design with a factorial arrangement and the comparison of averages was performed using Dunnett's test in order to choose the best treatment. Dunnett's test ( $p \leq 0.05$ ) was performed with 48 treatments and four controls, which consisted of lower P seeds, collected from El Patol (treatment 49) and higher P seeds (treatment 50); lower P seeds from Higuerillas (treatment 51) and higher P seeds (treatment 52). The 48 treatments were divided into four groups and compared to each control: 1 to 12 vs 49, 13 to 24 vs 50, 25 to 36 vs 51, 36 to 48 vs 52. The remaining factors were compared with Tukey test of averages  $p = 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

The results for physical quality of the chili in Table 1 indicate that 48% (72 g) of fruit seeds from El Patol flowed towards tray 3 (less weight) and 52% (78 g) to tray 4 (less weight); on the other hand 61% (91.5 g) of seeds of chilies from Higuerillas fell into tray 3 and 39% (58.5 g) into tray 4. There were no seeds in trays 1, 2 or 5. The seed weight predominance received by tray 4 was maintained in P and PMS, with values of 0.54 y 2.16% of seeds in tray 3 (Table 1). These values agree with the proportion of seeds recorded in both weight categories for El Patol and with the larger amount of seeds (2.17%) in tray 3, given the variability of weight in piquin chili populations (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001).

**Cuadro 1. Resultados de la prueba preliminar de calidad física de la semilla de chile piquín.****Table 1. Results of the preliminary physical quality test for the piquin chili seed.**

Localidad	Relación		Peso volumétrico (kg hL <sup>-1</sup> )	Peso de 1 000 semillas (g)	Número de semillas
	(charola-peso)	(%)			
El Patol	3/1	47.8	56.85	3.623	276
	4/2	52.5	57.16	3.703	270
Higuerillas	3/1	60.8	56.85	3.521	284
	4/2	39.2	58.08	3.731	268
$\bar{X}$		50.07	57.23	3.644	275

1=peso menor; 2=peso mayor.

Aunque 61% de semillas de frutos de Higuerillas precipitó en la charola 3 (menor peso), el mayor registro de P (58.08 kg hL<sup>-1</sup>) y PMS (3.731 g) ocurrió con semillas provenientes de la charola 4. Sin embargo, la proporción de semillas de la charola 3 fue 22% mayor que las recibidas en la charola 4 (Cuadro 1). Esta diferencia condujo al menor peso volumétrico (56.85 kg hL<sup>-1</sup>) y peso de mil semillas y al mayor número de semillas de chile piquín. Un lote de semillas puede experimentar historias distintas, según la antesis y ambiente materno (Coste *et al.*, 2001), situación que pudo ocurrir para semilla de chile piquín de Higuerillas en comparación con las semillas procedentes de El Patol. La semilla de mayor tamaño genera planta vigorosa (Demir *et al.*, 2008).

### Ensayo con AG en laboratorio

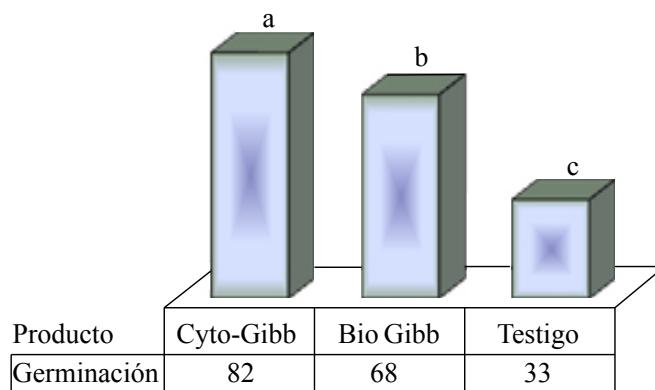
**Germinación estándar.** La germinación de semilla de CHP es regulada por hormonas, en particular por AG, pues al intervenir en enzimas hidrolíticas reblandecen el endospermo o la cubierta, inducen la movilización de reservas y estimulan la germinación (Bewley y Black, 1994); situación última que se comprobó en la germinación de semilla de CHP. En la Figura 1, las letras a, b y c muestran la comparación de medias entre productos con Tukey  $p=0.05$  y se observa que el efecto de Cyto-Gibb fue mayor (82%) a registros de germinación obtenidos con Bio Gibb (68%) y testigo (33%). Esta situación se podría justificar por la presencia adicional de micronutrientos y ácidos húmicos en la composición de Cyto-Gibb.

Los estudios sobre germinación de chile piquín en México, muestran resultados contrastantes. Ramírez-Meraz *et al.* (2003) empleó 5 000 ppm de AG y logró 66% de germinación, mientras que Hernández-Verdugo *et al.* (2006) encontraron mayor efectividad con 250 y 500 ppm de AG, con promedios de 46 y 43% de germinación en dos años de

Although 61% of the seeds of fruits from Higuerillas fell into tray 3 (less weight), the greatest register of P (58.08 kg hL<sup>-1</sup>) and PMS (3.731 g) occurred with seeds from tray 4. However, the proportion of seeds from tray 3 was 22% higher than those in tray 4 (Table 1). This difference led to the lowest volumetric weight (56.85 kg hL<sup>-1</sup>) and weight of 1 000 seeds and the greatest number of piquin chili seeds. One seed lot may have different stories, depending on anthesis and maternal environment (Coste *et al.*, 2001), which could occur for the piquin chili seeds from Higuerillas, in comparison to the seeds from El Patol. The largest seed produces a vigorous plant (Demir *et al.*, 2008).

### Test with AG in the laboratory

**Standard germination.** The germination of the CHP seed is regulated by hormones, particularly by AG, since intervention in hydrolytic enzymes soften the endosperm, induce the mobilization of reserves and stimulate germination (Bewley and Black, 1994). The latter situation was proven in the germination of CHP seeds. In Figure 1, letters a, b and c



**Figura 1. Porcentaje de germinación estándar de semilla de chile piquín por efecto de ácido giberélico.**

**Figure 1. Percentage of standard germination of piquin chili seeds under the effect of gibberellic acid.**

estudio con semilla de chile silvestre. Sin embargo, el concepto de “calidad alta” empleado por Berke (2000) implica que la semilla de chile deberá mostrar una tasa de germinación alta ( $>70\%$ ). Del mismo modo, la comparación técnica de reguladores de crecimiento hecha por Watkins y Cantfliffe (1983); similar a éste ensayo, denota que el estímulo de la división celular por  $GA_{4+7}$ , no causó aumento de la tasa de germinación de chile a temperatura baja, sólo protrusión de la radícula; en cambio,  $AG_3$  incrementó la actividad de la endomanasa del endospermo (Watkins *et al.*, 1985).

Cyto-Gibb fue el mejor producto al promover la germinación de semillas de chile piquín e igualar valores de ambas procedencias, conforme la interacción localidad\*producto (Cuadro 2); en cambio, Bio Gibb varió 13% la germinación estándar de semillas del Patol. Respuestas que se podrían atribuir a la variabilidad entre poblaciones de origen ecológico y geográfico diferente, pues alteran negativamente el patrón de germinación de semillas (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001).

#### **Cuadro 2. Cuadrados medios para germinación estándar y vigor de la semilla de chile piquín.**

**Table 2. Mean squares for the standard germination and vigor of the piquin chili seed.**

Fuente de variación	GL	Germinación	Vigor
Repetición	3	2.08	2.35
Localidad (L)	1	35.02	9.19
Peso (P)	1	0.02	2.52
Producto (Pr)	2	2798.89**	1366.1**
L*Pr	2	70.77*	42.75
L*P	1	2.52	0.02
P*Pr	2	0.001	0.0003
L*P*Pr	2	5.08	9.33
Error	33	18.33	20.14
CV (%)		4.28	21.14
Total	47		

GL=grados de libertad; CV=coeficiente de variación; \*\*=altamente significativo a  $p<0.01$  y significativo  $p<0.05$  respectivamente.

El testigo tuvo valores bajos de germinación, mientras Cyto-Gibb en El Patol e Higuerillas condujo 48 y 50% de diferencias en la germinación (Figura 2), mientras la menor germinación por Bio Gibb se concentró en El Patol. Esto es posible por la existencia de efectos de calidad de la luz, que aumentan con la altura del sitio de crecimiento. El Patol tiene 219 m de altitud y 2 °C más que Higuerillas y mayor precipitación pluvial, que mejoran el crecimiento maternal y el porcentaje de germinación estándar de la semilla.

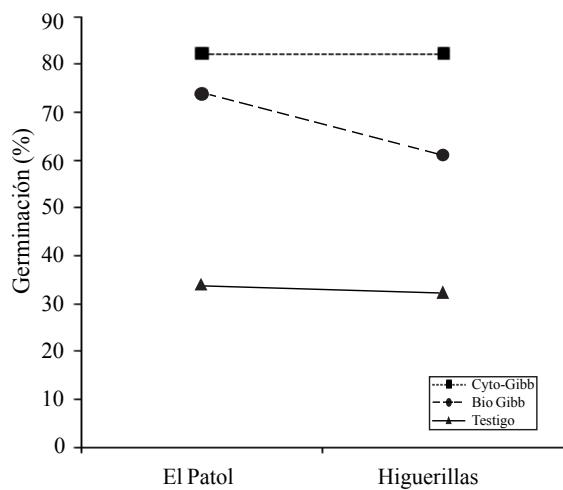
show the comparison of averages between products with Tukey  $p=0.05$ , and the effect of Cyto-Gibb was noticed to be higher (82%) than germination records obtained with Bio Gibb (68%) and the control (33%). This could be explained by the additional presence of micronutrients and humic acids in the composition of Cyto-Gibb.

The studies on CHP germination in Mexico, show contrasting results. Ramírez-Meraz *et al.* (2003) used 5 000 ppm of AG and got 66% germination, while Hernández-Verdugo *et al.* (2006) found greater effectiveness with 250 and 500 ppm of AG, with averages of 46 and 43% germination in two years of study with wild chili seeds. However, the concept of “high quality” used by Berke (2000) implies that the chili seed must display a high rate of germination ( $>70\%$ ). Likewise, the technical comparison of growth regulators by Watkins and Cantfliffe (1983), similar to this paper, denotes that the stimulus of cell division by  $GA_{4+7}$  did not induce an increase in the germination rate of chili at a low temperature, only radical protrusion. On the other hand,  $AG_3$  increased the activity of the endomanase of the endosperm (Watkins *et al.*, 1985).

Cyto-Gibb proved to be the best product, since it promotes CHP seed germination and it matches values from both locations according to the location\*product interaction (Table 2); Bio Gibb, on the other hand, varied the standard seed germination from El Patol by 13%. Such responses could be attributed to the variability between populations from different ecological and geographic origins, since they alter the germination pattern of seed germination in a negative manner (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001).

The control had low germination values, while Cyto-Gibb in El Patol and Higuerillas led to 48 and 50% differences in germination (Figure 2), while the lower stimulation to germination by Bio Gibb was concentrated in El Patol. There may also be effects caused by light quality that increased proportionally to the altitude of the location of growth. El Patol is 219 m of altitude and 2 °C hotter than Higuerillas, plus higher rainfall, which in combination would have improved maternal growth and the seed's percentage of standard germination.

The CHP plants from El Patol are considered to live with native species such as cacti, herbs and bushes, whereas in Higuerillas plants coexist with avocado, walnut and banana trees in an environment with more anthropogenic



**Figura 2. Efecto de la interacción localidad\*producto en la germinación de semilla de chile piquín tratada con ácido giberélico.**

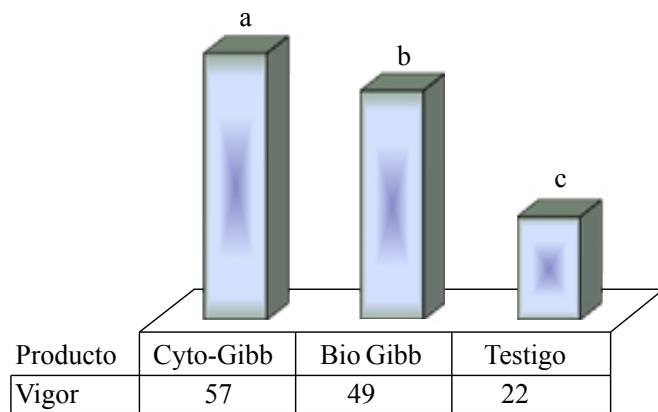
**Figure 2. Effect of the interaction location\*product in the germination of piquin chili seed with gibberellic acid.**

Se considera que las plantas de CHP de El Patol conviven con especies nativas como cactáceas, hierbas y arbustos; en cambio, en Higuerillas las plantas se asocian con cítricos, aguacate, nogal y plátano, un ambiente con mayor intervención antropógena. Este tipo de evidencias influyen en la variación germinativa de semillas de poblaciones de la misma especie y se atribuye también a factores climáticos locales (Meyery Kitchén, 1994), a la heterogeneidad espacial y temporal del ambiente de crecimiento materno asociada con especies nodrizas (Lara *et al.*, 2005). Del mismo modo, Hernández-Verdugo *et al.* (2006) afirman que las condiciones microambientales de sitios de colecta como temperatura, fotoperiodo, calidad de luz y disponibilidad de nutrientes, hacen variar la germinación de chile silvestre, por ser una especie morfológica y genéticamente inestable (Oyama *et al.*, 2006).

**Vigor de la semilla.** El vigor de la semilla es importante en la calidad, cuando se usa la densidad óptima de plantas necesaria para alcanzar una productividad alta (García y Lasa, 1991). El producto tuvo la capacidad de provocar efectos altamente significativos ( $p < 0.01$ ) en el vigor (Cuadro 2). Esto permite definir a Cyto-Gibb como el regulador de mayor valor para semilla de CHP (Figura 3), al rebasar 14 y 61% el efecto individual de Bio Gibb y testigo. No obstante, Peng y Harberd (2002) estiman que los conocimientos que conciernen al efecto de factores ambientales en la maduración y germinación como variante del vigor de la

intervención. This type of evidence influences the germination variation of seeds from populations of the same species, and is also conferred to local weather factors (Meyer and Kitchen, 1994), and the spatial and temporary heterogeneity of the maternal growth environment related to mother species (Lara *et al.*, 2005). Likewise, Hernández-Verdugo *et al.* (2006) state that the microenvironmental conditions of places of collection, such as temperature, photoperiod, light quality and nutrient availability, make wild chile germination vary, due to it being a morphological and genetically unstable species (Oyama *et al.*, 2006).

**Seed vigor.** Seed vigor is important for quality, when using the optimum plant density needed to obtain high yield (García and Lasa, 1991). The product was able to cause highly significant effects ( $p < 0.01$ ) in vigor (Table 2). This helps define Cyto-Gibb as the regulator with the highest value for CHP seeds (Figure 3), surpassing the individual effect of Bio Gibb and the control by 14 and 61%. However, Peng and Harberd (2002) estimate that knowledge regarding the effect of environmental values in the ripening and germination as a variant of seed vigor is abundant. Likewise, the combination of 500 ppm of polyethylene glycol 6 000 and 500 ppm of AG tested by Cortéz-Baheza *et al.* (2007), as well as the results of this study, proves that seed vigor can increase with the use of AG, since the latter influences germination (Soeda *et al.*, 2005).



**Figura 3. Comparación de medias del vigor de semilla de chile piquín (%) de dos procedencias de Querétaro, tratada con ácido giberélico.**

**Figure 3. Comparison of averages of the vigor of CHP seeds (%) from two locations in Querétaro, treated with gibberellic acid.**

semilla son abundantes; de la misma forma, la combinación de 500 ppm de polietilen glicol 6 000 y 500 ppm de AG ensayada por Cortéz-Baheza *et al.* (2007), al igual que los resultados logrados en este estudio, prueba que el vigor de la semilla puede aumentar con el empleo de AG, al influir en la germinación (Soeda *et al.*, 2005).

No obstante, a pesar de las ventajas fisiológicas de AG, no es un requisito absoluto para la germinación (Hilhorst, 2007), pues la biosíntesis y catabolismo entre AG y ácido abscísico y su balance, favorecería la germinación o latencia de semillas (Cadman *et al.*, 2006); así, se podría afirmar que en la semilla de CHPelAG predomina para promover la germinación, no en la ruptura de latencia (Cantliffe *et al.*, 2000; Kucera *et al.*, 2005).

### Ensayo hidrotérmico

El análisis de varianza definió diferencias estadísticas significativas y altamente significativas entre localidad para emergencia a 14, 21 y 28 días respectivamente y efectos interactivos entre localidad\*tiempo y localidad \*temperatura\*tiempo a 21 DDS (Cuadro 3).

**Cuadro 3. Cuadrados medios para emergencia de plántulas de chile piquín en invernadero.**

**Table 3. Mean squares for the emergence of piquin chili plantlets in greenhouses.**

Fuente de variación	GL	Emergencia (días)			
		14	21	28	35
Tratamiento	47	0.47	1.6	102.7	53.11
L	1	3.51*	18.72**	1501.6**	198.34
P	1	0.48	0.09	8.51	68.06
T	3	0.11	0.97	37.36	43.02
t	2	0.2	0.87	10.84	19.09
L*P	1	0.19	0.78	112.01	0.84
L*T	3	0.31	0.18	28.93	59.8
L*t	1	1.57	4.51*	88.94	28.67
P*T	3	0.05	0.56	185.51	72.82
P*t	2	0.23	1.61	11.71	40.64
T*t	6	0.27	0.24	34.89	37.94
L*P*T	3	0.06	0.1	26.52	24.71
L*P*t	2	0.05	0.45	163.34	161.34
L*T*t	6	0.69	3.28*	97.33	11.86
P*T*t	6	0.28	0.7	74.3	31.24
L*P*T*t	6	0.79	1.66	96.83	107.04
Error	47	0.69	1.45	72.23	69.21
CV		55.71	33.19	31.00	24.70
Total	143				

L=localidad; P=peso volumétrico; T=temperatura del agua; t=tiempo de inmersión de la semilla en agua caliente; GL=grados de libertad; \*; \*\*=significativo a  $p<0.01$  y  $p<0.05$  respectivamente; CV=coeficiente de variación.

However, despite the physiological advantages of AG, it is not an absolute requirement for germination (Hilhorst, 2007), since biosynthesis and catabolism between AG and abscisic acid and their balance would favor germination or seed latency (Cadman *et al.*, 2006). In this way, we could say that in the CHP seed AG predominates to promote germination and not in the rupture in latency (Cantliffe *et al.*, 2000; Kucera *et al.*, 2005).

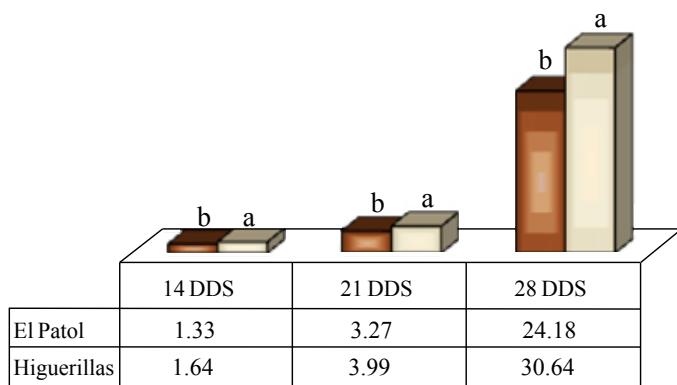
### Hydrothermal test

The analysis of variance defined significant and highly significant statistical differences between locations for emergence 14, 21 and 28 days respectively, and interactive effects between location\*time and location\*temperature\*time at 21 DDS (Table 3).

**Plantlet emergence.** The highest emergence (E) number was obtained at 28 DDS, from seeds that underwent hydrothermal treatment. Nevertheless, measures of E taken 14 and 21 DDS, also express the diversity of responses of the mother plant (Smith and Berjak, 1995).

**Emergencia de plántulas.** El mayor número de emergencia (E) se tuvo a 28 DDS, de semillas hidrotérmicamente tratadas. No obstante, mediciones de E practicadas a 14 y 21 DDS, también son fechas que expresan la diversidad de respuestas de la planta madre (Smith y Berjak, 1995). El vigor de la semilla muestra variabilidad intraespecífica (García y Lasa, 1991), pero la complejidad crece en especies silvestres como CHP, debido al muestreo reducido de plantas y al vigor que expresa en un periodo amplio de emergencia de plántulas.

La E entre L denota una diferencia de 1.2 plántulas entre lecturas a 14 y 21 DDS; es decir 59% de diferencia. En cambio, entre 21 y 38 DDS ocurrió un aumento significativo de 24 plántulas emergidas, que representó 91% de variación entre L (Figura 4). Dicho tiempo de E es mayor a 8 y 9 DDS invertidos por plántulas de chile, cuyas semillas se sembraron a 1.2 cm de profundidad en el suelo y la temperatura varió de 25 a 35 °C (Lorenz y Maynard, 1980).



**Figura 4. Comparación de medias de la emergencia de plántulas (%) de chile piquín en invernadero, las semillas fueron tratadas hidrotérmicamente.**

**Figure 4. Average comparison of plantlet emergence (%) of piquin chilies in a greenhouse, seeds were hydrothermically treated.**

La semilla de chile piquín al ser sometida al tratamiento hidrotérmico, demoró en la germinación y emergencia de la plántula. Por lo contrario, Villalón *et al.* (2002) estiman que el agua a 50 °C por cinco minutos aumenta el porcentaje de germinación de semillas de CHP. En la naturaleza, parte de la dispersión de semilla de CHP la realizan ciertas aves al consumir el fruto (Pozo *et al.*, 1991), y su paso por el tracto digestivo reblandece la semilla, y promueve la germinación y establecimiento de plántulas en sitios bajo sombreo parcial de árboles y arbustos (Rodríguez del Bosque *et al.*, 2005) o islas de fertilidad (García-Moya y McKell, 1970); aunque una

The vigor of the seed shows intraspecific variability (García and Lasa, 1991), yet complexity increases in wild species such as CHP, due to the reduced sample of plants and to the vigor it expresses in a wide period of plantlet emergence.

The E in L denotes a difference of 1.2 plantlets between readings at a 14 and 21 DDS, that is, 59% difference. On the other hand, 21 to 38 DDS there was a significant increase of 24 emerged plantlets, accounting for 91% variation between L (Figure 4). This time of E is over 8 and 9 DDS invested by chili plantlets, the seeds of which were planted at a depth of 1.2 cm in the soil, and temperature varied between 25 and 35 °C (Lorenz and Maynard, 1980).

The piquin chili seed, took long to germinate and for plantlet emergence, due to the hydrothermal treatment. For the contrary, Villalón *et al.* (2002) estimate that water at 50 °C for 5 min increases the percentage of CHP seed germinations. In nature, part of CHP seed dispersals are carried out by birds who eat the fruit (Pozo *et al.*, 1991), and its movement down the digestive tract softens the seed, promoting germination and producing plantlets in areas partially shaded by trees and bushes (Rodríguez del Bosque *et al.*, 2005) or fertility islands (García-Moya and McKell, 1970), although proper germination does not indicate the definite establishment of plants. In this sense, Carter and Vavrina (2000) state that the low number of plants in the ground is due to the inhibition of germination or poor plantlet growth or the treatment given to the chili seed (Watkins and Cantliffe, 1983).

The CHP seeds from Higuerillas favored valued of E over those of El Patol (Figure 4). Although E registered at 14 and 21 DDS varies similarly in number (0.31 and 0.36) and percentage value (18%) in L; the best response (6.64 plantlets emerges, equivalent to 21%) occurred during the interval of 21 to 28 DDS. The environmental conditions for CHP plant growth in Higuerillas had a positive effect on the physiological characteristics of the seed under hydrothermia and the expression of E in the greenhouse. The effect interaction of L\*t, the numerical advantage of E (18%) inclined to seeds from Higuerillas, immersed in hot water for three minutes, though E declined in this location (15 and 18%), having operated in greater immersion times (six and nine minutes), but stayed over the registers of E of plantlet seeds from El Patol (Figure 5). On the other hand, increasing the times of El Patol seeds in hot water, displayed an increase in E (3.08 to 3.43). The results

buenas germinaciones no indican el establecimiento definitivo de las plantas. En este sentido, Carter y Vavriva (2000) afirman que el bajo número de plantas en el terreno se debe a la inhibición de la germinación o a un crecimiento pobre de plántulas; o bien al tratamiento que recibe la semilla de chile (Watkins y Cantliffe, 1983).

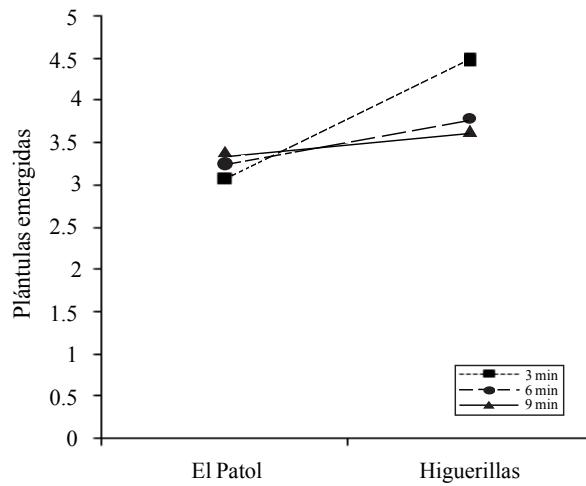
Las semillas de CHP de Higuerrillas favorecen valores E por arriba de El Patol (Figura 4). Si bien E registrada a 14 y 21 DDS varía en forma semejante en el número (0.31 y 0.36) y valor porcentual (18%) entre L, la mejor respuesta (6.64 plántulas emergidas, equivalente a 21%) ocurrió durante el intervalo de 21 a 28 DDS. Las condiciones ecológicas de crecimiento de plantas de CHP en Higuerrillas, afectarían positivamente las características fisiológicas de la semilla bajo hidrotermia y la expresión de E en invernadero. El efecto interactivo L\*t, inclinó la ventaja numérica de E (18%) hacia semillas de Higuerrillas inmersas en agua caliente por tres minutos; sin embargo, E declinó en dicha localidad (15 y 18%) al haber operado tiempos de inmersión mayores (seis y nueve minutos), pero se mantuvieron por arriba de los registros de E de plántulas de semillas de El Patol (Figura 5). En cambio, aumentar el tiempo de permanencia de las semillas de El Patol en agua caliente, reflejó un incremento en E (3.08 a 3.43). Los resultados de E son aceptables, pues la semilla de chile piquín tiene un periodo de germinación prolongado (Bosland y Votava, 2000), incluso requiere seis semanas de maduración (Handle y Homna, 1981), o menor tiempo de germinación pero con E heterogénea como en este estudio.

## CONCLUSIONES

El ácido giberélico en la forma de Cyto-Gibb promovió hasta 82% la germinación de chile piquín, por arriba de los valores mínimos permitidos para la especie. La procedencia de la colecta de chile piquín, se suma a los efectos positivos provocados por el ácido giberélico; debido a las condiciones ambientales de crecimiento de la planta madre, también condicionaron la respuesta germinativa de la semilla. Del mismo modo, el vigor de la semilla fue estimulado (57%) por el empleo de Cyto-Gibb, incluso 14% superior al efecto producido por Bio Gibb.

El retardo de la tasa de emergencia de plántulas en invernadero, producto de las semillas de chile piquín tratadas con agua caliente, concuerda con el comportamiento que caracteriza a la especie en condiciones controladas. Además,

for E are acceptable, because the CHP seed has a prolonged germination period (Bosland and Votava, 2000), and even needs six months for ripening (Handle and Homna, 1981), or less germination time, but with heterogeneous E, as in this study.



**Figura 5. Efecto interactivo localidad\*time de inmersión en agua caliente para emergencia de plántulas de chile piquín de 21 días de edad.**  
**Figure 5. Interactive effect location\*time of immersion in hot water for emergence of 21 day-old piquin chili plantlet.**

## CONCLUSIONS

The gibberellic acid in the form of Cyto-Gibb enhanced piquin chili germination up to 82%, higher than the minimum values permitted for this species. The origin of the collection of the chili adds to the positive effects caused by gibberellic acid, since the environmental growth conditions of the mother plant also conditioned the germination response of the seed. Likewise, seed vigor was enhanced (57%) by Cyto-Gibb, up to 14% higher than the effect produced by Bio Gibb.

The delay in the emergence rate in plantlets in the greenhouse, produced by the piquin chili seeds treated in hot water, agrees with the behavior of the species in controlled conditions. Also, the collection site in Higuerrillas conditioned the lower time of exposition (3 min) of the seed to the hot water to induce the greatest number of emerging plantlets.

el sitio de colecta en Higuerillas condicionó el menor tiempo de exposición (3 min) de la semilla al calor hídrico para inducir el mayor número de plántulas emergidas.

El uso de ácido giberélico provocó un efecto benéfico en las dos variantes de la calidad fisiológica de la semilla chile piquín (germinación y vigor de la semilla) y el calor hídrico al que se sometió explica, en parte la promoción de la germinación y mejoría del vigor de la semilla que ocurren en condiciones naturales, al formar parte de la cadena alimenticia de ciertas especies de aves.

## LITERATURA CITADA

- Alderete, A.; Mexal, J. G. y López-Upton, J. 2005. Variación entre procedencias y respuesta a la poda química en plántulas de *Pinus greggii*. Agrociencia. 39:563-564.
- Andreoli, C. and Khan, A. A. 1999. Matriconditioning integrated with gibberellic acid to hasten seed germination and improve stand establishment of pepper and tomato. Pesquisa Agrop. Bras. 34:1953-1958.
- Awe, J. O.; Shepherd, K. R. and Florence, R. G. 1976. Root development in provenances of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Aust. Forest. 39:201-209.
- Bentsink, L. and Koornneef, M. 2008. Seed dormancy and germination. In: Somerville, C. R. and Meyerowitz, E. M. (eds). The arabidopsis book. American Society of Plant Biologists. URL: <http://www.aspbn.org/publications/arabidopsis/>.
- Berker, T. G. 2000. Multiplying seed of pepper lines. International cooperator's guide. Asian vegetable research & development center. AVRDC. 40 p.
- Besnier, R. F. 1989. Semillas. Biología y tecnología. Editorial Mundi-Prensa. España. 164-167 pp.
- Bewley, J. D. and Black, M. 1994. Seeds: physiology of development and germination. Plenum Press. New York. 367 p.
- Bosland, P. W. and Votava, E. J. 2000. Peppers: vegetable and spices *Capsicums*. Crop production science in horticultura. CAB Internacional Publishing. Wallingford, England. 204 p.
- Cadman, C. S.; Toorop, P. E.; Hilhorst, H. W. M. and Finch-Savage, W. E. 2006. Gene expression profiles of (*Arabidopsis* Cvi.) seeds during dormancy cycling indicate a common underlying dormancy control mechanism. Plant J. 46:805-22.
- The use of gibberellic acid caused a beneficial effect on both variants of the physiological quality of the CHP seed (germination and vigor) and the hot water it was exposed to explains in part the enhancement of germination and the improvement in vigor of the seed that occur in natural conditions, when taking part in the food chain due to certain species of birds.
- End of the English version*
- 
- Cantliffe, D. J.; Sung, Y. and Nascimento, W. M. 2000. Lettuce seed germination. Hort. Rev. 224:229-275.
- Carter, A. K. and Vavrina, C. S. 2000. High temperature inhibits germination of Jalapeno and Cayenne pepper. URL: [www.imok.ufl.edu/veghort/docs/trans\\_temp.pdf](http://www.imok.ufl.edu/veghort/docs/trans_temp.pdf).
- Chung, S. J. 1985. Promotion of red pepper (*Capsicum annuum* L.) seed germination by aerated water column. 1. Effects of water temperature and gibberellic acid (GA<sub>3</sub>). Theses of Chonnan University 304 p.
- Cortez-Baheza, E.; Peraza-Luna, F.; Hernández-Álvarez, M. I.; Aguado-Santacruz, G. A.; Torres-Pacheco, I.; González-Chavira, M. M.; Guevara-Olvera, L. and Guevara-González, R. G. 2007. Profiling the transcriptome in (*Capsicum annuum* L.) seeds during osmoprimer. Am. J. Plant Physiol. 2(2):99-106.
- Coste, F.; Ney, B. and Crozat, Y. 2001. Seed development and seed physiological quality of field grown beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Seed Sci. Technol. 29:121-136.
- Demir, I.; Ermis, S.; Mavi, K. and Matthews, S. 2008. Mean germination time of pepper seed lots (*Capsicum annuum* L.) predicts size and uniformity of seedlings in germination tests and transplant modules. Seed Sci. Technol. 36(1):21-30.
- Finch-Savage, W. E. and Leubner-Metzger, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. New Phytologist. 171:501-523.
- Finkelstein, R.; Reeves, W.; Ariizumi, T. and Steber, C. 2008. Molecular aspects of seed dormancy. Annual Review of Plant Biology. 59:387-415.
- García, A. y Lasa, J. M. 1991. Ensayos de vigor de nacencia. Boletín de la Estación Experimental de Aula Dei. Núm. 14. URL: <http://hdl.handle.net/10261/11629>.

- García-Moya, E. and McKell, C. M. 1970. Contribution of shrubs to the nitrogen economy of a desert-wash plant community. *Ecology*. 51:81-88.
- Geneve, R. L. and Kester, S. T. 2001. Evaluation of seedling size following germination using computer-aided analysis of digital images from a flat-bed scanner. *Hort. Science*. 36(6):1117-1120.
- Handle, W. M. and Homna, S. 1981. Dormancy in peppers. *Scientia Hort.* 14:19-25.
- Hernández-Verdugo, S.; Oyama, K. and Vázquez-Yanes, C. 2001. Differentiation in seed germination among populations of *Capsicum annuum* along a latitudinal gradient in Mexico. *Plant Ecol.* 155:245-257.
- Hernández-Verdugo, S.; Sánchez-Peña, P. y Villareal Romero, M. 2006. Variación entre poblaciones y años: algunos factores que promueven o regulan la germinación de semillas en chile silvestre. 3<sup>ra</sup> Convención Mundial de Chile. Chihuahua y Delicias, Chihuahua, México. 105-111 pp.
- Hilhorst, H. W. M. 2007. Definitions and hypothesis of seed dormancy. In: Bradford, K. and Nonogaki, H. (eds). *Seed development, dormancy and germination*. Annual Plant Review. 27:50-71.
- International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR). 1983. Genetic resources of *Capsicum*: a global plan of action. AGPG/IBPGR/82/12. IBPGR, Rome, Italy. 49 p.
- Kant, S. and Kafkafi, U. 2007. Mitigation of mineral deficiency stress. Mitigation by crop management. URL: <http://www.plantstress.com/Articles/mindeficiencym/mitigation.htm>.
- Kucera, B.; Cohn, M. A. and Leubner-Metzger, G. 2005. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci. Res.* 15:281-307.
- Lara, V. M.; Sánchez, R. G.; Gaona, G. G. and Partida, Z. A. 2005. Estudio de las poblaciones naturales de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare* Dierb.) en la Sierra Madre Oriental de Tamaulipas, México. 2<sup>da</sup>. Convención Mundial de Chile. Zacatecas, Zacatecas, México. 252 p.
- Leubner-Metzger, G. 2003. Functions and regulations of β-1,3-glucanases during seed germination, dormancy and after-ripening. *Seed Sci. Res.* 13:17-34.
- Li, C. 1998. Variation of seedlings traits of *Eucalyptus microtheca* origins in different watering regimes. *Silvae Genetica*. 47:2-3.
- Lorenz, O. A. and Maynard, D. N. 1980. Knott's handbook for vegetable growers. 2<sup>nd</sup> edition. John Wiley & Sons. New York. 390 p.
- Meyer, S. E. and Kitchen, S. G. 1994. Life history variation in blue flax (*Linum perenne*: Linaceae): seed germination phenology. *Am. J. Bot.* 81:528-535.
- Meyer, S. E.; Kitchen, S. G. and Carlson, S. L. 1995. Seed germination regulation timing patterns in intermountain *Penstemon* (Scrophulariaceae). *Am. J. Bot.* 82:377-389.
- Miller, S. A. and Lewis, I. L. M. 2006. Hotwater treatment and chlorine treatment of vegetable seeds to eradicate bacterial plant pathogens. URL: <http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/3000/3085.htm>.
- Montes, H. S.; Ramírez, M. M.; Villalón, M. H.; Medina, M. T.; Morales, C. A.; Heredia, G. E.; Soto, R. J. M.; López, L. R.; Cardona, E. A. y Martínez, T. H. L. 2006. Conservación y aprovechamiento sostenible de chile silvestre (*Capsicum* spp. Solanaceae) en México. In: López, L. P. y Montes, H. S. (eds). Avances de investigación de la red de hortalizas del SINAREFI. INIFAP-CIR-CENTRO. Celaya, Guanajuato, México. Libro científico. Núm. 1. 71-134 pp.
- Nakano, A.; Yamaguchi, A. and Uehara, Y. 2003. Effects of application of low-sulfate slow-release fertilizer (LSR) on shoot and root and fruit yield of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Japan Agric. Res. Quarterly*. 37:121-127.
- Oyama, K.; Hernández-Verdugo, S.; Sánchez, C.; González-Rodríguez, A.; Sánchez-Peña, P.; Garzón-Tiznado, J. A. and Casas, A. 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Gen. Res. Crop Evol.* 53:553-562.
- Peng, J. and Harberd, N. P. 2002. The role of GA-mediated signaling in the control of seed germination. *Curr. Op. Plant Biol.* 5:376-381.
- Peretti, A. 1994. Manual para análisis de semillas. Editorial. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. 209 p.
- Petruzzelli, L.; Muller, K.; Hermann, K. and Leubner-Metzger, G. 2003. Distinct expression patterns of β-1,3-gluconases and chitinases during the germination of Solanaceae seeds. *Seed Sci. Res.* 13:139-153.

- Pozo, O.; Montes, S. y Redondo, E. 1991. Chile (*Capsicum* spp.). In: Ortega, R.; Palomino, G.; Castillo, F.; González, V. A. y Livera, M. (eds). Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. (SOMEFI). Chapingo, México. 217-238 pp.
- Pruthi, J. S. 2003. Advances in post-harvest processing technologies of *Capsicum*. In: De, Amit Krishna. (ed.). *Capsicum: the genus Capsicum*. Taylor & Francis Ltd. London and New York. 175-213 pp.
- Ramírez-Meráz, M.; Pozo, C. O. y Rodríguez del Bosque, L. A. 2003. Tecnología para inducir la germinación en chile piquín. In: Rodríguez del Bosque, L. A. (ed). Memoria del 1<sup>er</sup>. Simposium regional de chile piquín: avances de investigación en tecnología de producción y uso racional del recurso silvestre. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Río Bravo, México. Publicación especial. Núm. 26. 35-36 pp.
- Rodríguez del Bosque, L. A.; Ramírez-Meráz, M.; Pozo, C. O. 2003. El cultivo del chile piquín bajo diferentes sistemas de producción en el noreste de México. In: Rodríguez del Bosque, L. A. (ed). Memoria del 1<sup>er</sup>. Simposium regional de chile piquín: avances de investigación en tecnología de producción y uso racional del recurso silvestre. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Río Bravo, México. Publicación especial. Núm. 26. 1-16 pp.
- Rodríguez del Bosque, L. A.; Sánchez-de la Cruz, R. and Silva-Serna, M. M. 2005. Effect of sunlight regimes on growth and yield of piquin pepper. Revista Chapingo. Serie Horticultura. 11(2):357-359.
- Shaw, R. H. and Loomis, W. E. 1950. Bases for the prediction of corn yield. Plant Physiol. 25:225-244.
- Smith, M. T. and Berjak, P. 1995. Deteriorative changes associated with the loss of viability of store desiccation-tolerant and desiccation-sensitive seeds. In: Kigel, J. and Galili, G. (eds). Seed development and germination. Marcel-Dekker, Inc. New York. 701-746 pp.
- Soeda, Y.; Konings, M. C. J. M.; Vorst, O.; Van Houwelingen, A. M. M.; Stoopen, G. M.; Maliepaard, C. A.; Kodde, J.; Bino, R. J.; Groot, S. P. C. and Van der Geest, A. H. M. 2005. Gene and germinaton are indicators of progression of the germinator process and the stress tolerance level. Plant Physiol. 137:354-368.
- Vázquez-Dávila, M. A. 1996. Conocer y creer “El amash y el pistoqué”: dos aspectos de la ecología chontal de Tabasco, México. Etnoecológica. 3:59-69.
- Villalón, M. H.; Medina, M. T.; Rodríguez, B. J. L.; Pozo, C. O.; Garza, O. F.; López, L. R.; Soto, R. J. M.; Lara, V. M. and López, A. R. 2002. Wild chili pepper: a potential forest resource for sustainable management in northeastern México. Proc. 16<sup>th</sup>. International Pepper Conference. Tampico, Tamaulipas, México. 15 p.
- Wall, A. D. and Kochavar, R. and Phillips, R. 2002. Chile seed quality. New Mexico chili task force. New Mexico State University and United State Department of Agriculture. Report 4. 6 p.
- Watkins, J. T.; Cantliffe, D. J. 1983. Mechanical resistance of the seed coat and endosperm during germination of *Capsicum annuum* at low temperature. Plant Physiol. 72:146-150.
- Watkins, J. T.; Cantliffe, D. J.; Huber, D. J. and Nell, T. A. 1985. Gibberellic acid stimulated degradation of endosperm in pepper. J. Am. Soc. Hort. Sci. 110(1):61-65.