

## Evaluación de técnicas de emasculación y maduración de fruto para la producción de semilla en chile (*Capsicum annuum* L.)\*

### Assessment of emasculation techniques and maturation of fruit for seed production of pepper (*Capsicum annuum* L.)

Esmeralda A. García-Tierrablanca, Juan Carlos Raya-Pérez<sup>1§</sup>, Jorge Covarrubias-Prieto, José Augusto Roberto Dorantes-González<sup>2</sup>, Francisco Chablé-Moreno, Juan Gabriel Ramírez-Pimentel y César Aguirre-Mancilla<sup>1</sup>

<sup>1</sup>División de Estudios de Posgrado e Investigación-Instituto Tecnológico de Roque. Tel: 01(461) 6 11 77 57. Carretera Celaya-Juventino Rosas, km 8. C. P. 38110, Celaya, Guanajuato. (pejelagarto\_esmeralda@hotmail.com; jor\_covarru-jrg@hotmail.com; fchable4oct@hotmail.com; drjgrp2004@yahoo.com.mx; cesar.aguirre.m@gmail.com).

<sup>2</sup>Fundación Guanajuato Produce. Nuevo León 603 Colonia Alameda, Celaya, Guanajuato. (jrdorantes@hotmail.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: juancarlos.raya@gmail.com.

#### Resumen

El objetivo de este trabajo fue comparar dos técnicas de emasculación para la obtención de semilla híbrida de chile. Se utilizaron dos genotipos de chile Jalapeño: Euforia e Invicto y dos genotipos de chile Bell: Canon y Dársena. Para la emasculación química se usaron soluciones de etanol. Con etanol al 47.5% (v/v) durante 10 s en los genotipos de chile jalapeño, dañó en grado intermedio 80% de las flores; la inmersión durante 30 s dañó al 60% de las flores. El tratamiento de 45 s infligió daño muy severo en 100% de las flores. La inmersión en etanol al 50% (v/v) durante 5 y 10 s dañó menos de 60% de las flores de "Euforia" e "Invicto". El daño causado en el botón floral de genotipos de chile Bell, con etanol al 50% (v/v) durante 5 s fue de 52% y los frutos produjeron 235 semillas. Con la inmersión a 10 s se observó que 68% de las flores no mostró daños y produjeron 304 semillas por fruto. La emasculación manual produjo frutos con 170 semillas. La extracción de semillas se realizó a diferentes tiempos de cosecha del fruto postfecundación: 30, 45 y 60 días. La emasculación manual fue más eficiente para obtener semillas viables. El estadio rojo de maduración resultó el mejor para asegurar la calidad y rendimiento de la semilla.

**Palabras clave:** amarre de fruto, emasculación química, floración, híbrido.

#### Abstract

The aim of this study was to compare two techniques of emasculation for obtaining hybrid seed of pepper. We used two kinds of peppers: Euforia and Invicto and two genotypes of pepper Bell: Canon and Dársena. For the chemical emasculation ethanol solutions were used. With 47.5% ethanol (v/v) for 10 s in genotypes of pepper, damaged in intermediate grade 80% of the flowers; immersion for 30 s damaged 60% of the flowers. Treatment at 45 s inflicted severe damage to 100% of the flowers. Immersion in 50% ethanol (v/v) for 5 to 10 s damaged less than 60% of the flowers "Euforia" and "Invicto". The damage in the bud of Bell pepper genotypes with 50% ethanol (v/v) for 5 s was 52% and the fruits produced 235 seeds. With a 10 s immersion, 68% of the flowers showed no damage and produced 304 seeds per fruit. The manual emasculation produced fruits with 170 seeds. Seed extraction was performed at different times of fruit harvest: postfertilization 30, 45 and 60 days. Manual emasculation was more efficient for viable seeds. Red maturation stage was to ensure the best quality and seed yield.

**Keywords:** chemical emasculation, flowering, fruit set, hybrid.

\* Recibido: enero de 2015  
Aceptado: marzo de 2015

El chile es uno de los cultivos hortícolas más importante en México; se consume preferentemente en estado fresco (Valadez, 2001). Desde el punto de vista económico *C. annuum* es la especie más cultivada en América Latina y en todo el mundo, seguida de *C. chinense*. La mayoría de la producción de semillas híbridas de este cultivo se producen en países como China, India y Tailandia con mano de obra barata y calificada (Berke, 2008). Existen genotipos tan costosos que el precio de la semilla en el mercado oscila entre 1 000 a 1 200 dólares las mil semillas.

La producción y rendimiento de semilla híbrida depende de varios factores, como, la técnica de emasculación, receptividad del estigma, momento adecuado de la polinización, viabilidad del polen, número de polinizaciones necesarias para la producción de semilla número de frutos por planta (Kivadasannavar, 2008). La apertura de la flor ocurre con mayor frecuencia en las primeras horas del día y permanece abierta por un periodo variable, en promedio 24 h. Las anteras se abren después de la apertura de las flores, variando de 1 a 8 h en *C. annuum*. El estigma puede ser receptivo en la etapa de botón, en la víspera de la antesis, ó 2 a 3 h después de la apertura de la flor (protoginia) (Vallejo *et al.*, 2004). La técnica utilizada en el cultivo de chile es la emasculación manual pero es un procedimiento laborioso y poco rentable (Bosland *et al.*, 2012).

Algunas alternativas actuales de emasculación usadas en la eliminación del polen son: por medio de calor, frío o etanol, polinización sin emasculación y androesterilidad génico-citoplasmática (Kato, 1989; Chávez, 1993; Aloni, 1999). Hirose y Fujime (1973) estudiaron la influencia de Dalapon® para inducir esterilidad masculina en chile y reportaron que 6 aplicaciones semanales a bajas concentraciones (hasta 300 ppm) suprimió la dehiscencia de las anteras.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar dos técnicas de emasculación, en dos genotipos de chile jalapeño (Euforia e Invicto), y dos de chile Bell (Canon y Darsena) y comparar la emasculación con etanol y la emasculación manual y la calidad de semilla considerando el estado de maduración del fruto para su extracción.

El trabajo se desarrolló bajo condiciones de invernadero en la región de Celaya, Guanajuato, a una altura de 1 765 msnm. Los materiales evaluados fueron dos genotipos de chile jalapeño (Euforia e Invicto) y dos de chile Bell (Canon y Darsena). La germinación de las plántulas de los cuatro genotipos se llevó a cabo en charolas. Se aplicó

Pepper is one of the most important vegetable crops in Mexico; is preferably consumed fresh (Valadez, 2001). From the economic viewpoint *C. annuum* is the most cultivated species in Latin America and worldwide, followed by *C. chinense*. Most hybrid seed production of this crop is produced in countries like China, India and Thailand with cheap and skilled labour (Berke, 2008). There are so expensive genotypes that the price of the seed on the market ranges from 1 000 to \$1 200 per thousand seeds.

Production and hybrid seed yield depends on several factors, including, emasculation technique, stigma receptivity, right time of pollination, pollen viability, pollinations number necessary for seed production number of fruit per plant (Kivadasannavar, 2008). The flower opening occurs most often in the early hours of the day and remains open for a variable period, on average 24 h. Anthers open after the opening of the flowers, varying from 1 to 8 h at *C. annuum*. Stigma can be receptive stage button on the start of anthesis, or 2-3 h after flower opening (protogyny) (Vallejo *et al.*, 2004). The technique used in the cultivation of pepper is the manual emasculation; however, it is a laborious and unprofitable procedure (Bosland *et al.*, 2012).

Some current alternatives emasculation used in removing pollen are: by heat, cold or ethanol, without emasculation and pollination gene-cytoplasmic male sterility (Kato, 1989; Chávez, 1993; Aloni, 1999). Hirose and Fujime (1973) studied the influence of Dalapon® to induce male sterility in pepper and reported that 6 applications per week in low concentrations (up to 300 ppm) suppressed anther dehiscence.

The aim of this study was to evaluate two techniques of emasculation in two genotypes of pepper (Euforia and Invicto), and two of pepper Bell (Canon and Darsena) and, compare with ethanol emasculation and manual emasculation and seed quality considering the state of ripening for removal.

The work was conducted under greenhouse conditions in the region of Celaya, Guanajuato, at an elevation of 1765 meters. The materials tested were two genotypes pepper (Euforia and Invicto) and two of pepper Bell (Canon and Darsena). The germination of seedlings of four genotypes was carried out in trays. Steiner nutrient solution in irrigation water daily was applied (Castañeda, 2001). When the seedlings reached a height of 15-20 cm, these were transplanted in the greenhouse; four blocks were established, with rows of 3 m

solución nutritiva de Steiner en el agua de riego diariamente (Castañeda, 2001). Cuando las plántulas alcanzaron una altura de 15-20 cm, se trasplantaron en el invernadero; se establecieron cuatro bloques, con surcos de 3 m de longitud; cada bloque estuvo constituido por 10 surcos, a una distancia de 1 m entre ellos. Cada surco tenía nueve plantas a una distancia de 40 cm, a doble hilera con una densidad de 2.2 plantas m<sup>2</sup>.

Se evaluaron dos métodos de emasculación: con etanol y manual. Para el primero, se seleccionaron botones entreabiertos, con presencia de anteras inmaduras. Se evaluó etanol al 47.5% (V/V) durante 5, 10, 30 y 45 s; después de la inmersión, los botones se cubrieron con papel delgado para evitar la contaminación, se utilizaron cinco botones florales por tratamiento con tres repeticiones.

Variables evaluadas: se realizó en forma cuantitativa y cualitativa. Presencia de polen (PP), se observó si la antera después de la aplicación de etanol presentaba dehiscencia y desprendimiento de polen mediante observación visual. Caída de la flor (CF), se contabilizó el número de flores que se cayeron después de la aplicación del método. Porcentaje de flores abortadas (PFA), se contabilizó el número de flores que no presentaron amarre de fruto. Porcentaje de amarre y frutos caídos (PA), (PFC). El porcentaje de amarre se midió contando el número de flores fertilizadas y frutos cuajados. Se contó el número de frutos caídos, evaluándose como total de frutos. Viabilidad del polen. En los genotipos de chile Bell, se hicieron emasculaciones con etanol y las flores se dejaron un día en la planta.

Posteriormente se cortaron las anteras para extraer el polen y realizar la prueba de viabilidad. Para esta se empleó: sacarosa en solución al 20%, 100 ppm de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 300 ppm de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 200 ppm de MgSO<sub>4</sub>, 100 ppm de KNO<sub>3</sub> y Tween 80 al 0.4%, pH 5.5. Se colocaron dos gotas del medio en un portaobjetos, después se colocaron muestras de polen de las flores sometidas a los tratamientos con etanol. Estas se mantuvieron a una temperatura de 20 °C por 2 h. La observación del polen se realizó mediante un microscopio estereoscopio Leica Zoom 2000®. Granos de polen viable (GPV). Se consideraron viables los granos de polen que contaban con presencia del tubo polínico de longitud mayor o igual al diámetro del polen (µm) (González *et al.*, 2002).

La emasculación manual se realizó entre las 08:00 y 10:00 am, debido a que la polinización requiere de una temperatura promedio de 20 °C, para que la antera presente la dehiscencia

length; each block was constituted by 10 rows at a distance of 1 m between them. Each groove had nine plants at a distance of 40 cm, double row with a density of 2.2 plants m<sup>2</sup>.

Two methods were evaluated, ethanol and manual emasculation. For the first one, parted buttons were selected in the presence of immature anthers. 47.5% ethanol (V/V) was evaluated for 5, 10, 30 and 45 s; after immersion, the buttons are covered with thin paper to prevent contamination five flower buds per treatment with three replications.

Variables assessed: performed quantitatively and qualitatively. Presence of pollen (PP), if the anther observed after application of ethanol had dehiscence and pollen release by visual observation. Fall Flower (CF), the number of the flowers that fell after application of the method is recorded. Percentage of aborted of the flowers (PFA), the number of the flowers that had no fruit set was recorded. Percentage of mooring and fallen fruit (PA), (PFC). Mooring percentage was measured by counting the number of fertilized of the flowers and fruit set. The number of fallen fruits, evaluated as total fruit was counted. Pollen viability. In Bell pepper genotypes, emasculations made with ethanol and of the flowers were left on the ground one day.

Subsequently, the anthers were cut to remove pollen and feasibility testing. For this we employed: sucrose 20% solution, 100 ppm of H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 300 ppm Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 200 ppm MgSO<sub>4</sub>, 100 ppm of KNO<sub>3</sub> and 0.4% Tween 80, pH 5.5. Two drops of medium were placed on a slide, then samples of pollen from of the flowers subjected to treatment with ethanol were placed. These were kept at a temperature of 20 °C for 2 h. The observation of pollen was performed using a stereoscope microscope Leica Zoom 2000®. Grains of viable pollen (GPV). Pollen grains that had presence of pollen tube length larger than or equal to the diameter of pollen (µm) were considered viable (González *et al.*, 2002).

The manual emasculation is performed between 08:00 and 10:00 am, because the pollinated requires an average temperature of 20 °C, for the anther to present the dehiscence and suitable pollen viability. Direct and reciprocal crosses were made; labelled and covered with tissue paper the flower. The evaluation was performed by using the quantitative characteristics as female parent and then as a male with 10 repetitions per treatment, giving a total of 20 experimental units; evaluation was done descriptively, estimating the mean percentage of mooring (number of fruits achieved). The fruits are harvested when they were red or red streaking, which is an indicator of ripeness of fruit and seed. To evaluate

y adecuada viabilidad del polen. Se realizaron cruza directas y recíprocas; se etiquetó y cubrió la flor con papel de china. La evaluación se realizó mediante características cuantitativas usando el progenitor como hembra y después como macho, con 10 repeticiones por cada tratamiento, dando un total de 20 unidades experimentales; la evaluación se hizo en forma descriptiva, estimando la media del porcentaje de amarre (número de frutos logrados). Los frutos se cosecharon cuando estos tenían color rojo o rayando a rojo, lo cual es un indicador de madurez fisiológica del fruto y de la semilla. Para evaluar la fase de maduración más adecuada para la extracción de semilla y asegurar la calidad de la misma se consideraron tres grados de madurez, a los 30, 45 y 60 días, con 8 repeticiones.

Tiempo de extracción de semilla: inmediata, la semilla se extrae al momento de la cosecha; tardía, la semilla se extrae después de 14 días de cosechado el fruto. La extracción se realizó por fruto y se pesó de modo individual; se lavaron con agua destilada estéril y se dejaron secar por 14 días; se guardaron en bolsas herméticas. Calidad fisiológica de la semilla. Se realizó la prueba de germinación estándar en papel germinador. Se colocaron 25 semillas en el papel previamente humedecido; se roció captan a  $1 \text{ g L}^{-1}$ . Se enrolló el papel para formar los "tacos" y se colocaron en bolsas de plástico y posteriormente se introdujeron a la cámara de germinación Conviron® a  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Se realizaron dos conteos: el primero a los siete días y el segundo a los 14 días.

La emasculación con etanol al 47.5% (v/v); en genotipos de chile jalapeño Euforia e Invicto, durante 10 s, daño en grado intermedio 80% de las flores. La inmersión durante 30 s afectó 60% de las flores con daño intermedio. El tratamiento de 45 s ocasionó un daño muy severo 100% de las flores. El tratamiento durante 10 s ocasionó más daño debido al efecto de la tensión superficial generada por la morfología del botón floral y el tiempo de exposición, al no permitir que la solución escurriera. El tratamiento de 30 s fue suficiente para que la solución se acumulara y cayera por gravedad. En cuanto a la caída de las flores, los tratamientos de 10 y 30 s presentaron 10% de desprendimiento. El tratamiento de 45 s ocasionó 100% de desprendimiento de las flores.

La inmersión del botón floral de Euforia e Invicto en etanol al 50% (v/v) durante 10 s, mostró que 40% no presentó daños visibles en el estigma. El tratamiento durante 5 s observó que 40% tuvo un daño intermedio, 20% un daño leve y 40% no

the most appropriate maturing phase for extracting seed and ensure the same quality were considered three degrees of maturity, at 30, 45 and 60 days with 8 replicates.

Seed Extraction time: immediately, the seed is removed at the time of harvest; late, the seed is removed after 14 days of harvested fruit. Extraction was performed by fruit and weighed individually; washed with sterile distilled water and allowed to dry for 14 days; stored in airtight bags. Physiological seed quality. The standard germination test was performed on germinator paper. 25 seeds were placed on paper previously wetted; spraying "captan"  $1 \text{ g L}^{-1}$ . The paper was rolled to form the "tacos" and placed in plastic bags and subsequently entered the chamber Conviron® germination at  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . The first seven days and the second at 14 days, two counts were performed.

Emasculation with 47.5% ethanol (v/v); in genotypes of pepper Euforia and Invicto for 10 s, damaged in intermediate grade 80% of the flowers. Immersion for 30 s affected 60% of the flowers with intermediate damage. Treatment of 45 s caused a severe 100% of the flowers damage. Treatment for 10 s caused more damage due to the effect of surface tension generated by the morphology of the flower bud and the exposure time by not allowing to drip the solution. Treatment of 30 s was sufficient for the solution to accumulate and fall by gravity. As for the fall of the flowers, treatments of 10 and 30 s showed 10% of detachment. 45 s treatment resulted in 100% release of the flowers.

The immersion of floral button of Euforia and Invicto in 50% ethanol (v/v) for 10 s, showed that 40% had no visible damage to the stigma. Treatment for 5 s found that 40% had an intermediate damage, 20% slight damage and 40% had no damage. This immersion time seems right for emasculación in these varieties. During the dive of 5 s in 50% ethanol (v/v) showed that 40% of the stigmata had a yellow tint, 40% one light brown colour and 20% dark brown coloration. Immersion for 10 s caused 60% take a yellow colour, light brown 20% and 20% a brown coloration. Immersion in ethanol 52% (v/v) for 5 s, Euforia and Invicto, 60% showed no visible damage of the flowers on stigma and 40% with intermediate damage. The immersion time of 10 s showed 40% of the flowers without damage, 40% intermediate and 20% damage with severe damage to the stigma.

At this concentration of 5-10 s of exposure time 20% caused severe damage. The application of 52% ethanol (v/v) for 5 s and damage caused an intermediate light brown coloration

tuvo daño. Este tiempo de inmersión pareciera adecuado para la emasculación en estas variedades. Durante la inmersión de 5 s en 50% de etanol (v/v), se observó que 40% de los estigmas presentaron una coloración amarilla, 40% una coloración café claro y 20% una coloración café oscuro. La inmersión por 10 s provocó que 60% tomara una coloración amarilla, 20% café claro y 20% una coloración café. La inmersión en etanol al 52% (v/v) durante 5 s, de Euforia e Invicto, presentaron 60% de flores sin daños visibles en el estigma y un 40% con daño intermedio. El tiempo de inmersión de 10 s mostró 40% de flores sin daño, 40% con daño intermedio y 20% con daño severo en el estigma.

A esta concentración de 5 a 10 s de tiempo de exposición ocasionó 20% de daño severo. La aplicación de etanol al 52% (v/v) durante 5 s ocasionó un daño intermedio y una coloración café claro en el estigma. De acuerdo con los resultados de la aplicación de etanol al 50 y 52% (v/v) durante los tiempos de inmersión de 5 y 10 s, muestran que el tratamiento de etanol al 50% (v/v) durante 5 s presentó mayor daño en el estigma, comparado con la inmersión en 52%. Esto creemos que se debe a la disposición de los órganos florales. En este sentido se puede señalar que cuando los estigmas tienen mayor longitud que las anteras, los daños son más severos. En pruebas de envejecimiento acelerado de semilla de híbridos de maíz Santipracha *et al.* (1997) encontraron que el tratamiento de 43 °C por 96 h provoca una disminución en el porcentaje de germinación de hasta 26.5%, en tanto que el tratamiento de 44 °C por 96 h lo reduce en 67.5%, en uno de sus híbridos. En términos fisiológicos una pequeña diferencia en concentración o temperatura puede tener efectos marcados.

El daño causado por la inmersión del botón floral en la concentración de etanol al 50% (v/v) durante 5 y 10 s, en los genotipos de chile Bell, Canon y Dársena, el tratamiento de 5 s, presentó el 48% de flores sin daño visible en el estigma. En el tratamiento durante 10 s, se observó que 68% no mostró daños visibles. El daño causado en el estigma fue más severo cuando los estambres eran más largos que el pistilo (flores brevistilas). La inmersión del botón floral de chile Bell Canon y Darsena en etanol al 52% durante 5 s, no ocasionó daño visible en 68% de las flores. El tratamiento durante 10 s, no tuvo daño visible 60% de las flores. En esta fase se observó el mayor número flores que no presentó daño en tiempos de inmersión de 5 y 10 s. El tipo de morfología floral ayuda a evitar daños en el estigma (flor longistila).

in the stigma. According to the results of the application of ethanol at 50 and 52% (v/v) for immersion times of 5 and 10 s, show that treatment of 50% ethanol (v/v) for 5 s had higher stigma damage, compared to 52% immersion. This we believe is due to the arrangement of floral organs. In this connection it may be noted that when the stigmas are longer than the anthers, the damage is more severe. In accelerated aging tests of hybrid seed maize Santipracha *et al.* (1997) found that treatment of 43 °C for 96 h causes a decrease in the percentage of germination up to 26.5%, while treatment of 44 °C for 96 h in 67.5% reduces, in one of their hybrids. Physiologically, little difference in concentration or temperature can have marked effects.

Damage caused by immersing the flower bud in the concentration of ethanol 50% (v/v) for 5 to 10 s, in genotypes of pepper Bell, Canon and Dársena, treatment of 5 s, provided 48% of the flowers without visible damage to the stigma. In the treatment for 10 s, it was observed that 68% showed no visible damage. The damage on the stigma was more severe when the stamens were longer than the pistil (short-styled of the flowers). Immersion flower bud on Bell pepper Canon and Dársena in 52% ethanol for 5 s, caused no visible damage to 68% of the flowers. Treatment for 10 s had no visible damage 60% of the flowers. At this stage the more of the flowers you did not file damage immersion times of 5 to 10 s was observed. The type of floral morphology helps prevent damage to the stigma (styled flower).

In all the treatments with ethanol 47.5% (v/v) dehiscence of anthers and pollen shedding had normal coloration. 45 s treating damage caused burns similar anthers. The method of emasculación with ethanol did not interrupt the anther dehiscence at all.

Statistical analysis of the treatments with ethanol 50% and 52 during immersion times of 5 and 10 s, detected no statistically significant differences. In the trial for pepper was observed that the successful implementation of the method of emasculación with ethanol depends on the arrangement of floral organs, which coincides with the results found in the genotypes of pepper Bell.

In the Figure 1, the percentage of aborted of the flowers was observed; this result agrees with Luna (2010) who notes that non-pollinated of the flowers emerge (Jaimez, 2010). An important factor fruit set is the position of the flowers on the plant. The FAO (2002) noted that in pepper, each plant



En todos los tratamientos con etanol al 47.5% (v/v) se observó la dehiscencia de las anteras y el desprendimiento de polen con coloración normal. El tratamiento de 45 s ocasionó daños similares a quemaduras en las anteras. El método de emasculación con etanol no interrumpió la dehiscencia de las anteras.

El análisis estadístico de los tratamientos con etanol al 50 y 52% durante los tiempos de inmersión de 5 y 10 s, no detectó diferencias estadísticas significativas. En el ensayo realizado en Chile Jalapeño se observó que el éxito de la aplicación del método de emasculación con etanol depende de la disposición de los órganos florales, lo que coincide con los resultados hallados en los genotipos de Chile Bell.

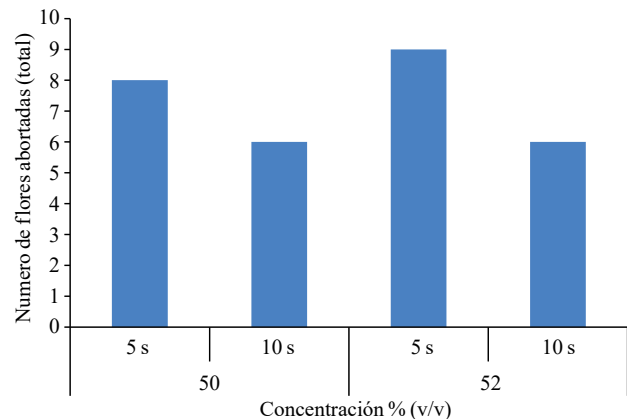
En la Figura 1 se observa el porcentaje de flores abortadas; este resultado coincide con Luna (2010) quien señala que las flores no polinizadas se desprenden (Jaimez, 2010). Un factor importante en el amarre de fruto es la posición de las flores en la planta. La FAO (2002) señala que en Chile, cada planta produce varios centenares de flores que pueden cuajar al 100% cuando es la primera etapa de floración y están sobre el tallo principal; este porcentaje baja hasta 80% para las flores posteriores del mismo tallo y reduciéndose hasta un 20-30% e incluso a 10% para las flores de las ramas laterales. El 80% de las flores amarraron con polinización manual, mientras que el tratamiento con etanol fue solo de 20%.

García (2011) trabajando con *Capsicum flexuosum* encontró que al evaluar plantas en invernadero de poblaciones diferentes, la longitud del fruto estuvo influenciada por el origen de la polinización; la mayor cantidad de frutos pequeños se encontró en la polinización al azar y la polinización manual presentó valores intermedios y mayor variabilidad.

De los tratamientos a 30, 45 y 60 días de maduración del fruto, se obtuvo que a 30 días presentó un promedio de  $5.5 \pm 0.51$  cm, a 45 días tuvo  $7.7 \pm 0.73$  cm y a 60 días el promedio fue de  $8.0 \pm 0.68$  cm. En Chile Bell, se observa que a los 45 días el fruto ya había alcanzado el diámetro del de 60 días. En el periodo de 30 a 60 días el diámetro del producto se incrementó 69%.

Con el tratamiento de etanol al 50% durante 5 s se obtuvieron 235 semillas por fruto; con 10 s de tratamiento, 304 semillas y con etanol al 52% durante 5 s se cosecharon 374 semillas; con 10 s se obtuvieron 296 semillas por fruto.

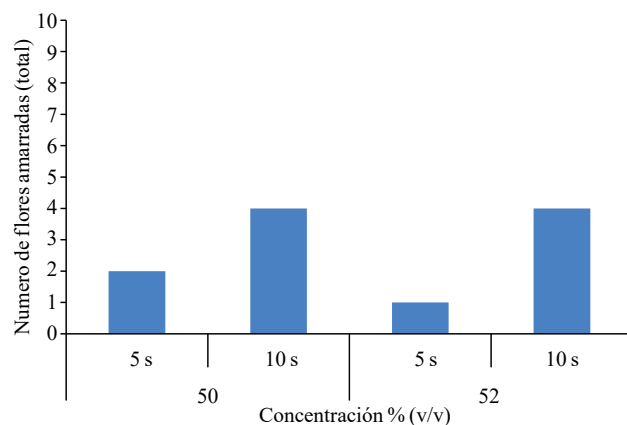
produce hundreds of the flowers that can curdle at 100% when the first stage of flowering and are on the main stem; this percentage drops to 80% for subsequent stem and of the flowers of the same reduced up to 20-30% and even 10% for of the flowers of lateral branches. 80% of the flowers tied with hand pollination, while the ethanol treatment was only 20%.



**Figura 1. Porcentaje de flores abortadas en los tratamientos con etanol al 50 y 52% durante los tiempos de inmersión de 5 y 10 s.**

**Figure 1. Percentage of aborted flowers in treatments with ethanol 50 and 52% during immersion times of 5 and 10 s.**

García (2011) working with *Capsicum flexuosum* found that in assessing greenhouse plants in different populations, fruit length was influenced by the source of pollination; as many small fruits was found in random pollination and hand pollination showed intermediate values and greater variability.



**Figura 2. Porcentaje de flores amarradas en los tratamientos de etanol al 50 y 52% durante los tiempos de inmersión de 5 y 10 s.**

**Figure 2. Percentage of the flowers treatments moored in ethanol at 50 and 52% for immersion times of 5 and 10 s.**

En el número de semillas por fruto de chile Bell, emasculado manualmente, de los tratamientos de maduración a 30, 45 y 60 días se observó que a los 60 días se obtuvo un promedio de 170 semillas, a los 45 días, 238 semillas y el de 30 días 192 semillas. En investigaciones en chile habanero (Puente *et al.*, 1991) observaron que al avanzar el estado de madurez del fruto hubo un incremento en el porcentaje de germinación. En el trabajo realizado en chile Bell (Sánchez *et al.*, 1993) reportaron que las semillas extraídas de frutos de 30 días no germinaron, mientras que el mayor porcentaje de germinación se presentó en los tratamientos de 50 y 60 días. Este resultado coincide parcialmente con Edwards *et al.* (1987) quienes evaluaron el efecto de la madurez del fruto y del tiempo de cosecha y posmaduración en la germinación de chile tabasco. Obtuvieron porcentajes de germinación de 81% al haber cosechado frutos rojos; además, el porcentaje de germinación se elevó a 86% después de un período de posmaduración.

Análisis de varianza (Cuadro 1) de las variables maduración de fruto a 30, 45 y 60 días y extracción de semilla inmediata y tardía. Hubo diferencias altamente significativas entre las épocas de cosecha para las variables de longitud de tallo y raíz. Para tiempo de extracción solo hubo diferencias significativas en la variable longitud de tallo; esto nos indica que al menos un tratamiento es diferente.

**Cuadro 1. Cuadrados medios, significancia estadística y coeficientes de variación del análisis de variancia de madurez de fruto cosechado y extracción de semilla para variables de calidad fisiológica.**

**Table 1. Mean squares, statistical significance and coefficients of variation of the analysis of variance of harvested fruit maturity and extraction of seed for physiological quality variables.**

FV	GL	Calidad fisiológica	
		Longitud de raíz	Longitud de tallo
Rep.	3	0.0423	0.0564
C	1	4.6537**	4.018 **
E	1	0.5726*	0.3648
CxE	1	0.0651	0.0106
Error	9	0.0769	0.0763
CV		41.732	44.108

FV= fuente de variación; GL= grados de libertad; Rep. Repeticiones; C= cosecha; E= extracción; CV= coeficiente de variación; \*, \*\* indican significancia estadística al nivel 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

De acuerdo con lo anterior, en la comparación de medias (Cuadro 2) se observa que el tratamiento de maduración de fruto a cosecha de 60 días fue superior al tratamiento de 45 días en las variables longitud de raíz y tallo; este resultado era esperado ya que a medida que transcurre el tiempo se incrementa la longitud de raíz y tallo porque la planta no ha llegado a madurez; los resultados de Carrillo *et al.* (2009)

Treatments at 30, 45 and 60 days of ripening obtained that 30 days showed a mean of  $5.5 \pm 0.51$  cm, 45 days had  $7.7 \pm 0.73$  cm and 60 days, the average was  $8.0 \pm 0.68$  cm. In pepper Bell, shows that after 45 days the fruit had reached the diameter of 60 days. In the period of 30-60 days, the product diameter increased 69%.

Treatment with 50% ethanol for 5 s 235 seeds were obtained per fruit; with 10 s of treatment, 304 seeds and 52% ethanol for 5 s 374 seeds were harvested; 10 s 296 seeds per fruit were obtained.

The number of seeds per fruit of pepper Bell, emasculated manually, treatments maturation at 30, 45 and 60 days was observed at 60 days an average of 170 seeds were obtained at 45 days, 238 seeds and 192 seeds 30 days. In researches on habanero pepper (Puente *et al.*, 1991) found that when advancing the status of fruit maturity there was an increase in the percentage of germination. In the work done in pepper Bell (Sánchez *et al.*, 1993) reported that, the seeds extracted from fruits of 30 days did not germinate, while the highest percentage of germination was found in the treatments of 50 and 60 days. This result overlaps with Edwards *et al.* (1987) who evaluated the effect of fruit maturity and harvest time and postmaturation germination on tabasco pepper.

Obtaining germination rates of 81% to be harvested berries; addition, the germination percentage rose to 86% after a period of after-ripening.

ANOVA (Table 1) variables fruit ripening at 30, 45 and 60 days and immediate and delayed extraction seed. There were highly significant differences between harvest times

coinciden pues mencionan que entre los factores que pueden tener efecto en la calidad de la semilla están el grado de madurez y tiempo de maduración de la misma.

**Cuadro 2. Comparación de medias del tratamiento de maduración de fruto a cosecha para variables de calidad fisiológica.**

**Table 2. Comparison of means of the treatment ripening of harvest fruits for physiological quality variables.**

Tiempo de maduración	Calidad fisiológica	
	Longitud de raíz	Longitud de tallo
60 días	1.2040 a	1.12754 a
45 días	0.1254 b	0.12532 b

Medias con la misma literal son estadísticamente iguales (Tukey  $p < 0.05$ ).

En la comparación de medias del tiempo de extracción de semilla, el tratamiento de extracción tardía fue superior en la variable de longitud de raíz; no hubo diferencias estadísticas en la variable longitud de tallo. Este resultado coincide parcialmente con Randle *et al.* (1981) quienes mencionan que la semilla de chile completa su madurez fisiológica en un período de reposo que varía de una a seis semanas después de que los frutos fueron cosechados, dependiendo del tipo de chile.

El Cuadro 3 muestra el análisis de la covarianza de la época de maduración de fruto a 30, 45 y 60 días y extracción de semilla inmediata y tardía. Hubo significancia estadística en ambas variables, lo que indica que por lo menos uno de los tratamientos es diferente.

El Cuadro 4 presenta la comparación de medias de la covarianza de la madurez de fruto cosechado y extracción de semilla. El tratamiento de 60 días en ambos tiempos de extracción fue superior al de 45 días, para ambas variables.

## Conclusiones

En la evaluación de los diferentes métodos de emasculación se encontró que la técnica de emasculación manual fue más eficiente. La interacción de la solución etanólica con el botón floral, el cual presenta diferentes posiciones en estambres y pistilos (longistilia y brevistilia), puede afectar los resultados del método químico.

La manipulación del material y la solución de etanol al realizar la emasculación química es más complicada que la emasculación manual. El tratamiento con etanol no impidió la dehiscencia de las anteras.

for the variable length of stem and root. For extraction time, it showed only significant differences in the variable length stalk; this indicates that at least one treatment is different.

According to this, the comparing means (Figure 2) shows that, the treatment of fruit maturity harvest at 60 days was higher than at 45 days in treatment variables root and stem length; This result was expected because as time passes the length of root and stem increases because the plant has not reached maturity; results agree with Carrillo *et al.* (2009), mentioning that among the factors that can have an effect on seed quality are the degree of maturity and ripening time of it.

By comparing averages of seed extraction time, extraction late treatment was higher in the root length variable; there were no statistical differences in the variable length of stem. This result overlaps with Randle *et al.* (1981) who stated that, the seed of pepper completes its physiological maturity in a rest period ranging from one to six weeks after the fruits were harvested, depending on the type of pepper.

The Table 3 shows the analysis of covariance of the ripening of fruit to 30, 45 and 60 days and extraction immediate and late seed. There were statistically significant in both variables, indicating that at least one of the treatments is different.

**Cuadro 3. Cuadrados medios, significancia estadística y coeficientes de variación del análisis de variancia de la covarianza de la madurez de fruto cosechado y extracción de semilla para variables de calidad fisiológica.**

**Table 3. Mean squares, statistical significance and coefficients of variation of the analysis of variance covariance of harvested fruit maturity and extraction of seed for physiological quality variables.**

FV	GL	Calidad fisiológica	
		Longitud de raíz	Longitud de tallo
Rep.	3	0.0423	0.0564
CoCE	3	1.7638**	1.4644**
Error	9	0.0769	0.0763
CV		41.732	44.108

FV= fuente de variación; GL= grados de libertad; Rep. repeticiones; CoCE= covarianza de cosecha y extracción; C.V.= coeficiente de variación; \*\* indica significancia estadística al nivel 0.01 de probabilidad.

The Table 4 presents the comparison of means of covariance of harvested fruit maturity and seed extraction. The treatment of 60 days in both extraction times was over 45 days, for both variables.



El estado de maduración del fruto afecta la calidad y extracción de semillas. El estadio rojo de la maduración resultó ser el mejor para asegurar la calidad de la semilla, lo mismo que el rendimiento.

## Literatura citada

- Aloni, B.; Presuman, E. and Karni, L. 1999. The effect of fruit load, defoliation and night temperature on the morphology of peppers flowers and on fruit shape. *Ann. Bot.* 83:529-534.
- Berke, G. T. 2008. Hybrid seed production en *Capsicum*. *J. New Seeds.* 1(3):256-276.
- Bosland, P. W. and Votava, E. J. 2012. Peppers: vegetable and specie capsicums. 2ª Edición. CAB International. USA. 62 p.
- Carrillo, E. P.; Mejía, C. J. A.; Carballo, C. A.; García, G.; Aguilar, R. V. H. y Corona, T. T. 2009. Calidad de semilla en colectas de chile de agua (*Capsicum annuum* L.) de los Valles Centrales de Oaxaca, México. *Agric. Téc. Méx.* 35:227-266.
- Castañeda, F. 2001. Manual técnico de hidroponía popular. INCAP, Guatemala. In: <http://www.bvssan.incap.org.gt/>.
- Chávez, A. J. 1993. Mejoramiento de plantas I. 2ª edición. Editorial Trilla, S. A. de C. V. México, D. F. 82 p.
- Edwards, R. L. and Sundstrom, F. J. 1987. After ripening and harvesting effects on Tabasco pepper seed germination performance. *HortScience.* 22:473-475.
- García, C. C. 2011. Fruit characteristics, seed production and pollen tube growth in the wild chilli pepper *Capsicum flexuosum*. *Flora- Morphology, distribution, functional ecology of plants.* 206:334-340.
- González, M. E.; Estévez, A.; Castillo, J.; Salomón, J.; More, O. y Hernández, M. M. 2002. La calidad del polen: requisito indispensable del mejoramiento tradicional de la papa en cuba. *Revista Latinoamericana de la Papa.* 13:75-94.
- Hirose, T. and Fujime, Y. 1973. Studies of chemical emasculación in pepper. III. Effect of repeated application of 2,2-dichloropropionate (dalapon) and the gametocidal action of related compounds. *Soc. Hortic. Sci.* 42:235-240.
- Jaimez, R.; Añez, B. y Espinoza, W. 2010. Desfloración: su efecto sobre el aborto de estructuras reproductivas y rendimiento en pimentón (*Capsicum annuum* L.). *Rev. Fac. Agron.* 27:418-432.
- Kato, K. 1989. Flowering and fertility of forced green peppers at lower temperatures. *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 58:113-121.
- Kivadasannavar, P. 2008. Standardization of hybrid seed production Techniques in chilli (*Capsicum annuum* L.). Tesis doctoral. University of Agricultural Sciences, India.
- Luna, R. J. 2010. Producción, conservación y evaluación de semilla de chile. Manual para productores. UAA. 41 p.
- Puente, P. C. y Bustamante, G. L. 1991. Efecto del estado de madurez y posmaduración del fruto de chile (*Capsicum annuum* L.) sobre la calidad de su semilla. Sociedad Mexicana de Ciencias Horticolas A. C. IV Congreso Nacional. Saltillo, Coahuila, México. 187 p.
- Randle, W. M. and Honma, S. 1981. Dormancy in peppers. *Scientia Horticulturae.* 14:19-25.

## Cuadro 4. Comparación de medias de la covarianza de la madurez de fruto cosechado y extracción de semilla para variables de calidad fisiológica.

**Table 4. Comparison of means of covariance of the maturity of harvested fruit and removing seed for physiological quality variables.**

CoCE	Calidad fisiológica	
	Longitud de raíz	Longitud de tallo
C1E1	1.4570 a	1.3043 a
C1E2	0.9510 a	0.9508 a
C2E1	0.2508 b	0.2505 b
C2E2	0.0000 b	0.0000 b

Medias con la misma literal son estadísticamente iguales (Tukey  $p < 0.05$ ).

## Conclusions

In the assessment on different methods of emasculación, we found that, the manual emasculación technique was more efficient. The interaction of the ethanol solution with the blossom, which presents different positions in stamens and pistils (longistilia and brevistilia) may affect the results of the chemical method.

Material handling and ethanol solution to perform chemical emasculación are more complicated than manual emasculación. Ethanol treatment did not prevent anther dehiscence whatsoever.

The ripeness of the fruit affects the quality and seed extraction. Red maturation stage was the better to ensure the quality of the seed, as well as yield.

*End of the English version*



- Sánchez, M. V.; Sundstrom, F. J.; McClure, G. N.; and Lang, N. S. 1993. Fruit maturity, storage and postharvest maturation treatments affect bell pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality. *Scientia Horticulture.* 54:191-201.
- Santipracha, W.; Santipracha, Q. and Wongvarodum, V. 1997. Hybrid corn seed quality and accelerated aging. *Seed Science Technol.* 25:203-208.
- Valadez, L. A. 2001. Producción de hortalizas. Solanáceas. 9ª (Ed.). Editorial Limusa, S. A de C. V. México. 186 p.
- Vallejo, C. F. y Estrada, S. E. 2004. Producción de hortalizas de clima cálido. 3ª (Ed.). Editorial Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 44 p.