

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



Estudio de Algunos Componentes del comportamiento
Reproductivo en Chile Jalapeño (*Capsicum annuum* L.)

Por:

AYDÉ PATRICIA BARRETO BARRETO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Buenvista, Saltillo, Coahuila, México

Abril del 2006

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

Estudio de Algunos Componentes del Comportamiento
Reproductivo en Chile Jalapeño (*Capsicum annuum* L.)

Por:

AYDÉ PATRICIA BARRETO BARRETO

Que somete a consideración el honorable Jurado Examinador
Como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

Ingeniero Agrónomo en Producción

TESIS

Aprobado por:

Dr. Gaspar Martínez Z.
Presidente del jurado

MC. Francisca Ramírez G.
Sinodal

MC. Roberto A. Dorantes G.
Sinodal

MC. Mirna Hernández Pérez
Sinodal

M.C. Arnoldo Oyervides García
Coordinador de la división de Agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Abril del 2006

Aunque el tiempo pase, los años se queden atrás y la investigación ya no sea la propia; aquí queda plasmado que un día fue una gran aportación.

A.P.Barreto.

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada quiero agradecerle a quien me dio la oportunidad de realizar uno de los objetivos mas importantes de mi vida, agradecerle a ese ser que aun cuando no es una persona físicamente es quien de alguna manera el que mueve al mundo y siempre estuvo con migo GRACIAS DIOS.

A MI UNIVERSIDAD por cobijarme durante mi formación como profesionista.

AL Dr. GASPAR MARTÍNEZ ZAMBRANO por permitirme realizar esta investigación con el.

A LETICIA PORTOS por el apoyo brindado durante los experimentos en el laboratorio.

A LA MC. FRANCISCA GODINA RAMÍREZ por ser una gran persona y por todo el apoyo en el salón de clases hasta ahora con la realización de esta investigación.

AL BIÓLOGO ARMANDO RODRÍGUEZ GARCÍA por brindarme su apoyo y amistad en tampoco tiempo de conocerlo.

AL ING. LEONARDO HERNÁNDEZ ARAGÓN por el apoyo y la confianza brinda durante mi estancia en el campo experimental de Zacatepec Mor. INIFAP.

A LA LIC. SANDRA LÓPEZ BETANCOURT por todo el apoyo que me brindo en mi estancia como estudiante.

A LA BIOL. LETICIA TAVITAS FUENTES y a todos los compañeros del campo experimental Zacatepec, Morelos por la amistad y enseñanza que me dieron.

A mis compañeros de Generación, pero en especial a los que un día fueros y seguirán siendo mis grandes AMIGOS.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Leonardo Barreto Ramírez

Saturnina Barreto Ramos

Por haberme dado la vida y unos hermanos a quienes quiero y debo muchísimo y de esta manera formar una familia maravillosa, que sin duda alguna repercutió en mi formación.

Por estar siempre conmigo, por tomarme de la mano y guiarme hasta llegar a ser lo que soy porque todo se lo debo a su ejemplo valor y tenacidad.

Por ser mis mas directos y respetables

Amigos

Pero sobre todo gracias por ser mis

Papas

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos	iv
Dedicatorias	vi
Índice de cuadros.	ix
Índice de figuras	x
Resumen	xi
INTRODUCCIÓN	1
Planteamiento del problema	2
Justificación	4
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
Hipótesis	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Clasificación Taxonómica	6
Generalidades	7
Descripción del subtipo de chile jalapeño	8
Requerimientos edafoclimaticos	9
Mejoramiento genético del chile	12
Factores limitantes	13

Incompatibilidad	16
Esterilidad citoplásmica	16
División meiótica en las plantas	17
Características de algunos fijadores y colorantes	18
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Ubicación del sitio experimental	22
Material Germoplásmico	22
Experimento 1; Viabilidad de polen	23
Experimento 2; Forma y tamaño del grano de polen	24
Experimento 3; Regularidad meiótica.	26
Diseño experimental y Análisis de datos	28
Prueba de medias	32
RESULTADOS Y DISCUSIONES	33
CONCLUSIONES	44
RECOMENDACIÓN	45
LITERATURA CITADA	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
2.1	Temperaturas optimas para la floración	10
3.1	Variedades utilizadas de chile Jalapeño	23
3.2	Análisis de Varianza indicativo para un diseño de bloques completos al azar para la variable viabilidad de polen.	29
3.3	Análisis de Varianza indicativo para un diseño de bloques completos al azar para la variable tamaño de polen.	31
4.1	Análisis de Varianza para viabilidad	32
4.2	Comparación de Medias para viabilidad de polen en las variedades de chile Jalapeño.	33
4.3	Análisis de varianza para la variable tamaño del grano de polen (diámetro)	35
4.4	Comparación de Medias para la variable tamaño del grano de polen en las variedades de chile Jalapeño.	37
4.5	Comparación de Medias de las variables viabilidad y tamaño del grano de polen.	39

ÍNDICE DE FIGURAS

figura		Pág.
4.1	Diferencias entre tamaño de grano de polen viable y no viable	42
4.2	Diferencias en forma y tamaño del grano de polen.	43

RESUMEN

El chile (*Capsicum annuum L.*) es una hortaliza de gran impacto social en la economía de Mexico, debido a la gran demanda que presenta y a que forma parte de los principales productos de exportación.

Sin embargo existen algunos factores que obstaculizan el desarrollo y rendimiento del cultivo como son la caída de flores y frutos durante los cruzamientos, probablemente se deba a los bajos porcentos de viabilidad de polen, a la forma y tamaño o a algunas irregularidades en los cromosomas. Frente a este problema mejoradores y productores se dan a la tarea de explicar las razones que den solución a dichos problemas.

Es por esto que para este trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Establecer si la caída de flores es la causa de los bajos niveles de viabilidad de polen.
- Determinar si la viabilidad del polen está relacionada con el tamaño del grano de polen y la regularidad meiótica.

La presente investigación se dividió en tres experimentos los cuales se llevaron a cabo en el laboratorio de citogenética de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Se utilizaron 5 variedades (Don Pancho, Chijal 10-19, Don Benito, Criollo Chiapas largo, y Chijal EB-13) las cuales fueron facilitadas por el campo experimental del Sur de Tamaulipas.

Para los experimentos de viabilidad, tamaño y forma del grano de polen e irregularidad meiótica se evaluaron los siguientes parámetros:

- ❖ Viabilidad del grano de polen
 - Granos Viable
 - Granos No Viables
- ❖ Forma del grano de polen
- ❖ Tamaño del grano de polen
- ❖ Irregularidades meióticas en los cromosomas

Los datos obtenidos de dichos parámetros se presentaron estadísticamente mediante un análisis de varianza y una prueba de medias, dando como resultado que la variedad Don Benito obtuvo el por ciento de viabilidad más alto (24.100/25) y que la variedad Chijal EB-13 presentó el mayor diámetro de granos de polen (32.04)

Los resultados a considerar de la dos variables evaluadas se obtuvo que la variedad Chijal EB-13 presentó un porcentaje alto de viabilidad y el mayor tamaño del grano de polen.

En el experimento de regularidad meiótica no se encontraron anomalías en la meiosis de los cromosomas en ninguno de los materiales considerados en el estudio.

De los resultados de la investigación parece señalar que en este grupo de materiales de chile jalapeño, las dificultades para obtener progenies por cruzamientos encontrados en un trabajo previo (Hernández, 2003) no se originan con problemas de viabilidad del polen, dados sus altos porcentajes y a pesar de haber diferencias entre los materiales empleados. Parece indicar también que no hay relación concluyente entre viabilidad, tamaño del grano de polen y anomalías meióticas.

Por lo anterior para explicar los problemas de la efectividad de los cruzamientos, es necesario orientar los trabajos futuros de investigación sobre los efectos ambientales y/o fisiológicos de la planta sobre los hábitos reproductivos del chile jalapeño.

En base a los resultados obtenidos se concluyó:

- Que los materiales de chile jalapeño empleados en este trabajo difieren en relación con su viabilidad y tamaño del polen.

- Que la viabilidad del polen es relativamente alta en todos los materiales (84%), como para atribuirle efectos negativos sobre la eficiencia de los cruzamientos.

- Que la correlación entre tamaño y viabilidad del grano de polen no es muy firme($r=-0.214$) como para indicar causa-efecto.

- Que la absoluta regularidad meiótica observada en todos los materiales la excluye de entre los factores que causan las diferencias en tamaño y viabilidad del polen.

RECOMENDACIONES

Dados los resultados de este trabajo, la discusión de ellos y las conclusiones obtenidas, es evidente la necesidad de reorientar futuros trabajos de investigación para explicar las dificultades observadas en el cruzamiento entre los materiales utilizados de chile jalapeño, hacia el estudio de los efectos de los componentes del manejo agronómico del material vegetativo y del ambiente (temperatura, humedad relativa, iluminación etc.) como causas de estos problemas.

INTRODUCCIÓN

México es el país donde existe la mayor diversidad genética del género *Capsicum* en todo el mundo, es por eso que se le considera el centro de origen junto con América Central; debido a esto ha resultado muy difícil hacer una buena clasificación estándar, aunque algunos autores se basan en la forma de las flores, la genética y la distribución geográfica.

Sin embargo la especie *annuum* no es la única del género *Capsicum* pues incluye más de 26 especies, solo 12 más algunas variedades son utilizadas por el hombre y de estas solo 5 han sido cultivadas:, (*Capsicum annuum*, *C. bacatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens*).

El chile es una de las hortalizas de mayor importancia económica y nutricional, debido a que es culturalmente importante, al gran consumo popular y a que forma parte de los principales productos de exportación, junto con el tomate y la papa

En México se dedican mas de 30,000 has solamente a la producción de chile jalapeño (*Capsicum annuum L.*) principalmente en la cuenca del río Papaloapan, al norte de Veracruz y en las zonas de Delicias, Chihuahua y en menor escala se cultivan en Jalisco, Nayarit, Sonora, Sinaloa y Chiapas.

Aunque el chile es casi un sinónimo de la nacionalidad mexicana y de su cocina, su producción no es no es suficiente, ya que ocupa el segundo lugar en la producción de chile a nivel mundial, seguido de china.

El chile (*Capsicum annuum L.*) tiene un gran impacto social en la economía del país por ser un generador de fuentes de empleo ya que requiere de 130 a 150 jornales por hectárea en un ciclo agrícola. Estos se ocupan desde la siembra en almácigo hasta la cosecha.

Planteamiento del problema

Uno de los principales problemas con que se encuentra el mejorador durante los cruzamientos es la caída de flores a los pocos días de ser polinizadas, la caída de frutos antes de llegar a la madurez y el número de semillas viables por fruto; esto se ha observado con mayor o menor intensidad en los diferentes tipos de chile mas importantes en México como el Serrano, Jalapeño, Ancho y Guajillo; debido a que no existe el suficiente conocimiento que trate de explicar las razones que den solución a los problemas propios de cada tipo racial.

De acuerdo con Acosta (2003) las posibilidades de éxito para producir chile de buena calidad aumentan con la selección de la variedad apropiada y el uso de semilla certificada; asimismo, se requiere de un buen manejo de cultivo.

Esto hace que la formación de nuevas variedades mediante el mejoramiento genético sea una tarea difícil y que los precios de semillas de variedades mejoradas sean muy altos (alrededor de \$25,000.00 la libra).

Andrade (2003) Y Hernández (2003) aportan información a nivel de técnicas de cruzamiento, citando que la caída de flores puede ser por anomalías florales, por las altas temperaturas o por falta de agua aunque cabe aclarar que podría deberse a la esterilidad e incompatibilidad.

En un trabajo con chile Serrano, Andrade (2003) menciona que las técnicas de manejo de polen durante la polinización y las técnicas de cubrimiento de la flor polinizada no tuvieron ningún efecto sobre los índices de eficiencia basados en números de flores amarradas, frutos cosechados, semillas por fruto y semillas totales.

Hernández (2003) Estudió diversas técnicas de polinización de chile jalapeño y encontró que la integración de polen conservado a bajas temperatura aplicados con portaobjetos resulto ser mas eficiente ya que se redujo significativamente el numero de flores caídas.

Justificación

Dada la falta de investigación sobre mejoramiento genético en Chile, de cualquier tipo racial, es evidente la necesidad de información que permita resolver el problema que enfrentan los cruzamientos desde el punto de vista de fertilidad, mediante pruebas de viabilidad de polen y relacionarlo con la regularidad meiótica que pueda presentar el Chile Jalapeño, para lograr tener buen amarre de frutos que se vea reflejado en el rendimiento.

Además es necesario mayor investigación para contribuir a que exista una mayor fuente de información que sirva como base para la solución de nuevos problemas.

Por lo anterior, se planteó la presente investigación para estudiar algunos componentes del proceso reproductivo en Chile Jalapeño, con los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Encontrar las causas que dificultan el amarre de flores y frutos en un grupo de líneas de Chile Jalapeño, durante los cruzamientos y su relación con las características físicas y anatómicas del polen, propias del tipo racial.

Objetivos específicos

- Establecer si la caída de flores es causa de los bajos niveles de viabilidad y tamaño del grano de polen.

- Determinar si la viabilidad de polen está relacionada con la regularidad meiótica.

Hipótesis

- La diversidad de forma y tamaño del grano de polen dificulta el amarre de frutos.
- La regularidad meiótica es uno de los factores principales de la caída de flores
- La viabilidad del polen esta relacionado con el tamaño del grano de polen.

REVISIÓN DE LITERATURA

Clasificación taxonómica del chile Según Janick (1965) la relación filogenética de *Capsicum annum L.* es la siguiente:

Reino -----vegetal

División -----Tracheophyta

Subdivisión-----Pteropsida

Clase -----Angiospermae

Subclase -----Dicotiledónea

Orden-----Solanaceales

Familia -----Solanacea

Genero -----Capsicum

Especie-----annuum

Nombre común: Chile Jalapeño.

Generalidades

Morato (1983) menciona que el chile Jalapeño es una planta anual herbácea, con sistema radicular pivotante provisto y reforzado de un número elevado de raíces adventicias. Tallo de crecimiento limitado y erecto, con un porte que en término medio puede variar entre 0.5 – 1.5 m. Cuando la planta adquiere una cierta edad los tallos se lignifican ligeramente hojas lampiñas o pubescentes, enteras, ovales o lanceoladas con un ápice muy pronunciado (acuminado) y un pecíolo largo o poco aparente. Las flores poseen la corola blanquecina, aparecen solitarias en cada nudo y son de inserción axilar. Su fecundación es claramente autógena, no superando el porcentaje de alogamia del 10 por ciento. El fruto es una baya semicartilaginosa y deprimida de color rojo cuando esta maduro que se puede insertar pendularmente, de forma y tamaño muy variable. Las semillas, redondeadas y ligeramente reniformes, suelen tener 3-5 mm. de longitud; se insertan sobre una placenta cónica de disposición central, y son de un color amarillo pálido. En un gramo pueden contener entre 150 y 200 semillas y su poder germinativo dura de tres a cuatro años.

Cárdenas (1987) menciona que es una planta de ciclo intermedio con floración a los 50 días después del transplante. Su maduración para el consumo en verde es de 100 a 120 días. La Producción se obtiene regularmente en dos cortes.

Descripción del subtipo de chile jalapeño

Por las características del fruto, habito de crecimiento se han agrupado 4 subtipos de chile (Pozo, 1981):

- ❖ **Jalapeño típico:** Se le conoce también como chile rayado, acorchado o gordo, tiene plantas compactas de aproximadamente 65 cm, de altura que producen frutos cónicos de forma cilíndrica que mide de 4 a 8 cm, de largo y de 3 a 6 cm, de ancho. Este chile tiene una gran aceptación para la industria de enlatado.

- ❖ **Jalapeño peludo:** Se le conoce también como candelaria o cuaresmeño, tiene una planta de porte alto, de 1.0 a 1.5 m de altura. La planta es de crecimiento tardío y de producción escalonada. Se obtienen de 5 a 6 cosechas bajo siembra de temporal. Este subtipo es susceptible a los excesos de humedad. El fruto es de forma alargada y cuerpo angular, mide de 6 a 9 cm. de largo y de 3 a 4 cm. de ancho. Otra característica del fruto es que posee un pericarpio grueso. En la zona productora de Veracruz la cosecha se realiza principalmente en los meses de mayo y junio. Los productos de este subtipo se destinan para consumo en fresco.

- ❖ **Jalapeño espinalteco:** Este subtipo posee plantas de tipo intermedio, de 70 a 80 cm., de altura. Es precoz y produce solamente 2 cosechas al año. Los frutos son alargados, delgados y con un ápice puntiagudo con una longitud de 6 a 9 cm. y un ancho de 2.5 a 3 cm. El pericarpio es delgado, menores de 0.4 cm.
- ❖ **Jalapeño morita:** Llamado también bolita, tiene plantas de 70 cm de altura. Este tipo posee el fruto de menor aceptación comercial.

Requerimientos edafoclimáticos

El manejo racional de los factores climáticos de forma conjunta es fundamental para el funcionamiento adecuado del cultivo, ya que todos se encuentran estrechamente relacionados y la actuación sobre uno de estos incide sobre el resto (Guenko, 1983)

Para que se produzca un buen crecimiento y desarrollo del cultivo, se requiere de condiciones climáticas favorables

El cultivo del chile es exigente en temperatura (más que el tomate y menos que la berenjena).

Serrano (1978) menciona que las temperaturas óptimas para la floración son las siguientes y se presentan en el cuadro 2.1

Cuadro 2.1 Temperaturas optimas para la floración

TEMPERATURA	
Mínima	18 a 25 ° C
Óptima	25° C
Máxima	35° C

A temperaturas mayores de 35°C , en las especies de frutos pequeños el pistilo crece más grande que los estambres antes de que abran las anteras provocando la polinización cruzada (Valdez, 1989), causando comúnmente caída de flores y aborción de semilla por fruto debido a las fallas en la polinización (Karni y Aloni, 2002)

Además de esto, se requiere de cierta madurez de la planta que en *C .annuum L* se da con la presencia mínima de 8-12 hojas verdaderas.

Los saltos térmicos (diferencia de temperatura entre la máxima diurna y la mínima nocturna) ocasionan desequilibrios vegetativos.

La coincidencia de bajas temperaturas durante el desarrollo del botón floral (entre 15 y 10°C) da lugar a la formación de flores con alguna de las siguientes anomalías: pétalos curvados y sin desarrollar, formación de múltiples ovarios que pueden evolucionar frutos distribuidos alrededor del principal, acortamiento de estambres y de pistilo, engrosamiento de ovario y

pistilo, fusión de anteras, etc. Las bajas temperaturas también inducen la formación de frutos de menor tamaño, que pueden presentar deformaciones, reducen la viabilidad del polen y favorecen la formación de frutos partenocárpicos.

La humedad relativa óptima oscila entre el 50% y el 70%. Humedades relativas muy elevadas favorecen el desarrollo de enfermedades aéreas y dificultan la fecundación. La coincidencia de altas temperaturas y baja humedad relativa puede ocasionar la caída de flores y de frutos recién cuajados (Acosta, 1992).

El chile es una planta muy exigente en luminosidad, sobre todo en los primeros estados de desarrollo y durante la floración, ya que la baja luminosidad incrementa la abscisión floral y afectan la tasa fotosintética, la partición de asimilados y el metabolismo de la azúcar en los tejidos de la fuente (Aloni, 1996).

Los suelos más adecuados para el cultivo del pimiento son los arenosos - limosos profundos, ricos y con un contenido en materia orgánica del 3-4% y principalmente bien drenados (Serrano, 1978).

Castaño (1993) menciona que los valores de pH óptimos oscilan entre 6.5 y 7 aunque puede resistir ciertas condiciones de acidez (hasta un pH de

5.5); en suelos enarenados puede cultivarse con valores de pH próximos a 8. En cuanto al agua de riego el pH óptimo es de 5,5 a 7.

Es una especie de moderada tolerancia a la salinidad tanto del suelo como del agua de riego, aunque en menor medida que el tomate (Villalpando *et al* 1991)

Es muy importante conocer y considerar el pH del suelo porque indica los rangos para el buen uso y asimilación de los fertilizantes y especialmente cuando sean de origen nitrogenado.

Mejoramiento genético del chile

El mejoramiento genético es el arte, la ciencia que se encarga de mejorar el genotipo de las plantas en relación a su utilización económica (1957)

De acuerdo con Pozo (1983) la investigación del chile en México se inició en la Oficina de Estudios Especiales y en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, dependencias que formaron el INIA con su fusión, las cuales trabajaron en prácticas de cultivo, protección fitosanitaria y realizaron las primeras colectas de los tipos ancho, mulato, pasilla y jalapeño que fueron las bases de los programas de mejoramiento genético nacional.

Existen diversos métodos de mejoramiento para hacer producir cultivos, este dependerá del tipo de variedad que se utiliza y el objetivo del mejoramiento.

El uso de nuevas estrategias de mejoramiento han sido exploradas en el mejoramiento de gran variedades de especies, tales como el maíz, trigo, haba, triticale y alfalfa con resultados alentadores; lo que deja de manifiesto la necesidad de diseñar estrategias no convencionales de mejoramiento genético de Chile (Robledo, 2005).

Por otra parte Pozo y Ramírez (2004) refieren que existen ciertos grados de dificultad entre las razas o tipos de chiles para realizar cruzamientos siendo el tipo jalapeño el que presenta mayor dificultad, probablemente por su gran diversidad germoplasmica y su poco mejoramiento.

Bosland (1996). menciona que las hibridaciones se realizan por lo general dentro una especie pero se han hecho cruces inter específica, sobre todo en *C. annuum* por *C. chinense* satisfactoriamente.

Sin embargo existen diversos factores que obstaculizan o hacen más difícil el proceso de cruzamiento.

Factores limitantes en los cruzamientos

- Cantidad y calidad del polen:

Estos son componentes importantes para el prendimiento y adaptación de las cruzas pues la calidad se compara con frecuencia con la viabilidad y la cantidad con el número de granos que produce una flor.

- Porcentaje de viabilidad:

Es el número de granos viables que tiene una flor el cual puede ser fuertemente influenciado por las condiciones ambientales, ya que puede disminuir considerablemente el por ciento de viabilidad ocasionando fallas en el cruzamiento. Smith (1957) dice que la muerte o la baja viabilidad del polen son inútiles para la polinización en masa.

- Germinación del tubo polínico:

Bajo condiciones de estrés la actividad de invertasa del polen varia y produce cambios que afectan la germinación del tubo polínico.

Andrade (2003) menciona que existen otros factores externos como:

- Altas temperaturas que ocasionan aborción de botones florales, anormalidades florales.
- Exceso de agua en la planta ocasionando ruptura de los granos de polen
- Fallas en la polinización (técnica empleada)

Uno de los problemas es el efecto directo del ambiente, o estrés abiótico, temperatura, humedad y luz; así como la regulación hormonal pueden afectar la cantidad y calidad del polen producido y su desempeño durante la polinización y la fecundación (Kelly y Kálisz, 2002).

González, *et al.* (2002) menciona que el éxito de las hibridaciones dependen de la capacidad del polen para germinar la cual cambia por efectos de la temperatura del ambiente del cultivo pues las altas temperaturas inhiben el desarrollo del polen reduciendo el porcentaje de germinación; así como altas concentraciones de CO₂ la incrementa, posiblemente por sus efectos sobre la utilización de la sacarosa, ya que la presencia de azúcar es esencial para crear condiciones osmóticas favorables para la germinación y crecimiento del tubo polínico (Karni y Aloni, 2002)

Es por esto que mejoradores y productores tienen interés en las condiciones que presentan el estado de viabilidad del polen de sus cultivos ya que pueden ser fuertemente influenciados por el ambiente y esto se ve reflejado en la productividad del cultivo y la efectividad del trabajo de cruzamientos del mejorador (Pline, *et al.* , 2002)

Incompatibilidad y esterilidad

La eficiencia que tienen las plantas para alcanzar con éxito la fecundación, en la mayoría de las veces es relativamente baja; esto ocasiona serios problemas que pueden ser por varios factores como la incompatibilidad y esterilidad.

Las plantas tienen mecanismos fisiológicos que impiden la polinización ínter específica, uno de estos mecanismos se basa en la reacción de incompatibilidad entre el polen y el pistilo, de este modo logran diferenciar entre el polen propio y el foráneo. La barrera genética a la autofertilización corresponde a la autoincompatibilidad, ella específicamente interrumpe la vía del desarrollo del polen propio en el pistilo, lo que dificulta los cruzamientos entre poblaciones de la misma especie (Pickergill *et al.*1979).

En muchas familias (como las crucíferas y las solanáceas) la autoincompatibilidad es controlada solo en un locus. La respuesta de autoincompatibilidad es regulada durante el desarrollo de la flor y es funcional frecuentemente 1 a 2 días previos a la antesis. (Peñalosa, 2001)

Esterilidad citoplásmica.

La esterilidad masculina se caracteriza por la inhabilidad de una planta para producir polen viable. El fenotipo de esterilidad masculina es heredado como un carácter mendeliano o citoplásmico. El citoplasma con esterilidad

masculina ha tenido gran interés por su utilidad en la producción de semilla híbrida en cultivos de maíz, sorgo y girasol (Hahn y Friedt, 1994).

Existen evidencias de que la esterilidad masculina (CMS) se codifica por genes mitocondriales y se controla por genes nucleares dominantes restauradores de la fertilidad (Hanson, 1991; Horn *et al.* 1993).

Indudablemente las condiciones ambientales son el factor limitante para el desarrollo de todo cultivo ya que al no tener un control adecuado del ambiente en el que se desarrollara trae como consecuencia un sinnúmero de problemas afectando el rendimiento del cultivo

Burkey, *et al.*, (2004) mencionan que los rendimientos promedios en condiciones desfavorables son de tres a siete veces mas bajos que el máximo potencial, debido a que los efectos del ambiente están relacionados con el comportamiento reproductivo ya que detienen la germinación del polen, el desarrollo del tubo polínico y la fertilización .

División meiótica en las plantas

La meiosis es la división celular por la cual se obtiene células hijas con la mitad de los juegos cromosómicos que tiene la célula madre, pero que cuentan con información completa para todos los rasgos estructurales y funcionales del organismo al que pertenecen. Los microsporocitos en

desarrollo son células en las que se puede encontrar la división meiótica. En ocasiones es difícil seleccionar yemas florales en estado apropiado de desarrollo, donde pueda observarse la meiosis. Las inflorescencias que presentan yema florales en maduración escalonada son muy convenientes, porque en tales estructuras es relativamente fácil eliminar las yemas demasiado jóvenes o demasiado adultas (García, 1990).

En algunas plantas la actividad meiótica se realiza únicamente durante ciertas horas del día o de la noche. Esto puede confirmarse cuando se muestrea, ya que se encontrará que la meiosis es prematura o tardía uniformemente, para lo cual se requiere de pruebas de fijación a distintas horas, con el fin de lograr gran actividad meiótica (Curtís, 1981).

Hay que considerar que algunos factores ambientales, como la temperatura y humedad, influyen gradualmente en la madurez de las flores (González, 1990)

Características y usos de algunos fijadores y colorantes

Una de las operaciones más críticas en el procesamiento de tejidos es la muerte del citoplasma.

Las principales funciones que tienen los distintos líquidos fijadores utilizados, son las de matar y fijar a los tejidos; o sea detener el proceso de

vida sin que se distorsionen dichos tejidos, además de hacerlos lo suficientemente firmes para su manejo necesario (Hernández 1990).

Los líquidos fijadores pueden ser agrupados con los ingredientes usados. Algunas fórmulas son estables y pueden ser conservadas como soluciones “stock”. La longitud de tiempo necesario para la muerte y endurecimiento del material varía y es determinado por el carácter del líquido usado, el volumen de la pieza individual y la resistencia del material a la penetración del reactivo.

Los fijadores Carnoy y Farmer tienen limitado uso en histología, debido a su habilidad para penetrar rápidamente, estos fijadores tienen valor para procesar estructuras rápidamente resinosas o impermeables. (Hernández 1990).

Estos fijadores producen una imagen de fijación ácida, manteniendo particularmente bien a los cromosomas, nucleolo y mecanismos del huso. Para la fijación por calor, este debe matar las células microbianas por desnaturalización de sus proteínas. Las proteínas coaguladas unen las células al portaobjetos. Cuando se desea fijar especímenes delicados se utiliza la fijación química, ya que es menos lesiva que el calor. Para ello se añade una gota del fijador, por ejemplo, ácido ósmico, formaldehído, o glutaraldehído, sobre la muestra líquida con los microorganismos (Curtis, 1981)

La fijación posee algunos inconvenientes. Por ejemplo, a menudo distorsiona la apariencia real de las células, lo cual dificulta la identificación; además, no permite la observación del movimiento de los microorganismos (García, 1990)

Los colorantes son compuestos químicos utilizados para aumentar el contraste. Existen algunos, llamados colorantes vitales, que pueden añadirse directamente a una preparación en fresco; por tanto, colorean células vivas. No obstante, la mayoría de los colorantes son solamente efectivos después de que los microorganismos hayan sido fijados, es decir, se encuentren muertos y adheridos al portaobjetos.

En cualquiera de estas circunstancias las técnicas de la calidad del polen usualmente se mide o se estudian mediante:

Tinciones morfológicas, en el que se utilizan algunos colorantes para determinar el numero de granos viables; germinación *in Vitro*, y germinación *in Vivo*; estas ultimas las han considerado pruebas mas confiables para determinar la viabilidad de granos de polen. Teniendo en cuenta que la viabilidad de polen se define más por la elongación del tubo polínico y no tanto por el grado de tinción que presente un grano de polen (Ospina y Ligarrato, 1999).

Considerando que la producción de polen no es el factor limitante, existen diferentes razones que explican esta situación. En ocasiones, a pesar de la ocurrencia de la polinización, la fecundación no puede llevarse a cabo. Otras veces, la fecundación ocurre normalmente pero el embrión aborta en forma precoz.

La mayoría de los granos de polen germinan en soluciones azucaradas y se ha llegado a la conclusión de que el uso de la solución de sacarosa brinda una mejor información acerca de la viabilidad del polen que otros métodos. Sin embargo, la germinación no satisfactoria del polen *in Vitro* es un factor que obstaculiza las investigaciones (Roberts et.al., 1989) A si mismo Shivanna y Rangawamy (1992) aseguran que no existe un método de viabilidad de polen Universal que sea rápido, simple y confiable.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento

La presente investigación se dividió en tres experimentos que se llevaron a cabo en el invernadero y laboratorio de citogenética del departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) que se localiza en la ex hacienda de Buenavista a 7 Kilómetros de la ciudad de Saltillo, la cual está ubicada en la región sur del Estado de Coahuila y geográficamente se encuentra situada a 25° 22" latitud norte y una longitud Oeste de 101° 00"; la altitud es de 1743 msnm, con una temperatura media anual de 19.8° C.

Material Biológico

Para la elaboración de los experimentos se utilizaron semillas de líneas de Chile Jalapeño (Cuadro 3.1), las cuales fueron donadas por el campo experimental del Sur de Tamaulipas (CESTAM), perteneciente al Instituto Nacional de Investigación Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

Cuadro 3.1 Variedades utilizadas de chile Jalapeño.

NUMERO	VARIEDAD	TIPO DE CHILE
1	Don Pancho	Jalapeño
2	Chijal 10-19	Jalapeño
3	Don Benito	Jalapeño
4	Criollo Chiapas L.	Jalapeño Rayado
5	Chijal EB-13	Jalapeño Espinalteco

Establecimiento y manejo del material biológico.

La semilla se sembró en charolas de unicel, dándole los cuidados necesarios para lograr que estos llegaran a estado de plántula y de esta manera ser transplantados en las camas de invernaderos en una distribución de tres surcos por cada línea y tres plantas por cada surco.

Experimento 1. Viabilidad de polen

En el primer experimento el trabajo consistió en la caracterización de las líneas mediante pruebas de viabilidad de polen. Para esta, se tomaron 10 flores apunto de abrir en cajas petri con papel filtro mojado de cada una de las líneas para obtener las muestras de polen. La colecta de las flores se realizo durante las primeras horas de la mañana, para evitar que las flores abrieran y tiraran el polen. En este experimento las líneas son los

tratamientos, la flor el número de repetición y las anteras los campos de observación.

Para las pruebas de viabilidad, las flores se llevaron a laboratorio donde cada una de las flores (repeticiones) se tomaron dos anteras y se observaron dos campos de 25 granos de polen cada uno.

El procedimiento fue el siguiente:

Se tomó una flor para quitarle las anteras, estas se colocaron en un portaobjeto, se le agregó una gota de colorante carmín y con una aguja curva se rompió la envoltura de la antera y con presión de la misma aguja y macerando un poco la antera (método de squach o aplastado) se extraen los granos de polen y se eliminaron los residuos de la antera. Se observaron en el microscopio con el objetivo de 40X los granos viables y los no viables.

Los datos evaluados fueron: Viabilidad del polen, su porcentaje, considerando al polen teñido como viable.

Experimento 2. Tamaño del grano de polen.

En el segundo experimento se hizo el estudio del tamaño del grano de polen, el cual se realizó siguiendo los pasos del primer experimento, solo que

en este caso se midió el diámetro del grano de polen y por cada campo se tomaron 10 observaciones.

Para medir el grano de polen se calibró el micrómetro, para esto se colocó el micrómetro de ocular en el ocular de medición. Para ello se desenroscó la parte inferior del ocular y después de colocar la plaquita del micrómetro (con la división hacia arriba), volvió a colocar la parte inferior. Se insertó el ocular y se enfocó la lente superior de manera que el ojo perciba con máxima nitidez la graduación.

Se colocó el micrómetro de objeto (2mm) sobre la platina del microscopio y se enfocó con respecto a la división del micrómetro. Así aparecieron igualmente nítidas ambas escalas, y girando el ocular, se dispusieron exactamente paralelos haciendo coincidir cero y cero.

Se procedió a comprobar qué número de trazos en el microscopio del ocular (100 trazos) corresponde a qué longitud en el microscopio de objeto, tomando el punto en que coincidieron exactamente las dos escalas y con ello, se determinó la longitud que equivale a un trazo de graduación en el micrómetro del ocular.

El valor micrométrico se obtuvo dividiendo el valor de la escala del micrómetro de objeto, en micras, entre el valor que corresponde a la escala

del ocular. Este valor es válido únicamente para el objetivo con el cual se ha efectuado el contrastado.

$$\text{Obj } 40 X = \frac{0.01}{4\text{trazos}} * 1000 = 2.5 \mu$$

Multiplicar el valor micrométrico por el número de trazos en el ocular de medición que cubre una distancia en el objeto, para calcular esta en el plano del objeto.

V. micrométrico (obj. 40X) x Numero trazos

$$2.5\mu \times 13 = 32.5\mu$$

Esta observación se realizó en cada uno de los objetivos;(10X, 40X y 100X) para checar si la calibración era la correcta. La célula tenía que medir lo mismo con los tres objetivos.

Teniendo calibrado el microscopio se decide cual de los objetivos utilizar y se procede a medir el tamaño del grano de polen. Para este experimento se utilizó el objetivo de 40X.

Los datos evaluados fueron: Tamaño (diámetro) del grano de polen en micras.

Experimento 3. Estudio meiótico

En el tercer experimento el trabajo consistió en el estudio de la regularidad meiótica en el cual se tomaron de cada una de las líneas 10 botones florales en inicio de desarrollo. Después de colectadas las flores, se metieron en fijador con el fin de matar instantáneamente el tejido y así fijar las diversas fases de la división celular sin que se deterioren dichos tejidos, además de hacerlo lo suficientemente firmes para su manejo, el fijador más común es el Farmer a una concentración de 3:1 de etanol y ácido acético. (Tres partes de alcohol etílico y una de ácido acético) ahí permanecieron 24 horas.

Una vez pasada las 24 horas se tomó uno de los botones florales y se colocó en una caja petri y se hidrató con agua destilada y se procedió a realizar los pasos del experimento uno.

En este caso se extrajeron los microsporocitos individuales en lugar de los granos de polen.

Teniendo lista la preparación se calentó en una lámpara de alcohol y se presionó suavemente sin movimientos laterales sobre un papel filtro.

Si al observar la preparación al microscopio el aplastado de las células no fue suficiente y los microsporocitos estaban sobrecolorados, se agregó

una gota de ácido propiónico por los bordes del cubreobjeto y se volvió a presionar y se selló la preparación en forma temporal.

Los datos a evaluados fueron: Regularidad meiótica, su porcentaje, considerando el número de microsporocitos con meiosis normal en relación con el total observado.

Diseño experimental y análisis de datos.

Experimento 1. Viabilidad del polen.

Los datos se analizaron en un diseño experimental en bloques al azar con el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + \varphi_i + \sigma_j + (\varphi\sigma)_{ij} + \tau_k + (\varphi\tau)_{ik} + (\sigma\tau)_{jk} - \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = Viabilidad del polen medido en repetición (campos medidos) i , de la flor k en la variedad j

φ_i = Efecto de la repetición i

σ_j = Efecto de la variedad j

$(\varphi\sigma)_{ij}$ = Efecto conjunto de la repetición i con la variedad j

τ_k = Efecto de la flor k

$(\varphi\tau)_{ik}$ = Efecto conjunto de la repetición i , con la flor k .

$(\sigma\tau)_{jk}$ = Efecto conjunto de la variedad j, con la flor k

ε_{ijkl} = el efecto de las variables no consideradas por el modelo o error experimental.

El análisis de varianza indicativo se muestra en el Cuadro 3.2

Cuadro 3.2 Análisis de varianza indicativo para un diseño de bloques completos al azar.

FUENTE	GL	SC
<i>Rep</i>	$r - 1$	$SCr = \frac{\gamma_{i..}^2}{vf} - FC$
<i>Var</i>	$v - 1$	$SCv = \frac{\gamma_{.j.}^2}{rf} - FC$
<i>RxV</i>	$(r - 1)(v - 1)$	$SCrv = \frac{\gamma_{ij.}^2}{f} - SCr - SCv + FVC$
<i>flor</i>	$f - 1$	$SCf = \frac{\gamma_{..k}^2}{rv} - FC$
<i>Re pxFlor</i>	$(r - 1)(f - 1)$	$SCrf = \frac{\gamma_{i.k}^2}{v} - SCr - SCv + FC$
<i>VarxFlor</i>	$(v - 1)(f - 1)$	$SCvf = \frac{\gamma_{.jk}^2}{r} - SCv - SCf + FC$
<i>Error</i>	$(r - 1)(v - 1)(f - 1)$	La diferencia del total menos el total de las variable.
<i>Total</i>	$rvf - 1$	$SCt = \gamma_{ijk}^2 - FC$

Experimento 2. Tamaño del grano de polen

Los datos del tamaño de polen se analizaron en un diseño experimental en bloques al azar, con arreglo factorial considerando dos repeticiones, cinco variedades, diez flores por variedad y diez conteos por flor, con el siguiente modelo.

$$Y_{ijklm} = \mu + \varphi_i + \sigma_j + (\varphi\sigma)_{ij} + \tau_k + (\varphi\tau)_{ik} + (\sigma\tau)_{jk} + \lambda_l + (\varphi\lambda)_{il} + (\sigma\lambda)_{jl} + (\tau\lambda)_{kl} - \varepsilon_{ijklm}$$

Donde:

Y_{ijklm} = Viabilidad del polen medido en repetición (campos medidos) i ,

de la flor k en la variedad j

φ_i = Efecto de la repetición i

σ_j = Efecto de la variedad j

$(\varphi\sigma)_{ij}$ = Efecto conjunto de la repetición i con la variedad j

τ_k = Efecto de la flor k

$(\varphi\tau)_{ik}$ = Efecto conjunto de la repetición i , con la flor k .

$(\sigma\tau)_{jk}$ = Efecto conjunto de la variedad j , con la flor

λ_l = Efecto del conteo l

$(\varphi\lambda)_{il}$ = Efecto conjunto de la repetición i , con el conteo l

$(\sigma\lambda)_{jl}$ = Efecto conjunto de la variedad j , con el conteo l

$(\tau\lambda)_{kl}$ = Efecto conjunto de la flor k , con el conteo l

ε_{ijklm} = Error Experimental

El análisis de varianza indicativo para tamaño del grano de polen se muestra en el Cuadro 3.3

Cuadro 3.3 Análisis de varianza indicativo para un diseño de bloques completos al azar.

FUENTE	GL	SC
<i>Rep</i>	$r-1$	$SCr = \frac{\gamma_{i...}^2}{vfc} - FC$
<i>Var</i>	$v-1$	$SCv = \frac{\gamma_{.j..}^2}{rfc} - FC$
<i>RxV</i>	$(r-1)(v-1)$	$SCrv = \frac{\gamma_{ij..}^2}{fc} - SCr - SCv + FC$
<i>flor</i>	$f-1$	$SCf = \frac{\gamma_{..k.}^2}{rvc} - FC$
<i>Re pxFlor</i>	$(r-1)(f-1)$	$SCrf = \frac{\gamma_{i.k.}^2}{vc} - SCr - SCv + FC$
<i>VarxFlor</i>	$(v-1)(f-1)$	$SCvf = \frac{\gamma_{.jk.}^2}{rc} - SCv - SCf + FC$
<i>Conteos</i>	$c-1$	$SCc = \frac{\gamma_{...l}}{rvf} - FC$
<i>Re pxCon</i>	$(r-1)(c-1)$	$SCrc = \frac{\gamma_{i..l}^2}{vf} - SCr - SCv + Fc$
<i>VarxCon</i>	$(v-1)(c-1)$	$SCvc = \frac{\gamma_{.j.l}^2}{rf} - SCv - SCc + FC$
<i>FlorxCon</i>	$(f-1)(c-1)$	$SCfc = \frac{\gamma_{..kl}^2}{rv} - SCf - SCc + FC$
<i>Error</i>	$(r-1)(v-1)(f-1)$	La diferencia de la SCt menos SCc de las otras variables
<i>Total</i>	$rvc - 1$	$SCt = \gamma_{ijk}^2 - FC$

Prueba de medias:

Se realizó una prueba de medias para cada variable, mediante la diferencia mínima significativa (DMS) al 0.05 de probabilidad. Tanto el análisis de varianza como la prueba de medias se realizó con el programa del SAS (1995).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En el presente capítulo se muestran los resultados obtenidos durante los experimentos, los cuales se evaluaron mediante un análisis de varianza y una prueba de medias para cada una de las variables.

Cabe señalar que el experimento de regularidad meiótica no se obtuvieron datos que mostraran la existencia de anomalías en los cromosomas para ninguna de las variedades de chile jalapeño; de haberse presentado se identificarían en el anafase 1 de la meiosis. Es por esto que para dicho experimento no se reportaron resultados.

Resultados del experimento viabilidad de polen

El análisis de varianza para la variable viabilidad, se muestra en el cuadro 4.1, el cual indica que para las fuentes de variación Var, Var x Flor y Flor se observaron diferencias significativas ($0.05 > p > 0.01$), no así para las variables de Rep, Var x Rep y Rep x Flor que resultaron no significativas. Esto indicó que variedades y flores difieren en viabilidad del grano de polen y que esta diferencia observada entre flores, depende de la variedad.

Cuadro.4.1 Análisis de Varianza Para la Variable Viabilidad.

FV	GL	SC	CM	
REP	1	134.560	134.560	NS
VAR	4	1464.640	366.160	**
REP x VAR	4	117.440	29.360	NS
FLOR	9	1361.440	151.271	*
REP x FLOR	9	363.040	40.338	NS
VAR x FLOR	36	5840.960	162.249	**
ERROR	36	2336.960	64.916	
TOTAL	99	726.190		

CV = 8.9%

NS= No significativa; *, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad

Pozo (1984) señala que el germoplasma de chiles en México ha recibido poco beneficio de los programas de mejoramiento y probablemente sea la causa de las dificultades para la obtención de progenies de cruzamientos, especialmente en chile jalapeño (Hernández, 2003), tipo racial en el cual se distinguen una gran diversidad de subtipos.

Para la variable flor se encontraron menores diferencias, debido, probablemente a que la madurez de las anteras no fue la misma. Cada flor proporciono diferentes cantidades de granos de polen, probablemente con diferentes grados de desarrollo.

El resultado de las pruebas de medias es presentado en el Cuadro 4.2 el cual muestra la comparación de medias para la variable viabilidad de polen, con un valor critico de la diferencia minima significativa(DMS) de 5.5

La prueba de medias separó las variedades en tres grupos o categorías estadísticas en funcion de la magnitud de sus promedios de viabilidad.

Las mejores variedades fueron Don Benito (96.4%) y chijal EB13 (91.8%) pertenecientes al grupo 1; La variedad Chijal EB-13 (91.8%), Chijal 10-19 (89.6%) y Criollo Chiapas Largo (89.4%) presentan traslape con el grupo 1 y 3, ambas y esta ultima variedad junto con la variedad Don Pancho pertenece al grupo 3.

Cuadro 4.2 Comparación entre Medias para la Variable Viabilidad de Polen en las variedades de chile jalapeño

Variedad	Viabilidad		
3. Don Benito	96.4	a	
5. Chijal EB-13	91.8	a	b
2. Chijal 10-19	89.6		b
4. Criollo Chiapas L.	89.4	b	c
1. Don Pancho	84.6		c
DMS _(0.05)	5.2		

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales al 0.05 de probabilidad.

Experimento 2. Tamaño (Diámetro) del grano de polen

En el cuadro 4.3 se muestra el análisis de varianza para la variable tamaño del grano de polen el cual se realizó midiendo el diámetro en micras() en el que se muestra que para las variables Rep, Rep x Var, Rep x Flor, Rep x Con y Flor x Con no se encontraron diferencias significativas; en cambio las variables de Var, Flor, Var x Flor y Con presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0.01$) y para la interacción de Var x Con se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$)

Lo anterior indica que el tamaño del polen difiere significativamente entre variedades, probablemente, debido a sus características particulares. Las diferencias entre flores puede explicarse por diferencia en el desarrollo floral o al origen varietal.

Un reanálisis de los datos, anidando flores dentro de variedades (datos no mostrados) confirman que las diferencias entre flores se explica por su procedencia varietal.

Sus diferencias en conteos es posible explicarlos con el mismo razonamiento ya que los conteos significan granos de polen por flor y tienen efectos relacionados con la procedencia varietal de las flores e incluso con el desarrollo particular de las flores entre y dentro de variedades.

Cuadro 4.3 Análisis de Varianza para la Variable Tamaño del grano de polen (Diámetro)

FV	GL	SC	CM	
Rep	1	0.211	0.211	NS
Var	4	3416.207	854.051	**
Rep x Var	4	43.959	10.989	NS
Flor	9	722.330	80.258	**
Rep x Flor	9	162.451	18.050	NS
Var x Flor	36	4171.431	115.873	**
Conteo	9	268.028	29.780	**
Rep x Cont	9	132.882	14.764	NS
Var x Cont	36	621.478	17.263	*
Flor x Cont	81	613.365	7.572	NS
Error	801	9716.974	12.131	
Total	999	19869.320		

CV = 11.71%

NS = No significativa; *, ** = Significativo al 0.05 y 0.01 de probabilidad

La prueba de medias se presenta en el Cuadro 4.4, con una DMS de 0.68.

Cuadro 4.4 Comparación de Medias para la variable tamaño del grano de polen de las variedades de chile jalapeño.

Variedad	Diámetro μ	
5. Chijal EB-13	32.408	a
4. Criollo Chiapas L.	30.969	b
1. Don Pancho	29.929	c
2. Chijal 10-19	27.850	d
3. Don Benito	27.539	d
DMS _(0.05)	0.683	

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales al 0.05 de probabilidad

En dicho cuadro, se observan cuatro grupos bien definidos, en el primer grupo se encuentra la variedad Chijal EB-13 siendo esta la mejor de todas las variedades evaluadas ya que presentó el mejor tamaño de granos de polen (32.04)seguido por la variedad Criollo Chiapas Largo (30.969) la cual forma el segundo grupo. El grupo tres lo forma la variedad Don pancho (29.929) y el último grupo lo conforman las variedades Chijal 10-19 (27.850) y la variedad don benito siendo esta última la que presentó el menor tamaño de grano de polen (27.539), a pesar de ser una variedad mejorada de reciente liberación (Pozo y Ramírez, 1998)

En el cuadro 4.5 se presentan las medias de las variables viabilidad y tamaño del grano de polen proporcionando una visión conjunta del comportamiento de dichas variables. De este cuadro se puede observar que la variedad Don Benito presenta el mayor porcentaje de viabilidad, sin embargo también presenta el menor tamaño de los granos de polen.

Se puede deducir que la mejor variedad es Chijal EB-13 ya que presentó un porcentaje alto de viabilidad y el mejor tamaño de grano de polen.

Las variedades criollo Chiapas largo, Don Pancho y Chijal 10-19 presentan un mayor por ciento de variabilidad en tamaño del grano de polen y por ciento de viabilidad.

Cuadro 4.5 Comparación entre medias de las variables viabilidad y tamaño del grano de polen.

VARIEDAD	orden	Viabilidad %	orden	Diámetro \bar{X}
1. Don Pancho	5	96.4	3	29.928
2. Chijal 10-19	3	91.8	4	27.850
3. Don Benito	1	89.6	5	27.538
4. Criollo Chapas L.	4	89.4	2	30.968
5. Chijal EB- 13	2	84.6	1	32.407
DMS _(0.05)		5.2		0.683

En un estudio realizado sobre la relación entre el tamaño del polen y la viabilidad en *Mimulus guttatus* (Sropholariaceae), (Kelly *et al.* 2002) se menciona que la variación en el tamaño del grano de polen puede ser un indicador de las diferencias de viabilidad, Esta variación probablemente afecta la capacidad de reserva de asimilados del grano de polen.

De esto se deduce que probablemente donde exista una menor viabilidad y menor tamaño, existe una disminución en los carbohidratos los cuales afectan la germinación del tubo polínico.

Durante el experimento se localizaron granos de polen viables y no viables, observando que estos últimos tienen menor tamaño que los viables.



Figura 4.1 Diferencias entre tamaño del grano de polen viable y no viable

Esto se respalda con la investigación realizada por Kelly *et al.* (2002) en el que menciona que el diámetro promedio de los granos viables es aproximadamente $13\mu\text{m}$ más grande que el diámetro promedio de los granos no viables de *mimulus guttatus*

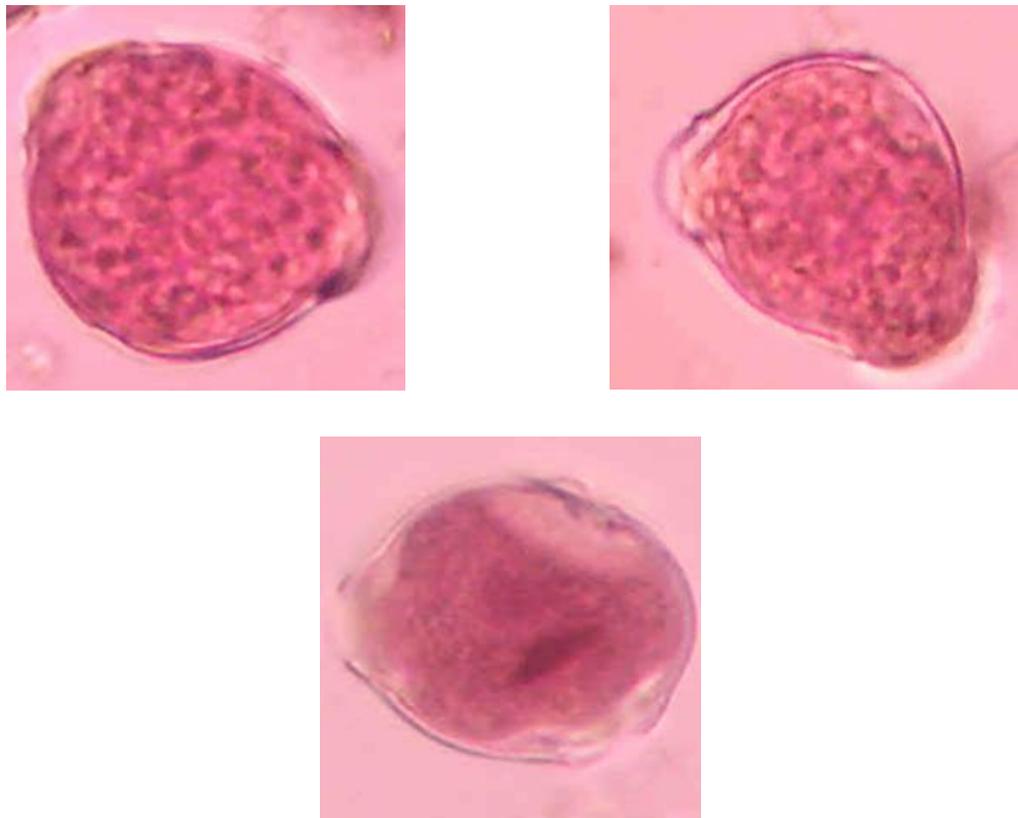


Figura tomada en un objetivo de 40 x

Figura 4.2 diferencia en forma y tamaño del grano de polen

En la figura 4.2 se muestra la diversidad de tamaño del grano de polen, de lo se deduce que dicho tamaño se basa en la forma que presenten.

Un análisis de correlación considerando 100 datos de las dos variables, tamaño y viabilidad arrojó un coeficiente de correlación de $r = -0.24$ ($p < 0.05$) establecieron que a mayor diámetro, menor viabilidad, contrariando los resultados de Nelly *et al.* (2000). Sin embargo estos resultados a pesar de ser significativos, pueden ser no muy concluyentes dado que el valor del coeficiente es relativamente bajo para el número de observaciones empleados (Little y Hills, 1976).

CONCLUSIONES

- Que los materiales de chile jalapeño empleados en este trabajo difieren en relación con su viabilidad y tamaño del polen.
- Que la viabilidad del polen es relativamente alta en todos los materiales (84%), como para atribuirle efectos negativos sobre la eficiencia de los cruzamientos.
- Que la correlación entre tamaño y viabilidad del grano de polen no es muy firme($r=-0.214$) como para indicar causa-efecto.
- Que la absoluta regularidad meiótica observada en todos los materiales la excluye de entre los factores que causan las diferencias en tamaño y viabilidad del polen.

RECOMENDACIONES

Dados los resultados de este trabajo, la discusión de ellos y las conclusiones obtenidas, es evidente la necesidad de reorientar futuros trabajos de investigación para explicar las dificultades observadas en el cruzamiento entre los materiales utilizados de chile jalapeño, hacia el estudio de los efectos de los componentes del manejo agronómico del material vegetativo y del ambiente (temperatura, humedad relativa, iluminación etc.) como causas de estos problemas

LITERATURA CITADA

- Acosta R. G. F. y Luján F.M. 2003 Selección de genotipos de chile de árbol y cayenne en el Edo. De chihuahua
- Acosta R. G. 1992. Madurez del fruto a cosecha y tiempo de extracción en la calidad de semillas de chile jalapeño(*Capsicum annuum L*) Tesis UAAAN. Buenavista Saltillo Coahuila Mexico.
- Alón, B. E. Presuman and L. Karni 1999 The effect to fruti load, defoliation and nigh temperature and the morphology of pepper flowers and on fruit shape. Ann. Bot. 83:529 – 534.
- Aloni. B. L. Karni, Z. Zaidmon and A. A. Scheffer 1996 Change of carbohydrate in pepper (*Capsicum annuum L.*) flowers under different shading regimes. Annals of Botany 78: 163-168.
- Andrade 2003 Técnicas de cruzamiento y polinización en chile serrano (*Capsicum annuum L.*) Buenavista Saltillo Coahuila. UAAAN.
- Bosland P. WW: 1996. *Capsicum*: Innovative uses o fan anciet crop. IN. J. Janick (ed). Progress in Neww Crops. ASHS Press. Arlington, V.A.pp 479- 487.
- Burke, J. J., J. Velten and M. J. Oliver. 2004 In vitro analysis of cotton pollen germination Agron. J. 96:359-368
- Cáceres E. 1984 Producción de Hortalizas. Tercera edición, primera reimpresión ED. Lica San José Costa Rica.
- Cárdenas CH. I. E. y Chan C .J .L. 1987. Fecha y método de siembra y protección contra el frío en almácigos de chile Jalapeño. Campo Agrícola experimental S.L.P. CIANOC – INIA – SARH San Luis Potosí.
- Castaños C. M., 1993. Horticultura: Manejo simplificado Colección fénix Universidad Autónoma Chapingo México.

- Curtís, P. 1981. Manual para laboratorio de preparaciones cromosómicas en plantas. Chapingo. México. UACH. 58 pgs.
- García V. A. 1990 Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. Tercera Ed. Editorial Colegio de Posgraduados Montecillos. Edo. De México. México 144pgs.
- González M. A., A. Estévez, G. Verde, O. More y J Castillo 2002 Métodos para la determinación de la calidad del polen en especies de papa.
- Guenkov, G. 1983 Fundamentos de la horticultura Cubana. Ed. Pueblo y Educación. L. Habana-Cuba. Pps 144-146.
- Hahn, V. and W. Fried. 1994. Molecular analysis of the CMS- inducing Max 1 cytoplasm in sunflower. Theor. Appl. Genet. 89:379-385.
- Hanson, M. R. 1991 Plant mitochondrial mutations and male sterility annual. Rev. Genet 25:461-489.
- Hernández R. J. J. 2003 Técnicas de cruzamiento y polinización en chile Jalapeño (*Capsicum annuum L.*) Buenavista Saltillo Coahuila. UAAAN.
- Janick, J. 1965. Horticultura Científica e Industrial. Ed. Acriba. Zaragoza. España.
- Karni, L. And B. Aloni. 2002 Fructokinase and hexocainase from pollen grain of bell pepper (*Capsicum annuum L.*) Possible in pollen germination under conditions of high temperature and CO₂ enrichment Ann. Bot. 90: 607 – 612.
- Kelly J. K., A. Rasch and S. Kalisz (2002). A method to estimate pollen viability from pollen size variation Am. J. Bot. 89: 1021-1023
- Little, T. M. y F. J. Hills. (1976) Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Ed. Trillas. México 270 p.
- Maldonado U. 2005 Mejoramiento Genético de Cultivos de arroz Japónica. Campo Experimental Zacatepec Mor. INIFAP
- Marcelis, L. F. M. and L. R. B. Hofman – Eijer. Effects of seed number on competition and dominance among fruits in *Capsicum annuum L.* Ann. Bot. 79:687-693.
- Marcelis L. M. E. Heuvelink, L.R.Baan hofman_Eijer and L.B. Xve 2004. flower and fruit abortion in sweet pepper in relation to source and sink strength journal of Exp. Botany 55:2261-2268.

- Morato B. J. V. 1983. Horticultura herbácea especial Ediciones mundi prensa. Madrid España.
- Ospina M. C. y Ligarreto G.A.M.1999 Evaluación de la viabilidad de polen y determinación de índices de cruzabilidad en papa *Solanum tuberosum* ssp *andígena* por resistencia a *Phytophthora infestan* recursos genéticos y biotecnología vegetal Corpoica A:A.
- Peñalosa A. C. P. 2001 Semillas de hortalizas. Manual de Producción Ediciones Universitarias de Valparaíso de la Universidad Católica de Valparaíso.
- Pickergill. B., C.B. Heiser and J. MCNEILL. 1979. Numerical Taxonomic studies on variation and domestication in some species of Capsicum. 679-700. In Hawkes J.,G., R.N. Lester and A.D. Selding (ed) The biology and taxonomy of the solanaceae. Academia Press.N.Y.
- Pozo C. O. 1983 Logros y Aportaciones de la Investigación agrícola en el cultivo del chile. SHAR. INIA México. 5-18.
- Pozo C. O. 1981. Descripción de tipos y cultivares de chile (*Capsicum annuum*) en México. Folleto Tecnico No. 77 SARH, INIA. 40p.
- Pline, A. W., K. L. Edmisten T. Oliver, J. W. Wilcut, R. Wells and N. S. Allen. (2002). Use al digital image analysis to estimate conventional and glyphosate – resistant cotton pollen viability. Crop sa: 42 : 2193 a 2200
- Roberts, N. L., T.C. Gaude .G Ardo and H.G. Dickinson 1983. Pollen stigma interaccion sin Brassica oleareacea, a new pollen germination médium and its use in elucidating the mechanism of self incompatibility Theor. Appl. Genet 65:231-238.
- Robledo G. E. I. 2005 Potencial genético de cruza Inter.- raciales en el mejoramiento genético de Chile (*Capsicum annuum* L.) Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Buenavista Saltillo Coahuila.
- Serrano, C. Z. 1978 Tomate, pimienta y Berenjena en Invernadero. Colección Agrícola Practica No. 27. Publicaciones de extensión Agrícola, Madrid España.
- Shivanna K. R. and N.S. Rangaswamy 1992 Pollen Biology A Laboratory Manual Apringer Verlag, Berlina Heidelberg p 119.

- Smith G. A. y B. H. 1957. Taxonomy of capsicum sinense J. And the geographie distribution of the cultivated spp Boll of the torrey., Botanical club vol. 84. No 6.
- Tuinstra, M. R. and J. Wedel. 2000. Estimation of pollen viability, in grain sorghum Crop sci: 4:968- 970
- Valdez L. A. 1989. Producción de hortalizas Primera Ed. Editorial Limusa, México.
- Villalpando J. F, del Real L. I y Ruiz C. J. A. 1991 Temperaturas y fonología Agro climatología.