

Ensayo de Investigación

Respuesta de semillas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* a la prueba de envejecimiento acelerado para determinar su tolerancia al almacenamiento

Seed response of *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* to accelerated aging test to determine its storage tolerance

Luz del Carmen Lagunes Espinoza^{1*}, Dario de la Cruz Ricardez¹, José Cruz Guzmán¹

¹Laboratorio de Fisiología Vegetal
Colegio de Postgraduados Campus Tabasco

Autor de correspondencia:
*lagunesc@colpos.mx

Recibido: 18-09-2023 Aceptado: 03-01-2024 (Artículo Arbitrado)

Resumen

El chile Amashito (*C. annuum* var. *glabriusculum*) ingrediente tradicional de la gastronomía del Sur-sureste de México, tiene pocos estudios sobre la tolerancia al almacenamiento de sus semillas. El objetivo fue aplicar la prueba de envejecimiento acelerado con agua (100 % humedad relativa, HR) y con NaCl (76 % HR) a las semillas de este chile, para determinar su respuesta fisiológica. Los experimentos se establecieron bajo un diseño completamente al azar en arreglo factorial 3 × 3, con cuatro repeticiones. Los factores fueron: temperatura (38, 41 y 45 °C) y tiempo de exposición (48, 72 y 96 h). Los resultados mostraron que el chile Amashito presentó semillas pequeñas (3.5g por 1000 semillas), alta viabilidad (93.3 %) pero baja germinación (48 %) a 25 °C. El tratamiento 100 % HR disminuyó la germinación desde las 48 h a 38 °C respecto a la germinación a 25 °C, mostrando el deterioro de las semillas cuando son sometidas a alta humedad relativa. En contraste, el 76 % HR a temperaturas de 38 °C después de 48 h o 72 h de exposición mostró una germinación similar a la de 25 °C, por lo que puede ser recomendado para evaluar el vigor de las semillas de este chile.

Palabras clave: Amashito, chile, vigor, deterioro de semillas, germinación.

Abstract

The Amashito chile (*C. annuum* var. *glabriusculum*), a traditional ingredient in the gastronomy of South-southeast Mexico, has few studies on the storage tolerance of its seeds. The objective was to apply the accelerated aging test with water (100 % relative humidity, RH) and with NaCl (76 % RH) to the seeds of this chili, to determine their physiological response. The experiments were established under a completely randomized design in a 3 × 3 factorial arrangement, with four repetitions. The factors were: temperature (38, 41 and 45 °C) and exposure time (48, 72 and 96 h). The results showed that the Amashito pepper presented small seeds (3.5g per 1000 seeds), high viability (93.3 %) but low germination (48 %) at 25 °C. The 100 % HR treatment decreased germination from 48 h at 38 °C compared to germination at 25 °C, showing the deterioration of the seeds when they are subjected to high relative humidity. In contrast, the 76 % HR at temperatures of 38 °C after 48 or 72 h of exposure showed a germination similar to that at 25 °C, so it can be recommended to evaluate the vigor of the seeds of this chili.

Keywords: Amashito, chili, vigor, seed deterioration, germination.

Introducción

Condiciones ambientales desfavorables como temperatura y humedad relativa elevadas alteran la calidad física, bioquímica y fisiológica de las semillas durante el almacenamiento, lo que afecta su capacidad para germinar y producir una planta normal (Milošević et al., 2010). Entre los atributos indicadores de la calidad fisiológica de una semilla están el vigor y la capacidad para germinar, los que cambian por el manejo que se

le da a las semillas después de su cosecha (Milošević et al., 2010; Navarro et al., 2012).

El vigor de una semilla se define como el conjunto de propiedades que determinan la actividad y el desempeño de la misma bajo un amplio rango de condiciones ambientales. El vigor se mide a través de la tasa y uniformidad de germinación, crecimiento de plántula; la capacidad de emergencia en campo, y la

retención de la capacidad para germinar después del almacenamiento (Finch-Savage y Bassel, 2016). Entre los principales factores ambientales que influyen en el deterioro de las semillas durante el manejo después de la cosecha están la humedad relativa y las temperaturas elevadas (Mahjabin y Abidi, 2015). La respuesta de las semillas a tales condiciones establece su capacidad para tolerar el almacenamiento.

Para el establecimiento de un cultivo, el vigor de la semilla es el primer paso para lograr un rendimiento adecuado. Dado que este vigor de las semillas puede variar por las condiciones de almacenamiento de las mismas, varias metodologías se han propuesto para determinar el deterioro de semillas (Marcos-Filho, 2015). Entre estas metodologías están las pruebas de envejecimiento acelerado, que infieren que la tasa de deterioro de la semilla se incrementa por la exposición a humedad relativa y temperaturas elevadas durante el almacenamiento (Delouche y Baskin, 1973). La humedad relativa y temperaturas elevadas inducen estrés en las semillas que son sometidas a estas pruebas, acelerando su deterioro debido a elevadas tasas de respiración y consumo de reservas de la semilla, causando la coagulación de proteínas por efecto de altas temperaturas y cambios en actividad de enzimas con funciones antioxidantes (Marcos-Filho, 2015; Sales, Nery, Carvalho de Andrade Jr, Pires, Sousa, Da Costa, Lopes de Oliveira, 2022).

Para semillas pequeñas, como las de especies hortícolas, el método clásico se ha modificado, con el uso de soluciones salinas saturadas en lugar de agua, para evitar determinaciones erróneas por las variaciones en el contenido de agua de la semilla por la rápida absorción. La sustitución de agua por una solución salina permite reducir la velocidad de absorción de agua y la proliferación de microorganismos patógenos en las semillas sometidas a la prueba, ralentizando el deterioro de las mismas (Jianhua y McDonald, 1996; Mahjabin y Abidi, 2015). Este método de envejecimiento acelerado modificado ha mostrado su eficacia para evaluar el vigor en semillas de *Capsicum annuum* L. (Panobianco y Marcos Filho, 1998; Pablo et al., 2009), *Capsicum frutescens* L. (Bheering, Fernandes, De Souza, Dos Santos, 2006), tomate (Panobianco y Marcos Filho, 2001), soya (Misrha et al., 2023), kale (Sales et al., 2022) y semillas de pastos (Santos et al., 2020).

El chile Amashito (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) es nativo de la región Mesoamericana, y altamente apreciado entre los habitantes del Sureste de México por su sabor y pungencia (González-Cortés et al., 2015), donde sus frutos son recolectados para su consumo en fresco o secados para su conservación. La mayor parte de los estudios realizados en este chile están enfocados hacia la diversidad morfológica (Castañón-Nájera et al., 2008 y 2010), latencia y germinación (Prado-Urbina, Lagunes-Espinoza, García-López, Bautista-Muñoz, Camacho-Chiu, Mirafuentes, Aguilar-Rincón, 2015; López-España et al., 2017), aspectos agronómicos (Mares-Quiñones y Valiente-Banuet, 2019) y potencial de uso (De la Cruz Ricardez et al., 2020; De la Cruz Ricardez et al., 2023). Escasos estudios se han realizado para conocer cuáles son los factores que afectan la pérdida de vigor de sus semillas y las condiciones ambientales durante el almacenamiento para evitar su rápido deterioro, aspectos que son esenciales tanto para su conservación como para su establecimiento en campo.

Por lo anterior, el presente estudio se enfocó en evaluar la calidad fisiológica de semillas de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*, después de ser sometidas a las pruebas de envejecimiento acelerado.

Desarrollo

Procedencia y extracción de semillas

Las semillas de chile Amashito fueron extraídas de forma manual de frutos maduros y sanos provenientes de una comunidad de Huimanguillo, Tabasco, México (17°43'26" N, 93°22'97" O). Los experimentos de las pruebas de envejecimiento acelerado se realizaron en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco.

Descripción del experimento

Los experimentos para las pruebas de envejecimiento acelerado se establecieron bajo un diseño completamente al azar en arreglo factorial 3×3 con 9 tratamientos y cuatro repeticiones cada uno. Los factores fueron la temperatura (38, 41 y 45 °C) y el tiempo de exposición (48, 72 y 96 h). Para cada tratamiento, se utilizaron 400 semillas, 100 semillas por repetición. Estas 100 semillas por repetición, fueron utilizadas para la determinación del porcentaje de humedad y de germinación después de las pruebas de envejecimiento acelerado.

Variables evaluadas

Previo a la aplicación de las pruebas de envejecimiento acelerado, se determinó el peso de 1000 semillas, el porcentaje de humedad, de viabilidad y de germinación, así como la velocidad de germinación expresada en semillas germinadas día⁻¹. El peso de 1000 semillas se determinó por triplicado. Para el porcentaje de humedad, grupos de 25 semillas por cuadruplicado fueron pesados, secados a 105 ± 3 °C por 24 h en una estufa de aire forzado y pesados. Para el porcentaje de viabilidad, en grupos de 25 semillas por cuadruplicado se determinó con cloruro de tetrazolio al 1 %. El porcentaje de humedad, y la germinación de semillas fueron también evaluados después de las pruebas de envejecimiento acelerado.

El porcentaje de germinación, previo a las pruebas de envejecimiento acelerado, fue determinado en grupos de 50 semillas por cuadruplicado. Las semillas fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio (Cloralex®) 1 % por 30 min, lavadas con agua destilada y tratadas con ácido giberélico (5 g/L) durante 24 h para liberarlas de la latencia (Prado-Urbina et al., 2015; Cano-Vázquez et al., 2015). Las semillas fueron sembradas en cajas Petri previamente desinfectadas y se mantuvieron en una cámara de crecimiento a 25 °C durante 35 días. Cada tercer día, se realizó el conteo de semillas germinadas. Una semilla fue considerada germinada cuando la radícula presentó una emergencia >2mm.

Pruebas de envejecimiento acelerado

Prueba de envejecimiento acelerado clásica, 100 % de humedad relativa (100 % HR). La metodología usada fue la de Delouche y Baskin (1973), Marcos Filho (1998) y Bhering et al. (2006). Grupos de 100 semillas por cuadruplicado pre-tratadas con AG3 se sometieron a temperaturas de 38, 41 y 45 °C ± 1 °C durante 48, 72 y 96 h, a una humedad relativa del 100 %. Esto hizo un total de 3600 semillas utilizadas para este ensayo. Las semillas se depositaron sobre una malla de alambre dentro de cajas de plástico transparentes con dimensiones 10 × 10 × 3.5 cm. Previo a la colocación de la malla, a cada caja se le agregaron 40 ml de agua destilada estéril; la malla de alambre con las semillas se colocó por encima del nivel del agua, evitando el contacto de éstas con el agua, se taparon y se incubaron a 38, 41 y 45 °C ± 1 °C. Al final de cada prueba, la humedad de las semillas se deter-

minó en una estufa de aire forzado a 105 ± 3 °C por 24 h, para obtener el porcentaje de humedad. Después del período de envejecimiento, a las semillas se les realizó la prueba de germinación según ISTA (2005), considerando cuatro repeticiones de 50 semillas; el conteo de semillas germinadas se realizó a los 25 días después de siembra.

Prueba de envejecimiento acelerado con solución salina saturada con 76 % de humedad relativa (76 % HR). Para esta prueba se siguió el mismo procedimiento descrito para el método de 100 % HR, solo que el agua se sustituyó por una solución saturada de NaCl (40g de NaCl en 100mL de agua destilada), para obtener un ambiente con 76 % HR (Jianhua y McDonald, 1996). Después del envejecimiento acelerado, la humedad de las semillas se determinó en estufa de aire forzado a 105 ± 3 °C por 24 h, para obtener el porcentaje de humedad. Después del período de envejecimiento, a las semillas se les realizó una prueba de germinación estándar según ISTA (2005), considerando cuatro repeticiones de 50 semillas; el conteo de semillas germinadas se realizó a los 25 días después de siembra.

Análisis estadístico

Los datos de porcentaje previo al análisis de varianza fueron transformados al arco-seno de la raíz cuadrada del valor porcentual. Los datos de cada prueba de envejecimiento acelerado, se sometieron a análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar en arreglo factorial 3×3, con nueve tratamientos y cuatro repeticiones cada uno. Los tratamientos fueron la combinación de los factores temperaturas (38, 41 o 45 °C) y tiempo de exposición (48, 72 y 96 h). Las pruebas de medias de Tukey ($p < 0.05$) se realizaron cuando el efecto de los factores fue significativo. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS (SAS Institute, 2010).

Discusión y análisis de resultados

Los datos del contenido de humedad de las semillas previo a los ensayos de envejecimiento acelerado revelaron un porcentaje de humedad de 6 % (Tabla 1), que está dentro de los rangos de contenido de humedad establecidos para la calificación de las semillas de *Capsicum*, que debe ser entre 6 y 10 % (SNICS, 2014). El chile Amashito presenta semillas pequeñas, con un peso de 1000 semillas de solo 3.57 g. Este peso es similar al observado por Prado-Urbina et al. (2015)

Tabla 1. Calidad física y fisiológica inicial de las semillas de chile Amashito utilizadas para las pruebas de envejecimiento acelerado.

Peso de 1000 semillas (g)	Humedad (%)	Viabilidad (%)	Germinación en semillas tratadas con AG3 (%)	Velocidad de germinación de semillas tratadas con AG3 (semillas día ⁻¹)	Germinación en semillas no tratadas con AG3 (%)
3.57 ± 0.15	6.0 ± 0.01	93.3 ± 2.91	48.0 ± 4.40	0.57 ± 0.06	16.67 ± 4.40

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2. Cuadrados medios del porcentaje de humedad, de germinación y velocidad de germinación de semillas de chile Amashito, después de la aplicación de las pruebas de envejecimiento acelerado.

Fuente de variación	GL	Humedad (%)		Germinación (%)		Velocidad de germinación (semillas día ⁻¹)	
		Envejecimiento acelerado					
		100 % HR	76 % HR	100 % HR	76 % HR	100 % HR	76 % HR
Temperatura (T)	2	391.2**	19.8*	440.8ns	1738.6**	0.06ns	0.19**
Tiempo de exposición (TE)	2	1340.6**	865.3**	726.2*	608.0*	0.09*	0.08*
T*TE	4	259.6*	67.2**	234.2ns	362.6*	0.04ns	0.06*
Error	9	14.03	2.95	160.0	28.4	0.04	0.0020
CV (%)		12.6	12.1	69.4	16.0	59.3	14.0

**, *significativo al 0.01 y al 0.05 % de probabilidad de acuerdo a prueba de F, respectivamente, HR= humedad relativa, ns= No significativo, GL= grados de libertad, CV= coeficiente de variación. Fuente: Elaboración propia.

en semillas de *C. annuum* var. *glabriusculum* procedentes de los municipios de Centro y Cunduacán, Tabasco. El porcentaje de viabilidad fue superior al 90 % pero la germinación fue menor de 50 % aún después del tratamiento con AG3 (Tabla 1).

Durante los 35 días que duró la prueba de germinación, la velocidad promedio de germinación fue de solo 0.57 semillas día⁻¹. Este bajo porcentaje de germinación en semillas de chile Amashito tratadas, indica el grado de latencia de sus semillas, que puede estar asociado, a la impermeabilidad de la testa, por la presencia de compuestos fenólicos como la lignina, que llevan a la lignificación de su testa lo que impide el intercambio de gases entre embrión y el ambiente (Bissoli et al., 2022).

La exposición de las semillas a las pruebas de envejecimiento acelerado con 100 % HR y 76 % HR mostró efecto significativo entre tiempos de exposición, temperatura y la interacción tiempo*temperatura, particularmente en porcentaje de humedad, germinación y velocidad de germinación en el ensayo de 76 % HR. En caso del ensayo 100 % HR solo se observó para el porcentaje de humedad; para germinación y velocidad de germinación el efecto observado solo fue entre tiempos de exposición (Tabla 2).

El porcentaje de humedad disminuye con el incremento en temperatura a partir de las 72 h de exposición en ensayos 100 % HR, principalmente (Figura 1), y se incrementa con el tiempo de expo-

sición hasta las 72 h, para después mantenerse igual que a 48 h o disminuir a temperaturas de 41 y 45 °C (Figura 1). Un mayor contenido de agua, y variación en este contenido se observa en las semillas sometidas a envejecimiento acelerado con agua a 100 % HR, en comparación con el de solución salina. Brito et al. (2019) indican que una alta tasa de absorción de agua puede llevar a un mayor deterioro de las semillas.

Respecto a la germinación, en la prueba de envejecimiento acelerado con agua 100 % HR, ésta y la velocidad de germinación disminuyen significativamente a las 72 h de exposición (Figura 2) cuando la humedad de las semillas se incrementa significativamente (Figura 1a).

La germinación de semillas de chile con esta prueba de envejecimiento acelerado a 100 % HR, no logra alcanzar la germinación inicial de las semillas antes de la aplicación de este tratamiento aún con el incremento en temperatura y tiempo de exposición.

Lo anterior parece indicar que la exposición a atmósferas saturadas de agua disminuye fuertemente el vigor de las semillas de chile Amashito, las cuales, al ser semillas pequeñas, se deterioran con la rápida entrada de agua (Jianhua y McDonald, 1996; Mahjabin y Abidi, 2015). En diferentes colectas de chiltepín provenientes de los estados de Guanajuato y Querétaro, observaron variación en la susceptibilidad entre colectas y baja longevidad de las semillas cuando se

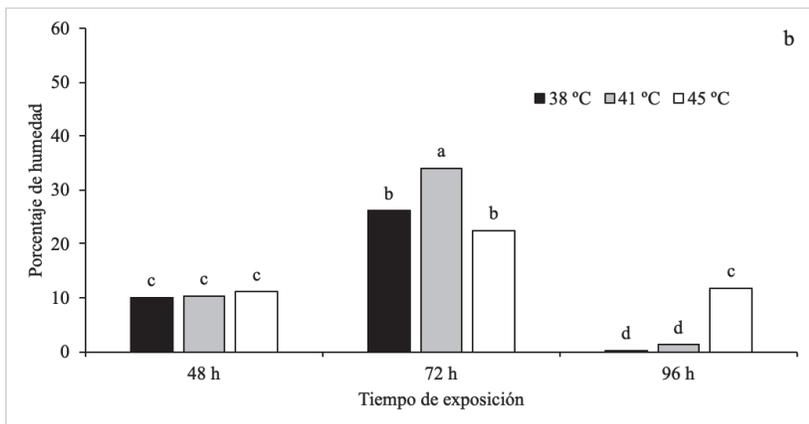
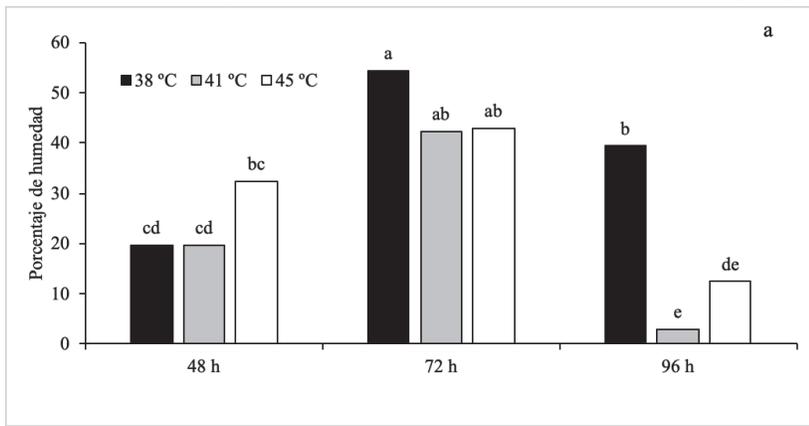


Figura 1. Porcentaje de humedad de semillas de chile Amashito después de la aplicación de la prueba de envejecimiento acelerado a 100 % HR (a) y en solución salina (NaCl) a 76 % HR (b). Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Fuente: Elaboración propia.

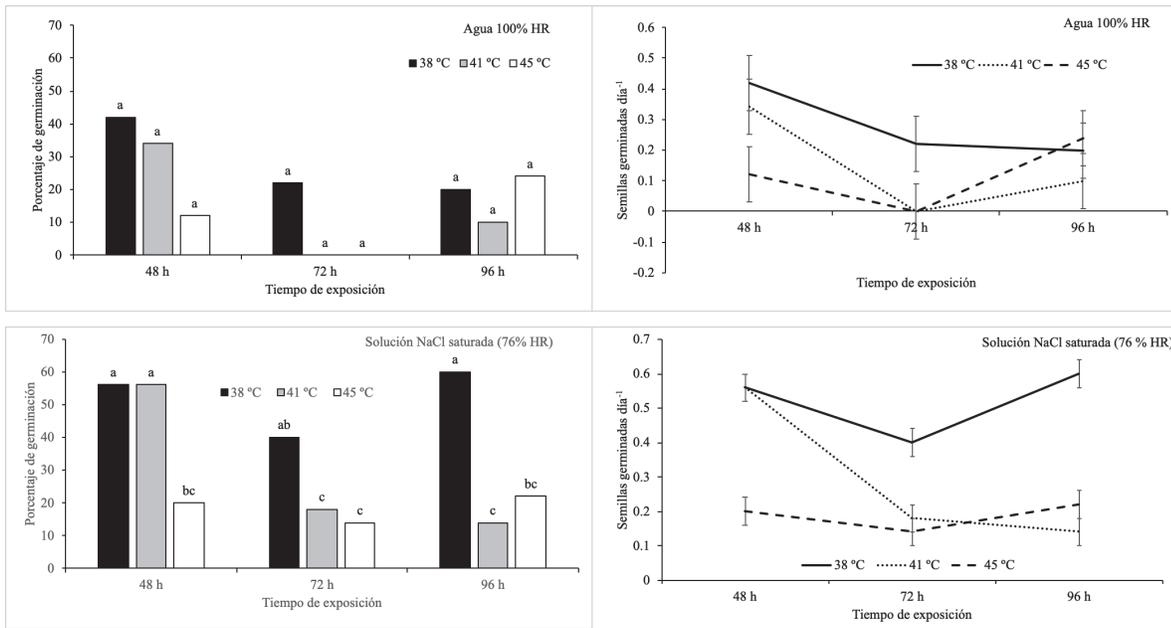


Figura 2. Porcentaje de germinación y velocidad de germinación (semillas germinadas día⁻¹) de semillas de chile Amashito después de la aplicación de la prueba de envejecimiento acelerado con agua a 100 % HR y en solución salina saturada (NaCl) a 76 % HR. Letras iguales no son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Las barras indican el error estándar.

Fuente: Elaboración propia.

sometieron a pruebas de envejecimiento acelerado a 42 °C y 100 % HR. La mayor germinación fue observada entre 24 y 48 h de exposición a esta temperatura y humedad relativa (Herrera et al., 2018).

El ensayo de envejecimiento acelerado con solución salina (NaCl) saturada (76 % HR) utilizando temperaturas de 38 y 41 °C con un tiempo de exposición de 48 h, promovió la germinación de las semillas de chile Amashito, superando a la germinación inicial de las semillas. Temperaturas de 45 °C a todos los tiempos de exposición probados deterioran el vigor de las semillas de este chile. El mismo comportamiento presenta la velocidad de germinación (Figura 2). Para la evaluación del vigor de las semillas de chile Amashito, las semillas pueden ser germinadas usando la solución saturada de NaCl, a una temperatura de 38 °C y tiempos de exposición de 72 h e incluso a 96 h, ya que con estas condiciones se obtiene una germinación similar a la germinación estándar obtenida a 25 °C.

Conclusiones

Las semillas de chile Amashito presentaron viabilidad alta, pero porcentajes de germinación bajos. El porcentaje de humedad de las semillas fue de 6 %. Las semillas de Amashito pretratadas con ácido giberélico (AG3) incrementaron significativamente la germinación, pasando de 16 % sin AG3 a 48 % con AG3. El vigor de las semillas se deteriora con temperaturas de 45 °C después de 96 h de exposición tanto en atmósferas saturadas (100 % HR) como con restricción de humedad (NaCl 76 % HR). La germinación a 48 h e incluso a 96 h a temperatura de 38 °C en atmósferas con restricción de humedad (NaCl 76 % HR) podría ser utilizada como prueba de vigor para semillas de chile Amashito, debido a que con ella se obtiene una germinación similar a la germinación estándar obtenida a 25 °C.

Referencias

- Bhering M. C., Fernandes D. S. D. D. C., De Souza V. D., Dos Santos P. N. D. (2006). Teste de envelhecimento acelerado em sementes de pimenta. *Revista Brasileira de Sementes*, 28(3), 64-71.
- Bissoli G., Bono M., Martínez-Almonacid I., Moreno Peris E., Renard J., Espinosa A., Naranjo MA., Yenush L., Fita A., Serrano R., Rodríguez-Burruezo A., Bueso E. (2022). Seed coat lignification level is crucial in *Capsicum* spp seed longevity. *Physiologia Plantarum*, 174(1), 1-9. doi.org/10.1111/ppl.13600.
- Brito C. F., Queiroz R. C. H., de Oliveira, I. C., Zuffo, A. M., da Cândido, A. C. da S., Alves Ch. Z. (2019). Vigor testings for evaluating the physiological quality of chia seeds. *Ciências Agrárias*, Londrina, 40(6), 2891-2904. doi: 10.5433/1679-0359.2019v40n6Supl2p289
- Cano-Vázquez A., López-Peralta C. M., Zavaleta-Mancera H. A., Cruz-Huerta N., Ramírez-Ramírez I., Gardea-Béjar A., González-Hernández V.A. (2015). Variación en grados de latencia en semillas entre colectas de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Botanical Sciences*, 93(1), 1-10.
- Castañón-Nájera G., Latournerie-Moreno L., Mendoza-Elos M., Vargas-López A., Cárdenas-Morales H. (2008). Colección y caracterización de Chile (*Capsicum* spp) en Tabasco, México. *Revista Internacional de Botánica Experimental. Phytón*, 77, 189-202
- Castañón-Nájera G., Latournerie-Moreno L., Leshner-Gordillo J.M., de la Cruz-Lázaro E., Mendoza-Elos M. (2010). Identificación de variables para caracterizar morfológicamente colectas de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, 26(3), 225-234.
- De la Cruz-Ricardez D., Lagunes-Espinoza L. C., Ortiz-García C. F., Hernández-Nataren E., Soto-Hernández R. M., Acosta-Pech R. G. (2023). Phenology, yield, and phytochemicals of *Capsicum* spp. in response to shading. *Botanical Sciences*, 100(3), 865-882. doi.org/10.17129/botsci.3234
- De la Cruz-Ricardez D., Ortiz-García C. F., Lagunes-Espinoza L. C., Torres-De la Cruz M. (2020). Efecto antifúngico *in vitro* de extractos metanólicos de *Capsicum* spp. en *Moniliophthora roreri*. *Agrociencia*, 54, 813-824. doi.org/10.47163/agrociencia.v54i6.2186
- Delouche J. C., Baskin, C. C. (1973). Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*, Zürich, 1(3), 427-452.
- Finch-Savage W. E., Bassel G. W. (2016). Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*, 67(3), 567-591.
- González-Cortés N., Jiménez Vera R., Guerra Baños E. C., Silos Espino H., Payro de la Cruz E. (2015). Germinación del chile amashito (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) en el sureste mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11, 2211-2218.
- Herrera A. A., Cervantes O. F., Antuna G. O., García R. G., Rodríguez M. D., Rodríguez H. S. A., Andrio E. E., Mendoza E. M. (2018). Deterioro de la calidad de la semilla de chile piquín de cuatro colectas en Querétaro y Guanajuato. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(8), 1627-1638.
- ISTA, *International Seed Testing Association* (2005). Rules for seed testing. ISTA, Bassersdorf, Switzerland.
- Jianhua Z., McDonald M. B. (1996). The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. *Seed Science and Technology*, Zürich, 25(1), 123-131.
- López-España R. G., López-Hernández E. R., Hernández-Morales T., Charrez-Cruz A., González Guzmán Y., Muñoz-Jimarez N. A., Ortiz-Quintero J. A. (2017). Effects of temperature wild chili pepper (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) germination grown under two light conditions. *Acta Agronomica*, 66(1), 69-74. doi.org/10.15446/acag.v66n1.50662
- Mahjabin B. S., Abidi A. B. (2015). Physiological and biochemical changes during seed deterioration: A review. *International Journal of Recent Scientific Research*, 6(4), 3416-3422.
- Marcos-Filho J. (1998). New approaches to seed vigor testing. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, 55, 27-33.
- Marcos-Filho J. (2015). Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. *Scientia Agrícola*, 72(4), 363-374.

- Mares-Quiñones M. D., Valiente-Banuet J. I. (2019). Horticultural aspects for the cultivated production of piquin peppers (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*)—A Review. *Hortscience*, 54(1), 70–75.
- Milošević Ć. M., Vujaković M., Karagi Ć. C. (2010). Vigour tests as indicators of seed viability. *Genetika*, 42(1), 103-118.
- Misra S. N., Kumari N., Mishra N. N., Mishra K. (2023). Estimation of Hormonal Seed Treatments on Enzyme Activities after Accelerated Ageing (Artificial Ageing) in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Legume Research*, 46(4), 421-427. doi.org/10.18805/LR-4796
- 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.
- Pablo C. E., Mejía C. J. A., Carballo C. A., García de los Santos G., Aguilar R. V. H., Corona T. T. (2009). Calidad de semilla en colectas de chile de agua (*Capsicum annuum* L.) de los valles centrales de Oaxaca, México. *Agricultura Técnica en México*, 35(3), 257-266.
- Panobianco M., Marcos Filho J. (1998) Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. *Revista Brasileira de Sementes*, 20, 306-310.
- Panobianco M., Marcos Filho J. (2001). Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 58(3), 525-531.
- Prado-Urbina G., Lagunes-Espinoza L. C., García-López E., Bautista-Muñoz C. C., Camacho-Chiu W., Mirafuentes G. F., Aguilar-Rincón V. H. (2015). Germinación de semillas de chiles silvestres en respuesta a tratamientos pre-germinativos. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2(5), 139-149.
- Sales T. S., Nery M. C., Carvalho de Andrade Jr, V., Pires R. M. de O., Sousa T. de O., da Costa M. R., Lopes de Oliveira L. (2022). Accelerated ageing test and enzymatic expression in the evaluation of kale seed quality. *Semina: Ciências Agrárias Londrina*, 43(3), 1079-1094. doi: 10.5433/1679-0359.2022v43n3p1079.
- Santos O. A. M., Nery M. C., Ribeiro, K. G., Rocha S. A., Torres C. P. (2020). Accelerated aging for evaluation of vigor in *Brachiaria brizantha* 'Xaraés' seeds. *Journal of Seed Science*, v.42, e202042006. doi.org/10.1590/2317-1545v42i216691
- SAS Institute. (2010). User`s Guide of SAS (Statistical Analysis System). SAS Institute Inc. Cary, N. C. USA
- SNICS. (2014). *Regla para la calificación de semilla de chile (Capsicum spp.)*. SAGARPA-SNICS. México, D.F. 14 p.