

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NAARO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**



**Estudio de Algunos Componentes del Comportamiento  
Reproductivo en Chile Ancho (*Capsicum annum*).**

**Por:**

**ZAIRA HILIANA ESPARZA ZAVALA**

**TESIS**

**Presentada como Requisito parcial para  
Obtener el Título de:**

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.  
Marzo de 2006**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISION DE AGRONOMIA**

**Estudio de Algunos Componentes del Comportamiento  
Reproductivo en Chile Ancho (Capsicum annum).**

**Por**

**ZAIRA HILIANA ESPARZA ZAVALA**

**Que se somete a consideración del Honorable Jurado Examinador  
como requisito parcial para obtener el Título de:**

**INGENIERO AGRONOMO EN PRODUCCION**

**TESIS**

**APROBADA POR:**

---

**Dr. Gaspar Martínez Z.  
Presidente**

---

**M. C. Francisca Ramírez G.  
Sinodal**

---

**M. C. Roberto A. Dorantes G. Sinodal**

---

**M. C. Mirna Hdz. Perez  
Sinodal**

**El Coordinador de la División de Agronomía**

---

**M.C. Arnoldo Oyervides García**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila México  
Marzo de 2006**

## AGRADECIMIENTOS

*Primeramente a DIOS y a la VIRGEN DE GUADALUPE. Por permitirme la vida y darme la oportunidad de lograr una carrera, por darme paciencia y además fortaleza para no derrotarme ante los fuertes problemas de las materias, gracias por darme una familia maravillosa que me apoyó en todos los momentos difíciles. “A San Francisco de Asis y a San Juditas Tadeo”. Gracias.*

*A mi “ALMA TERRA MATER” querida, por haberme dado la oportunidad de superarme dentro de sus aulas y día a día aprender algo para ser alguien mejor en mi familia y en la sociedad.*

*AL Dr. GASPAR MARTINEZ ZAMBRANO. Gracias por haberme dado la oportunidad de realizar el presente trabajo de investigación, también por haberme brindado su confianza y amistad, por haber sido mi maestro dentro de las aulas y por ser un gran investigador.*

*A LA M.C. FRANCISCA RAMIREZ GODINA. A ella muchas gracias por haber demostrado ser una buena maestra y amiga además por su colaboración en el trabajo de investigación.*

*AL M.C. ROBERTO DORANTES GONZÁLEZ. Para el mis mas sinceros agradecimientos ya que fue de mucha importancia su apoyo, por su amistad y confianza otorgada.*

*A LA M.C. MIRNA HERNÁNDEZ PEREZ. Por su confianza depositada, amistad, consejos que en ocasiones me gane y por su apoyo para empezar a realizar el trabajo en el laboratorio.*

*A LA T. A. NORMA LETICIA PORTO. Gracias por su valiosa colaboración en el presente trabajo de investigación además por su amistad brindada así como por sus consejos y su apoyo incondicional que me ofreció.*

*A LA LIC. SANDRA LÓPEZ BETANCOURT. Muchas gracias por lo bien que se porto en el tiempo que la conozco que es desde que entre a la “Narro” e infinitas gracias por la confianza que me otorgo.*

*A TODOS LOS MAESTROS. Arnoldo Oyervides, Juan Manuel Burciaga, Victor Manuel Villanueva, Armando Rodríguez y Alfredo Gaitan*

*A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS de la generación “C” en especial a todos ellos, Angélica García Cruz (mi comadre), Hayde Patricia Barreto B. (patito), Olga Lilia Hernández Mtz. (olquiuis), Alberto Zenón Peña Datoli (peña y pulpo), Rigoberto Sánchez Martínez (rigo), Fernando Josué pliego Hdz. (ranita), Miguel Antonio Sandoval García (miguelito),*

*A MI AMIGA DEISY ADALY HERNÁNDEZ MARTÍNEZ. Gracias por tu amistad incondicional por aguantarme y por convivir conmigo en la etapa universitaria.*

*A LA FAMILIA HERNÁNDEZ LAGUNA. Por todo el apoyo que me brindaron en el tiempo en que realice mi viaje de estancia en Villa, Corzo, Chiapas. Por su hospitalidad, por sus consejos, por todo el cariño que me brindaron y por su amabilidad gracias.*

## DEDICATORIA

*A mis papas*

*Manuel Esparza Jiménez (†)*

*Y*

*Sanjuana Zavala Hernández*

*A mis queridos papas primeramente por darme la dicha tan grande de ser su hija gracias por todos sus buenos consejos que supieron guiarme por el camino del bien, por brindarme su apoyo en los momentos difíciles de la vida, por darme fortaleza y aunque hubieron dificultades durante mi formación supieron afrontarlas, por su apoyo moral y económico, gracias por ser los mejores padres del mundo y además por darme una bella familia.*

*Papito aunque ya no estés físicamente tu presencia siempre estará conmigo.*

*“El triunfo de tener una carrera universitaria es para ustedes queridos padres”.*

*A mis hermanos*

*Manuel Alejandro Esparza Zavala*

*Maria de los Ángeles Esparza Zavala*

*José Antonio Esparza Zavala*

*Javil Uriel Esparza Zavala*

*A ustedes hermanitos gracias por sus consejos, por apoyarme en todos los momentos de mi vida tanto moral como económicamente, hermanitos también quiero agradecerles su paciencia con que ustedes me han tratado y por todos los momentos felices que hemos pasado juntos y por ser unos hermanos excepcionales gracias.*

*A mis primas*

*Bexaida Italibi Oviedo Esparza*

*Haydeé Esparza Sandoval*

*Mayra Aracely Zavala Rodríguez*

*Maria Magdalena Zavala Rodríguez*

*A ustedes que las quiero como mis hermanas gracias por toda su amistad, comprensión y cariño por sus consejos gracias por su apoyo incondicional y por todos los momentos hermosos de diversión.*

*A mis tíos*

*Paula Esparza y Catarino Alvarado*

*Zeferino Esparza Jiménez*

*A ellos gracias por todos sus consejos por su apoyo infinito moral como económicamente gracias por confiar en mi.*

*A mi novio*

*Aimer Hernández Laguna*

*Gracias por toda tu ternura, amor y cariño por todo tu apoyo incondicional y sobre todo por estar a mi lado en los momentos difíciles. Amorcito gracias por ser como eres “un súper novio”.*

## RESUMEN

La riqueza genética del chile en México se debe en gran parte a la diversidad de climas y suelos, pero también a las prácticas tradicionales de cultivo que llevan a cabo los pequeños productores utilizando las semillas de los frutos seleccionados de las plantas nativas.

Uno de los problemas a que se enfrenta el mejorador durante los cruzamientos en el mejoramiento genético es la caída de flores, la caída de frutos y el número de semillas que contiene cada fruto, en lo que respecta al cruzamiento específicamente el problema que se plantea principalmente es el que se relaciona con el manejo del polen, manejo de la flor hembra y otros problemas como la incompatibilidad y la esterilidad del grano de polen.

Esto se ha observado con mayor o menor intensidad en los diferentes tipos raciales más importantes en México de acuerdo con el orden de estudio que son, Serrano, Ancho, Jalapeño y guajillo.

El presente trabajo de investigación se realizó en la UAAAN, Buenavista, Saltillo Coahuila, México durante el año 2005 bajo condiciones de invernadero.

Se evaluaron 5 líneas experimentales de Chile Ancho (AP 96 – 6, AP 97 – 24), Ancho Saltillo 79 – 4, Carmín 6 – 1 y AM 97 – 47), en tres experimentos;  
Experimento 1. Caracterización de las líneas por viabilidad del polen.  
Experimento 2. Estudio de la forma y tamaño del grano de polen.

### Experimento 3. Estudio meiótico.

Todos los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Citogenética de la misma universidad, Estos experimentos se analizaron con el programa estadístico del SAS en un diseño de bloque completos al azar.

En el experimento 1. La variedad Ancho saltillo 79 – 4 fue la que presentó mayor viabilidad del grano de polen ya que de acuerdo al análisis estadístico de las pruebas de medias esta se presentó en el primer grupo estadístico seguida por las variedades, AP 96 – 6, AM 97 – 47 y Carmín 6 – 1, como segundo grupo estadístico, las dos primeras variedades mencionadas presentaron un traslape en su clasificación, por ultimo la que presento menor viabilidad.

En el experimento 2. La variedad AP 96 – 6 fue la que presentó un mayor diámetro del grano del grano de polen, seguida por las variedades AP 97 – 24 y Ancho Saltillo 79 – 4, la primera de ellas se traslapó con la variedad AP 96 – 6, y por ultimo las variedades AM 97 – 47 y Carmín 6 – 1 estas dos variedades son las que presentaron un menor diámetro del grano del polen.

De los resultados de este trabajo puede establecerse que los problemas de caída de flores y frutos poco después de la polinización natural o manual durante el proceso de cruzamientos puede tener su origen en otras



causas diferentes a la viabilidad del polen, el tamaño del polen o irregularidad meiótica durante la microsporogénesis. La diferencias observadas de casi 20% en la viabilidad del polen entre los materiales utilizados en este trabajo, pueden considerarse muy altas, pero no lo suficiente como para considerarse una limitante seria, dada la cantidad de polen que produce un flor. También queda claro que el tamaño del grano de polen es una característica distintiva de los materiales usados en este trabajo, y no parece ser la causa de los niveles de viabilidad del polen y probablemente tenga su origen en las condiciones de manejo del cultivo, como estrés por temperaturas altas y deficiencia de agua, entre otros.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	<b>PÁG</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	iii
<b>DEDICATORIA</b>	v
<b>RESUMEN</b>	vii
<b>INDICE DE CONTENIDO</b>	x
<b>INDICE DE CUADROS</b>	xi
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	xi
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
Importancia del cultivo de Chile Ancho	3
Planteamiento del problema	4
Justificación	4
Objetivo Generales	5
Objetivos específicos	5
Hipótesis	5
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	6
Importancia del mejoramiento genético en México	6
Clasificación taxonómica	9
Requerimientos climáticos y edáficos	10
Polinización	11
Esterilidad y fertilidad del polen	13
Fecundación	14
Germinación del grano de polen	14
Viabilidad del grano de polen	16
Longevidad del polen	18
Factores limitantes de la polinización	18
<b>MATERIALES Y METODOS</b>	22
Localización del sitio experimental	22
Material genético	23
Establecimiento y manejo del material vegetal	23
Experimento 1. Viabilidad del grano de polen	24
Experimento 2. Tamaño del grano de polen	29
Experimento 3. Estudio meiótico	35
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	36
Experimento 1. Caracterización de las líneas para la viabilidad del polen	36
Experimento 2. Tamaño del grano de polen	39
Experimento 3. Estudio meiótico	42
<b>CONCLUSIONES</b>	44
<b>RECOMENDACION</b>	45
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	46

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
3.1	Lineas de chile Ancho ( <i>Capsicum annuum</i> )	23
3.2	Concentración de datos de viabilidad (viable/total) de polen para las cinco variedades de Chile Ancho	26
3.3	Análisis de varianza indicativo para un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial según el experimento 1.	28
3.4	Análisis de varianza indicativo para un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial según el experimento 2.	34
4.1	Análisis de varianza para viabilidad del polen en cinco líneas de chile Ancho	36
4.2	Comparación de media de viabilidad con cinco variedades de chile Ancho	38
4.3	Análisis de varianza para diámetro del grano de polen en cinco líneas de chile Ancho	40
4.4	Comparación de medias para variedades por el método de Diferencias Mínimas Significativas (DMS)	41
4.5	Medias de viabilidad y diámetro del grano de polen en cinco variedades de chile Ancho	42

## INDICE DE FIGURAS

figura		página
3.1	Grano de polen viable (1) y no viable (2) 10x (100 aumentos)	25
3.2	Tamaño del grano de polen 40x (400 aumentos)	32

## INTRODUCCIÓN

El chile es una especie autógama, monoica, de flores completas y perfectas cuya estructura floral facilita el trabajo básico de emasculación y polinización en un programa de mejoramiento genético; sin embargo, es común que se tenga una baja eficiencia en el proceso de cruzamiento, probablemente debido a la corta vida del polen, vulnerabilidad del estigma y estilo al manejo durante la polinización, entre otros factores; sin embargo prácticamente no existe información publicada sobre técnicas y métodos que ayuden a mejorar la eficiencia de los programas de mejoramiento, en el proceso de cruzamiento.

Todos los chiles son del género *Capsicum* de la familia de las Solanáceas. Los estudios taxonómicos coinciden en que son cinco las especies cultivadas: *Capsicum baccatum*, *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. frutescens* y *C. annuum*, de las cuales, ésta última es la más importante. *C. annuum* agrupa la mayor diversidad de chiles, ya sean cultivados o silvestres. Entre los más populares destacan el guajillo o mirasol, el piquín, el de árbol, el serrano, el jalapeño, el poblano, y el chilaca, de los cuales los tres últimos, una vez secados, se denominan chipotle, ancho o mulato y pasilla, respectivamente. El cultivo de *C. annuum* se adapta a los diversos climas y tipos de suelo del país, en altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 2500 m.

Las variedades mejoradas tienen, desde el punto de vista comercial, varias ventajas, ya que las plantas fructifican a una edad más temprana que las plantas criollas, dan rendimientos más altos por hectárea ya que las variedades mejoradas son más densas en rendimiento. Los productos generalmente tienen características más uniformes en cuanto a tamaño, color, etc. lo cual resulta muy atractivo para el mercado, de modo que los agricultores terminan cambiando sus cultivos de variedades criollas por las variedades mejoradas.

Generalmente los chiles silvestres son los que poseen genes capaces de resistir enfermedades causadas por virus y hongos, ya que han sobrevivido durante mucho tiempo a diversas condiciones ambientales desfavorables. La riqueza genética del chile en México se debe en gran parte a la diversidad de climas y suelos, pero también a las prácticas tradicionales de cultivo que llevan a cabo los pequeños productores utilizando las semillas de los frutos seleccionados de las plantas nativas. Por eso es importante que los agricultores sigan cultivando ese germoplasma que ellos mismos guardan y no introducir variedades exóticas.

A pesar de ser un producto tradicional y culturalmente importante en nuestro país, el chile no ha sido muy estudiado en México.

México es el país del mundo con la mayor variabilidad genética de *Capsicum*, pero curiosamente no es el productor más importante. En un estudio realizado por la F.A.O. las estadísticas de producción de 2002 ubican a México en el segundo lugar de producción después de china

## **Importancia**

El éxito del chile radica en que es un cultivo con tres nichos de mercado: Fresco, Procesado y Condimento o especia.

Fresco o seco, el chile se consume de muy diversas maneras; el fresco generalmente como verdura o condimento; el seco ancho, mulato, mirasol y pasilla principalmente, se destina a la industria artesanal del mole. Actualmente también se usa para extraer un pigmento rojo que se emplea para colorear embutidos, como chorizo y salami, y en la industria avícola se mezcla con los alimentos balanceados para producir huevos con yema de color más rojizo, e incluso en la elaboración de cosméticos.

En México es una hortaliza que se produce en casi todo el país, en los dos ciclos agrícolas, y forma parte del grupo de los principales productos hortofrutícolas exportados. El 80 % de la producción nacional se consume internamente. Dentro de los productos hortícolas nacionales, el chile es el tercer cultivo más importante, precedido únicamente por el tomate y la papa.

México produce 25 millones de toneladas anuales de frutas y hortalizas de clima templado, subtropical y tropical, equivalentes al 2% de la producción mundial de dichos productos, además de que se utilizan cerca de 7,000 ha para la producción de plantas ornamentales

El cultivo del chile ha alcanzado el máximo incremento en la última década. Actualmente se estima que en México se cultivan anualmente unas 83,000 has, distribuidas por su importancia en Sinaloa, sur de Tamaulipas, San Luis Potosí, parte central de Veracruz, Aguascalientes, Guanajuato y Nayarit.

## **Planteamiento del problema**

Uno de los problemas a que se enfrenta el mejorador durante los cruzamientos en el mejoramiento genético es la caída de flores, la caída de frutos y el número de semillas que contiene cada fruto, en lo que respecta al cruzamiento específicamente el problema que se plantea principalmente es el que se relaciona con el manejo del polen, manejo de la flor hembra y otros problemas como la incompatibilidad y la esterilidad del grano de polen.

Esto se ha observado con mayor o menor intensidad en los diferentes tipos raciales más importantes en México de acuerdo con el orden de estudio que son, Serrano, Ancho, Jalapeño y guajillo.

## **Justificación**

El trabajo sobre mejoramiento genético de chile ha sido poco estudiado en México, por lo que aun no se ha logrado entender la problemática para el cruzamiento en polinización directa, natural o artificial, lo que es muy importante ya que el mejoramiento genético de plantas conlleva a mayores rendimientos y producción.

## **Objetivo general**

Por lo anteriormente planteado, el objetivo de este trabajo es encontrar las causas de la dificultad para la obtención de cruzas en el tipo racial de chile Ancho; investigar si estas causas se relacionan con características fisiológicas, anatómicas o de otra naturaleza propia del tipo racial.

## **Objetivo específicos**

- ❖ Identificar si la caída de las flores tiene como causa bajos niveles de viabilidad del polen.
- ❖ Si así fuera, determinar si la viabilidad del polen está relacionada con el tamaño del polen y/o la regularidad meiótica durante la microsporogenesis.

## **Hipótesis**

- ❖ Que el problema del amarre de flores y la caída frutos este relacionado con la viabilidad del polen.
- ❖ Que el diámetro del grano de polen esté relacionado con la viabilidad.
- ❖ Que el tamaño del polen y la viabilidad se relacionan con anomalías meióticas de la microsporogenesis.



## REVISION DE LITERATURA

### Importancia del mejoramiento genético en México

En el mejoramiento genético de chile (*Capsicum annum* L) juega un importante papel a conjugar por la vía sexual el patrimonio genómico de dos o más padres; esto es, mediante cruzamiento, con el propósito de combinar en la progenie los alelos no comunes en los progenitores, ampliar la variabilidad y mejorar la posibilidad de seleccionar plantas sobresalientes durante el proceso de endocría y selección.

México es el país que presenta la mayor variabilidad de formas cultivadas y silvestres, la cual se encuentra ampliamente distribuida en todo el país. Esta diversidad ha sido descrita con base en la clasificación comercial de los frutos, realizada dentro de diversos tipos de chile (Muñoz y Pinto, 1966; Pozo, 1981; Laborde y Pozo, 1984 y Pozo, *et al.* 1991).

La investigación en el cultivo del chile en México se inició en la oficina de Estudios Especiales y en el Instituto de Investigación Agrícola, las dependencias que formaron hace años el INIA, las cuales trabajaron en prácticas de cultivo y protección fitosanitaria; y realizaron las primeras colectas de chile tipo ancho, mulato, pasilla y jalapeño, que fueron la base del mejoramiento genético (pozo, 1983).

México es considerado uno de los principales centros de origen del chile, dada la gran diversidad de tipos de chile cultivados y silvestres que hay en el país, en una amplia gama chiles que va desde muy picantes hasta las variedades dulces con una distribución desde el nivel del mar hasta los 2500 msnm (Laborde y Pozo, 1984).

El porcentaje de frutos obtenidos varía según la técnica utilizada. Por ejemplo, sin emasculación se obtiene de 32 a 54.6%; con emasculación y sin polinización artificial, de 10.5 a 15%, y con emasculación y polinización artificial, de 23 a 55.6% (Ramiro, 1986).

Dentro de las cinco especies cultivadas de los chiles, *Capsicum annuum* L. es la más ampliamente conocida y la de mayor importancia económica, ya que presenta una distribución mundial (Pickersgill, 1969). El centro de origen y/o domesticación de *C. annuum* es Mesoamérica, más propiamente México y Guatemala (Pickersgill, 1971).

Esta especie agrupa la gran mayoría de los tipos cultivados en México, entre los que destacan: ancho, serrano, jalapeño, morrón, mirasol, pasilla y mulato. Además, presenta la mayor variabilidad en cuanto a tamaño, forma, y color de los frutos, los cuales pueden variar de 1 a 30 cm. de longitud, con formas alargadas, cónicas o redondas y cuerpos gruesos macizos o aplanado. Los frutos presentan coloración verde o amarilla cuando

están inmaduros; roja, amarilla, anaranjada o café en estado maduro (Muñoz y Pinto, 1966; Pozo, 1981; Laborde y Pozo, 1984).

Las características vegetativas son también muy variadas (Eshbaugh, 1975). Su cultivo abarca diferentes regiones del país, razón por la cual se encuentra chile en el mercado todo el año. Asimismo su consumo es muy generalizado en fresco e industrializado en diversas modalidades (Muñoz y Pinto, 1966; Pozo, 1981; Laborde y Pozo, 1984; Pozo *et al.*, 1991).

El chile es complejo de especies, muchas de ellas cultivadas en nuestro país; sin embargo, la especie más ampliamente cultivada es *Capsicum annuum*, dentro de la cual, a su vez, existe una gran diversidad de tipos o razas de chile que tienen su identidad propia en cuanto a forma, sabor, color, tamaño y pungencia. Los tipos más popularmente consumidos en México son: Serrano, Jalapeño, Ancho o Poblano, Pasilla o Chilaca, y Puya o Guajillo o Mirasol (Pozo y Ramírez, 1994).

En un trabajo sobre medio ambiente, amarre y desarrollo de frutos de chile dulce se encontró que la temperatura tiene una influencia sobre el amarre, forma y tamaño de los chiles dulces y que a bajas temperaturas a lo largo del día y baja intensidad de luz, principalmente en estado temprano y de reproducción de flores, causan la caída de un alto número de flores (Acosta, 1992).

## Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del chile (*Capsicum annuum* L.) según Janick (1965) es la siguiente.

Reino ----- Vegetal

División ----- Tracheophyta

Subdivisión ----- Pteropsida

Clase ----- Angiospermae

Subclase ----- Dicotyledoneae

Orden ----- Solanáceales

Familia ----- Solanácea

Genero ----- *Capsicum*

Especie ----- *annuum*

Nombre común ----- Chile Ancho

El chile es una planta perenne, pero se cultiva como si fuera anual, crece de 25 a 90 cm, y bajo condiciones de invernadero crece hasta 2 metros de altura; tiene tallos ramificados, semileñoso, con hojas oblongas lanceoladas y flores blancas, solitarias, localizadas en la inserción de las hojas que forman frutos de formas variadas de pared poco carnosa y que tienen semillas blandas aplanadas.

## Requerimientos climáticos y edáficos

Edmon (1976), menciona que el *Capsicum* se produce en un clima relativamente caluroso, en el que la temporada de crecimiento es larga y donde existe poco peligro de heladas.

El chile aparentemente resiste mejor la sequía que el tomate o la berenjena, sin embargo, los mejores resultados están íntimamente ligados a una abundante cantidad de lluvias bien distribuidas. El rango de temperatura para una mejor germinación es de 24 a 29° C, los días a emergencia son de 8 a 10 y la temperatura ambiente para su desarrollo es en el día de 18 a 26° C y por la noche de 15 a 18° C, a temperaturas menores de 10° C comienza a detenerse el crecimiento.

Según Vilmorin (1977) requiere de una temperatura media de entre 18 y 27°C al formarse la flor, la planta no solamente es destruida por las heladas, sino que su actividad se detiene a una temperatura de 4 a 6° C. Su grado térmico es alrededor de los 20° C. temperaturas mayores de 35° C causan caída de flores, y temperaturas mayores a los 22° C provocan malformaciones en los frutos.

Serrano (1978) señala que la temperatura media óptima para la producción de chiles esta comprendida entre los 18 y 22° C. Si se desea tener cosecha abundante se deben tener temperaturas ideales para un buen crecimiento de plántula de 20 a 28° C durante el día, y la noche de 16 a 18° C, siendo muy importante esta diferencia de temperaturas.

## Polinización

Polinización natural. Es el proceso mediante el cual entra en contacto el polen con los estigmas y que finalmente produce un fruto. Cuando el polen es depositado en el estigma, este germina y se realiza la doble fecundación, se forma el tubo polínico con los núcleos espermáticos y viaja hacia los óvulos del ovario, el óvulo tiene un tiempo específico para ser fertilizado; si el tubo polínico no llega en el momento oportuno, el óvulo no se fertiliza y cae poco tiempo después de la caída de pétalos (Hartch, 1992).

La polinización es la transformación del polen de un amento al estigma del pistilo. En los nogales algo de esta transformación se realiza por la gravedad, pero la mayor parte es por el viento. En las primeras fases de su desarrollo las anteras son del mismo color y las bracteadas que las envuelven; pero unos días antes de que inicie la dispersión del polen cambia a amarillo naranja y finalmente a amarillo grisáceo pálido. La dispersión del polen es ocasionado por el desigual secamiento de los lados opuestos de la antera, lo que da lugar a una abertura longitudinal a través de la cual escapa el polen, después de la cual las anteras se vuelven de color café y caen los amentos. (Brison, 1976).

La polinización debe efectuarse durante el tiempo en que el estigma es receptivo, este momento puede reconocerse por la apertura de las flores y el complejo desarrollo del estigma (John, 1986).

Una vez que las flores de los frutales (manzano, pie) se encuentran abiertas y son funcionales, es decir, que sus órganos sexuales están maduros, debe comenzar el proceso normal de la fecundación de la cual el primer paso consiste en el movimiento del polen desde las anteras hasta el estigma, y que es conocido como polinización (Calderón, 1985).

Polinización Artificial o Manual. Uno de los propósitos principales de la polinización manual, tanto por productores como en investigación, es el recurso para ayudar al incremento en la cantidad de semillas presentes en los frutos.

Se realiza con el propósito de tener mayor éxito en la polinización y tener gran número de semillas por fruto para el mejoramiento genético (Stone, 1995).

La polinización manual, comparada con otros tipos de polinización incluyendo la de colmenas ha tenido mayor porcentaje de amarre, este tipo de polinización tiene mayor efecto en el amarre de fruto probablemente debido a dos factores, primero, a la intervención del hombre como medio para asegurar que el polen entre en contacto con el estigma de la flor; y segundo, a que todas las abejas que visitan la flor acarrean suficiente polen en su cuerpo, un porcentaje alto de amarre de fruto garantiza una buena cosecha con un alto rendimiento de semillas para el fitomejorador y mayor calidad del fruto. (Praagh y Hauschildt, 1994).

La polinización manual se ha utilizado para demostrar los beneficios del polen comercial y compararlo con la eficiencia de las abejas para polinizar, en este caso en manzano, y se ha encontrado que la polinización manual incrementa el amarre de frutos al ser comparado con otros métodos (Praagh y Hauschildt, 1994).

### **Esterilidad y fertilidad del polen**

Algunos cultivares producen polen estéril que germina escasamente si es que lo hace. Bajo condiciones de campo a temperaturas moderadas, alta humedad y alta intensidad luminosa el polen tiene poca longevidad y normalmente tan solo es viable durante unas pocas horas. Sin embargo, puede permanecer viable durante varios años con humedad e intensidad luminosa baja y a temperaturas inferiores al punto de congelación (Westwood, 1982).

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 Fried, 1994)

Tuinstra y Wedel (2000) observaron que la fertilidad de un cultivo es una función de la producción y viabilidad del polen y puede estar fuertemente influenciada por las condiciones ambientales.



## **Fecundación**

Fecundación. Consiste en la perfecta conjunción de los elementos fecundantes del polen con los óvulos contenidos en el ovario; tal fenómeno se realiza en dos fases bien definidas: en la primera polinización, el polen se deposita en las sustancias viscosas del estigma, en la segunda el polen llega al interior del óvulo.

Para que la fecundación se realice será preciso:

1. Que los elementos masculino y femenino estén maduros cuando se reúnan.
2. Que el polen llegue al ovario sin deterioro alguno. Así por ejemplo, si se moja no podrá ser perfecta la fecundación, dando lugar a la falta de ligazón.

## **Germinación del grano de polen**

La germinación del grano de polen ocurre en la siguiente forma: Una vez que el polen está sobre el estigma se rompe la exina y por uno de sus poros se escapa el protoplasma, protegido por la intina, formando el tubo polínico. En la extremidad de éste va el núcleo vegetativo y a continuación la célula generatriz, la cual pierde su membrana y divide su núcleo en dos, construyendo así los gametos masculinos, con  $n = 12$  cromosomas para la especie (*Capsicum annum L.*); aunque estos, en algunos casos, se forma antes de la germinación del grano de polen. El tubo polínico crece y desciende por el interior del estilo hasta alcanzar el ovario; después se dirige a uno de los óvulos al que penetra, por el micrópilo (Ruiz *et al.*, 1949). Al

llegar al tubo polínico al micrópilo, atraviesa la nucela y se pone en contacto con el saco embrionario; entonces el tubo rompe la membrana y los gametos penetran el saco embrionario. El gameto inferior ( $n = 12$ ), se fusiona con la oófera u óvulo ( $n = 12$ ), la cual se transforma en cigoto o célula huevo con  $2n = 24$  cromosomas.

El gameto superior ( $n = 12$ ) del tubo polínico se funde con el núcleo secundario ( $2n = 24$ ) dando lugar al llamado núcleo del endospermo ( $3n = 36$ ); esta doble fusión constituye la fecundación, también denominada doble fecundación. En la primera fusión se forma el cigote o célula huevo, y en la segunda se forma el endospermo; sin embargo, este último poco a poco se consume por el desarrollo del embrión y en dicho proceso se forman los cotiledones. Como en el estigma pueden caer varios granos de polen y cada uno de estos emite un tubo polínico que llega hasta el ovario, pueden ser varios los óvulos que resulten fecundados (Rodríguez, 1988).

Alón y Karni (1999) detectaron que la capacidad de germinación del polen cambia por efecto de la temperatura del ambiente del cultivo y que la fertilización o fecundación afecta el número de semillas por fruto y en consecuencia la forma y el tamaño del fruto.

La incompatibilidad genética se manifiesta por un crecimiento lento o escaso del tubo polínico de manera que no tiene lugar la fecundación. Los problemas de la polinización del nogal, por ejemplo, normalmente son derivados de la dicogamia más que la incompatibilidad (Westwood, 1982).

## Viabilidad del grano de polen

Viabilidad del polen. El polen es un órgano viviente que puede morir con manejo inapropiado. El manejo excesivo, baja humedad y tiempo de almacenaje acorta el lapso de vida de cualquier polen. La muerte o baja viabilidad es inútil para la polinización en masa (Smith, 1957).

Pline *et al* (2002) señalan que los mejoradores y productores tienen interés en la condición de viabilidad del polen de sus cultivos ya que afecta a la productividad del cultivo y la efectividad del trabajo de cruzamiento del mejorador. También sobre el efecto que tienen los factores ambientales como el calor o la lluvia sobre la viabilidad del polen y la polinización resultante en su cultivo.

El estudio de la viabilidad del polen así como el comportamiento de cruza entre líneas es importante para obtener variedades mejoradas genéticamente y para preservarlas, ya que de lo contrario es imposible obtener semillas viables para la perpetuación de sus características, su futura propagación y para ofrecer rendimientos económicos que sean excelentes alternativas para la gran mayoría de pequeños y medianos productores de Chile.

Así Shivana y Rangaswamy (1992), aseguran que no existe un método de viabilidad del polen universal que sea rápido, simple y confiable.

Las características del polen son fundamentales en el proceso de fertilización. Dada la importancia de dicho proceso, el estudio del polen se

lleva a cabo en programas de mejoramiento genético para la formación del polen *in vitro* es un factor que obstaculiza las investigaciones al respecto (Roberts et al., 1983).

La tinción del polen en diferentes poblaciones de una especie es variable, lo que indica variaciones en su potencial de fertilidad (Séller, 1984). En un estudio con especies diploides de *Helianthus annuus* y *H. petiolaris* sobre viabilidad del polen y análisis meiótico se reportó que los híbridos presentaron una viabilidad menor del 10 por ciento. El análisis indicó que ambas especies tienen el mismo número de cromosomas ( $n = 179$ ), pero con diferente estructura, variando en las configuraciones multivalentes como inversiones y traslocaciones. (Chandler et al., 1986)

Las anomalías más frecuentes en meiosis I son: quiasmas persistentes entre homólogos grandes y desplazamiento precoz de cromosomas pequeños, uno o más puentes dicéntricos solitarios o acompañados con fragmentos acéntricos. En meiosis II, se puede observar la presencia ocasional de puentes y fragmentos, además de microsporas adicionales en la etapa de tétradas. Rupturas cromosómicas, errores de entrecruzamiento e inversión paracéntrica heterocigótica entre homólogos de mayor tamaño se discuten como posibles causas de las irregularidades meióticas observadas (Imery et al., 2002).

## **Longevidad del polen.**

Como el polen es un gametofito masculino en reposo, éste conserva su aptitud germinativa durante incierto periodo, cuya duración depende tanto de las propiedades específicas de la planta como de las condiciones de almacenamiento (Maximov, 1946).

## **Factores limitantes de la polinización**

Burke *et al* (2004) Observaron que los cultivos sufren de estrés ambiental que limita su crecimiento desarrollo y expresión máxima de su potencial genético para rendimiento agronómico. Los rendimientos promedio en estas condiciones son de 3 a 7 veces más bajos que el máximo potencial.

Esto esta relacionado con los efectos del ambiente sobre el comportamiento reproductivo, entre ellos el desarrollo del polen, la germinación del polen, el crecimiento del tubo polínico y la fertilización, entre otros.

Kelly *et al* (2002) mencionan que la cantidad y la calidad de polen producido por una flor es un componente importante de la adaptación y la calidad del polen se compara con frecuencia con la viabilidad la cual es la proporción de granos de polen que son viables y la cantidad se mide por el número de granos de polen que produce una flor o una antera.

También señalan que la variación en el tamaño del grano de polen que puede ser un indicador de las diferencias en viabilidad, y 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*.

La producción de polen puede ser evaluada por simple observación. En cambio la viabilidad es más difícil de evaluar y requiere de la aplicación de técnicas mas finas de laboratorio como la germinación *in vitro* y la tinción de los granos de polen entre otras, los problemas de la fertilidad pueden derivar en una reducción en la cantidad de semilla producida y del rendimiento potencial.

Marcelis *et al* (2004) encontraron que bajo condiciones normales de crecimiento, la cantidad de semilla por fruto es altamente variable y puede ser de 0 a 18% del peso seco del fruto. Esta variación probablemente afecta la demanda de asimilados de un fruto y en consecuencia la partición de materia seca y en muchas especies incluyendo el chile, el tamaño del fruto y el número de frutos esta relacionado con el numero de semillas.

González *et al* (2002) mencionan que para el éxito de las hibridaciones depende de la capacidad del polen para germinar y los métodos para estudiar la calidad del polen son:

- Tinciones morfológicas
- Germinación *in vitro*

- Que la germinación *in vitro* es más confiable que la tinción, pero puede utilizarse como una técnica preliminar por su sencillez y rapidez.

Para Karni y Aloni (2002) las altas temperaturas comúnmente causan la caída de flores y absorción de semillas debido a fallas en la polinización. El desarrollo y la función del polen son más susceptibles a altas temperaturas de lo que son el desarrollo y función de las partes maternas de la flor.

Los granos de polen acumulan sacarosa durante su desarrollo y cuando ésta se hidroliza por invertasa, la glucosa y la fructuosa que se libera rápidamente se metaboliza para iniciar la germinación, y bajo condiciones de estrés la actividad de la invertasa del polen varía y produce cambios y afecta la concentración de sacarosa del polen. Las altas temperaturas reducen la germinación del polen en Chile, y altas concentraciones de CO<sub>2</sub> la incrementa posiblemente por sus efectos sobre la utilización de la sacarosa por el grano de polen bajo esas condiciones.

Aloni *et al* (1996) dicen que en la mayoría de los cultivos la retención de las flores y frutos es muy sensible al estrés ambiental: que la alta temperatura y la baja iluminación incrementa la abscisión floral y afecta la tasa fotosintética, la partición de asimilados y el metabolismo del azúcar en los tejidos de la fuente y la demanda. Aunque la fertilidad es sensible a las altas temperaturas puede no ser importante en la absorción de botones florales y frutos en desarrollo.

Marcelis *et al* (2004) Cita a Wein *et al* (1989) Señalando que la abscisión de botones florales, flores y frutos es un factor importante que limita el rendimiento en muchos cultivos incluyendo el chile. Este mismo autor al cita a Rylski, Wein *et al* (1989) el estrés ambiental de sequía, calor y baja luminosidad son factores importantes que pueden inducir la abscisión.

En referencia a trabajos de nuevos autores Marcelis y Heuvelink (2004) señalan: Tames *et al* (1979) y a Van Meeteren y Van Gelder (1995) afirma que la abscisión es regulada principalmente por las hormonas (Auxinas y etileno).

Tomaset (1979); Stephenson *et al* (1989) y Bangeth (1989) la abscisión es el resultado de la acción conjunta de la competencia y dominancia. Concluye que la abscisión se debe a la fuerza de la demanda combinada con competencia y dominancia de los frutos.



## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en invernadero y en el Laboratorio de Citogenética del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro la cual se localiza en la ex - Hacienda de Buenavista, a siete kilómetros de la ciudad de Saltillo, la cual esta ubicada en la región sur del Estado de Coahuila y geográficamente se encuentra situada a 25° 22' Latitud Norte y 101° 00' Longitud Oeste con una altitud de 1742 msnm.

En el presente trabajo se llevaron a cabo tres experimentos:

**Experimento 1.** Caracterización de un grupo de líneas de Chile Ancho por viabilidad de polen

**Experimento 2.** Estudio del tamaño del grano de polen.

**Experimento 3.** Estudio meiótico.

## Material genético

El material genético consistió de las cinco líneas experimentales de Chile Ancho que se muestran en el Cuadro 3.1:

Cuadro 3.1. Líneas de Chile Ancho (*Capsicum annuum*) evaluadas.

Líneas experimentales	
1.	AP 96 – 6
2.	AP 97 – 24
3.	Ancho Saltillo 79 – 4
4.	Carmín 6 – 1
5.	AM 97 – 47

El material genético fue proporcionado por el Campo Experimental Sur de Tamaulipas, (CESTAM), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, (INIFAP), ubicado en Estación Cuahutémoc, Tamaulipas, en la región conocida como “La Huasteca”.

## Establecimiento y manejo del material vegetal

Los cinco materiales de Chile Ancho se sembraron en camas o bancos, con tierra común, se regó y se fertilizó según los requerimientos de las plantas, en ningún momento se sometieron a estrés, se mantuvieron a una temperatura de 23 a 28° C por el día y con temperaturas nocturnas mayores de 18° C.

## **Experimento 1. Caracterización de un grupo de líneas de Chile Ancho por Viabilidad de polen**

Primeramente se colectaron en una caja petri 10 botones florales por cada línea experimental o variedad de chile Ancho en las primeras horas de la mañana (10:00 a.m.), enseguida se llevaron al Laboratorio de Citogenética que se encuentra ubicado en el Departamento de Fitomejoramiento de la UAAAN. Una vez colectadas las florecillas, se hicieron las preparaciones de las anteras para realizar las observaciones; con una aguja de disección se separaron los pétalos de las anteras y con unas pinzas se extrajeron dos anteras por flor para ponerlas cada una en un portaobjetos por separado; se agregó el colorante aceto carmín con la finalidad de hacer la tinción del grano de polen, se maceraron las anteras usando la técnica de squash, después se colocó el cubreobjetos y para fijarlas se utilizó de cera normal de parafina para sellarlas totalmente.

Las observaciones y los conteos que se llevaron a cabo se realizaron en dos campos, o sea un campo por antera tomados al azar, se localizaron los granos de polen viables y no viables; esto se logró mediante la práctica previa; el grano de polen viable es fácil de identificar ya que a diferencia del no viable este se torna de un color rosa intenso y el no viable es de color transparente o rosa claro totalmente pálido como se muestra en la (Figura 3.1).

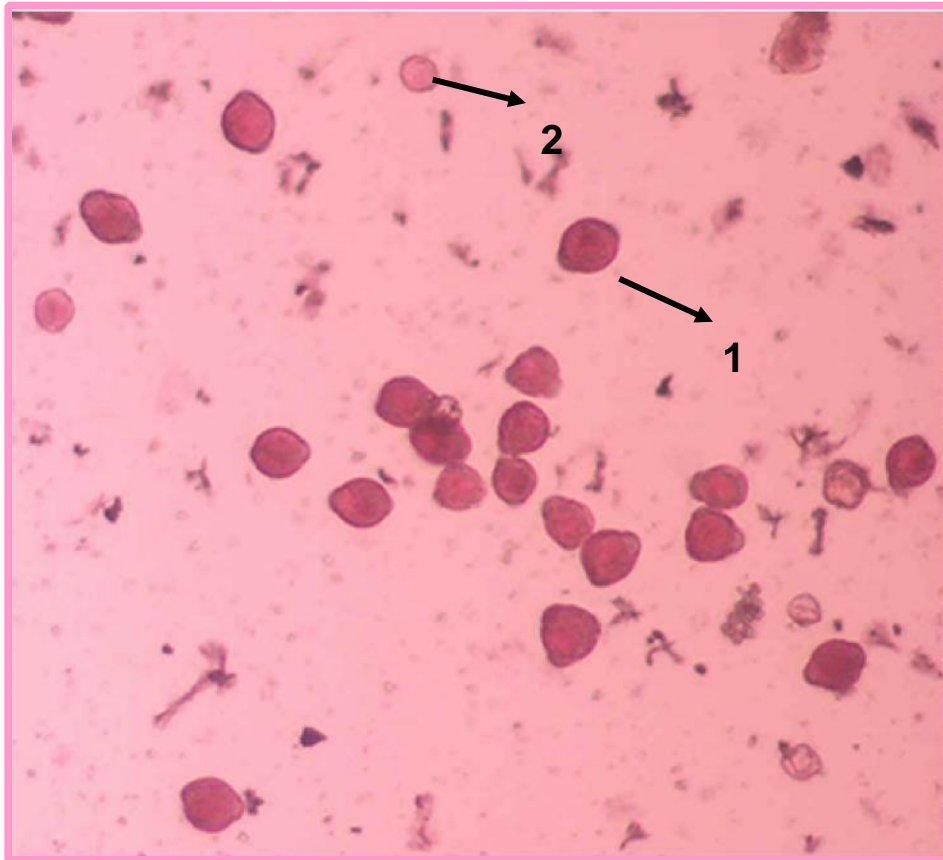


Figura3.1.Grano de polen viable (1) y no viable (2) 10X (100 aumentos)

Se contaron 25 granos de polen por línea en ambos campos, a partir del número indicado se obtuvo la proporción de granos viables respecto al total (25), para las cinco líneas, como se observa en el (Cuadro 3.2)

Cuadro 3.2. Concentración de datos de viabilidad (viable/total) de polen para las cinco variedades de Chile Ancho.

Línea	Flor 1		Flor 2		Flor 3		Flor 4		Flor 5	
	C 1	C 2	C 1	C 2	C 1	C 2	C 1	C 2	C 1	C 2
1	17/25	20/25	24/25	19/25	23/25	23/25	22/25	21/25	23/25	19/25
2	20/25	22/25	18/25	21/25	22/25	16/25	6/25	11/25	6/25	15/25
3	24/25	23/25	21/25	21/25	23/25	25/25	24/25	22/25	22/25	21/25
4	21/25	21/25	21/25	24/25	20/25	22/25	15/25	23/25	22/25	20/25
5	25/25	23/25	21/25	22/25	22/25	19/25	May-25	15/25	24/25	25/25
Línea	Flor 6		Flor 7		Flor 8		Flor 9		Flor 10	
	C 1	C 2	C 1	C 2	C 1	C 2	C 1	C 2	C 1	C 2
1	22/25	16/25	23/25	21/25	24/25	22/25	21/25	Ago-25	24/25	25/25
2	19/25	20/25	24/25	18/25	19/25	17/25	15/25	18/25	16/25	22/25
3	23/25	22/25	24/25	24/25	21/25	22/25	21/25	22/25	23/25	21/25
4	22/25	21/25	0/25	22/25	19/25	21/25	23/25	22/25	22/25	18/25
5	24/25	24/25	17/25	16/25	25/25	21/25	19/25	21/25	22/25	24/25

Todos los conteos se realizaron con el objetivo de 40x con un microscopio compuesto Carl Zeiss.

Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico SAS 6.12 (sas, 1998) bajo un diseño de bloques completos al azar, con un arreglo factorial considerando cinco variedades, 10 flores y 2 repeticiones con el siguiente modelo

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + V_j + (R \times V)_{ij} + F_k + (R \times F)_{ik} + (V \times F)_{jk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

$Y_{ijkl}$  = Viabilidad del polen medido en repetición (Campos de Conteo)  $i$ , de flor  $k$  en la variedad  $j$ .

$R_i$  = Efecto de la repetición  $i$ .

$V_j$  = Efecto de la variedad  $j$ .

$(RV)_{ij}$  = Efecto conjunto de la repetición  $i$  con la variedad  $j$ .

$F_k$  = Efecto de la flor  $k$ .

$(RF)_{ik}$  = Efecto conjunto de la repetición  $i$  con la flor  $k$ .

$(VF)_{jk}$  = Efecto conjunto de la variedad  $j$  con la flor  $k$

$\varepsilon_{ijkl}$  = Efecto de las variables no consideradas por el modelo o error experimental.

Cuadro 3.3. Análisis de varianza indicativo para el diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial según el Experimento 1.

<b>FUENTE</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>
<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>	$(r - 1)(v - 1)$	$SCrv = \frac{\gamma_{ij.}^2}{f} - SCr - SCv + FC$
<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>	$(r - 1)(v - 1)(f - 1)$	<i>La diferencia del SC más las SC de las otras variables.</i>
<i>Total</i>	$rvc - 1$	$SCt = \gamma_{ijk}^2 - FC$

## Experimento 2. Estudio del Tamaño del grano de polen

En este experimento se colectaron 10 botones florales por cada línea experimental de Chile Ancho, se llevaron al Laboratorio de Citogenética, y se midió el tamaño del grano de polen.

Para hacer las preparaciones se separaron dos anteras de interés, posteriormente se colocaron en un portaobjetos, agregando el colorante aceto carmín con el propósito de hacer la tinción del grano de polen y proceder a la medición en 2 campos, para ello se calibró el microscopio.

La medición de objetos microscópicos es relativamente sencilla aunque implica el empleo de los siguientes accesorios: ocular de medición que esta graduado de 0 - 100 trazos, micrómetro de ocular y micrómetro de objeto. En el “ocular de medición”, la lente superior desplazable se encarga de que los ojos amétropes (es decir con defectos de visión) vean nítidamente dicha graduación. El micrómetro de objetos es una escala dividida en unidades 0.0 – 2.0 mm sobre un portaobjetos normal.

La calibración se llevó a cabo haciendo la siguiente serie de pasos.

1. Se colocó el micrómetro de ocular de medición. Para ello se desenrosca la parte inferior del ocular y después de colocar la plaquita del micrómetro (con la división hacia arriba), vuelve a colocarse la parte inferior.



2. Se insertó el ocular enfocando la lente superior de manera que el ojo perciba con máxima nitidez la graduación.
3. Enseguida se colocó el micrómetro de objeto sobre la platina del microscopio y enfocó con respecto a la división del micrómetro. Ahora aparecen igualmente nítidas ambas escalas, y girando el ocular, se disponen exactamente paralelos haciendo coincidir cero con cero. Y para comprobar qué número de trazos en el micrómetro del ocular corresponde a la longitud de micrómetro de objeto, tomando el punto en que coincidan exactamente las dos escalas y con ello, determinar la longitud que equivale a un trazo de graduación en el micrómetro de ocular.
4. El valor micrométrico se obtiene dividiendo el valor de la escala del micrómetro del objeto en micras entre el valor que corresponde a la escala del ocular. Este valor es valido únicamente para el objeto con el cual se ha efectuado el contrastado.
5. Se multiplicó 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 pleno de objeto.

Calibración del microscopio para medir con el micrómetro.

Se hicieron coincidir cero con cero las dos escalas y los datos fueron los siguientes

- a) Objetivo de 10x es igual a 0.08 mm entre 10 trazos.
- b) Objetivo de 40x es igual a 0.01 mm entre 5 trazos
- c) Objetivo de 100x es igual a 0.01 mm entre 13 trazos

En el objetivo de 10x coincidieron en 0.08 mm y en el micrómetro del ocular 10 trazos.

El valor micrométrico para cada objetivo fue el siguiente.

$$\text{objetivo } 10x = \frac{0.08 \times 1000}{10} = 8\mu \quad 40x = \frac{0.01 \times 1000}{5} = 2\mu \quad 100x = \frac{0.001 \times 1000}{13} = 7.6\mu$$

Después de hacer la calibración se retiró el micrómetro del objeto y solo se quedó el del ocular que está graduado en trazos como se mencionó anteriormente posteriormente se hizo una preparación con las anteras del botón floral y de la variedad a utilizar y se hicieron tres mediciones con los objetivos de 10, 40 y 100x, estas mediciones y observaciones que se realizaron fue para corroborar que ya estaba bien calibrado el microscopio, si estaba bien calibrado el microscopio el grano de polen tenía que medir lo mismo con los tres objetivos.

Cabe señalar que en el presente experimento únicamente se trabajó con el objetivo de 40x, por lo que el número de trazos que midió cada grano de polen de diámetro se multiplicó por el valor micrométrico para el objetivo de 40x.

En la (Figura 3.2) se observa la forma y el diámetro del grano de polen viable y no viable ya que al hacer el presente trabajo se pudo observar que en el grano de polen no viable su diámetro es mucho menor que el grano de polen viable.

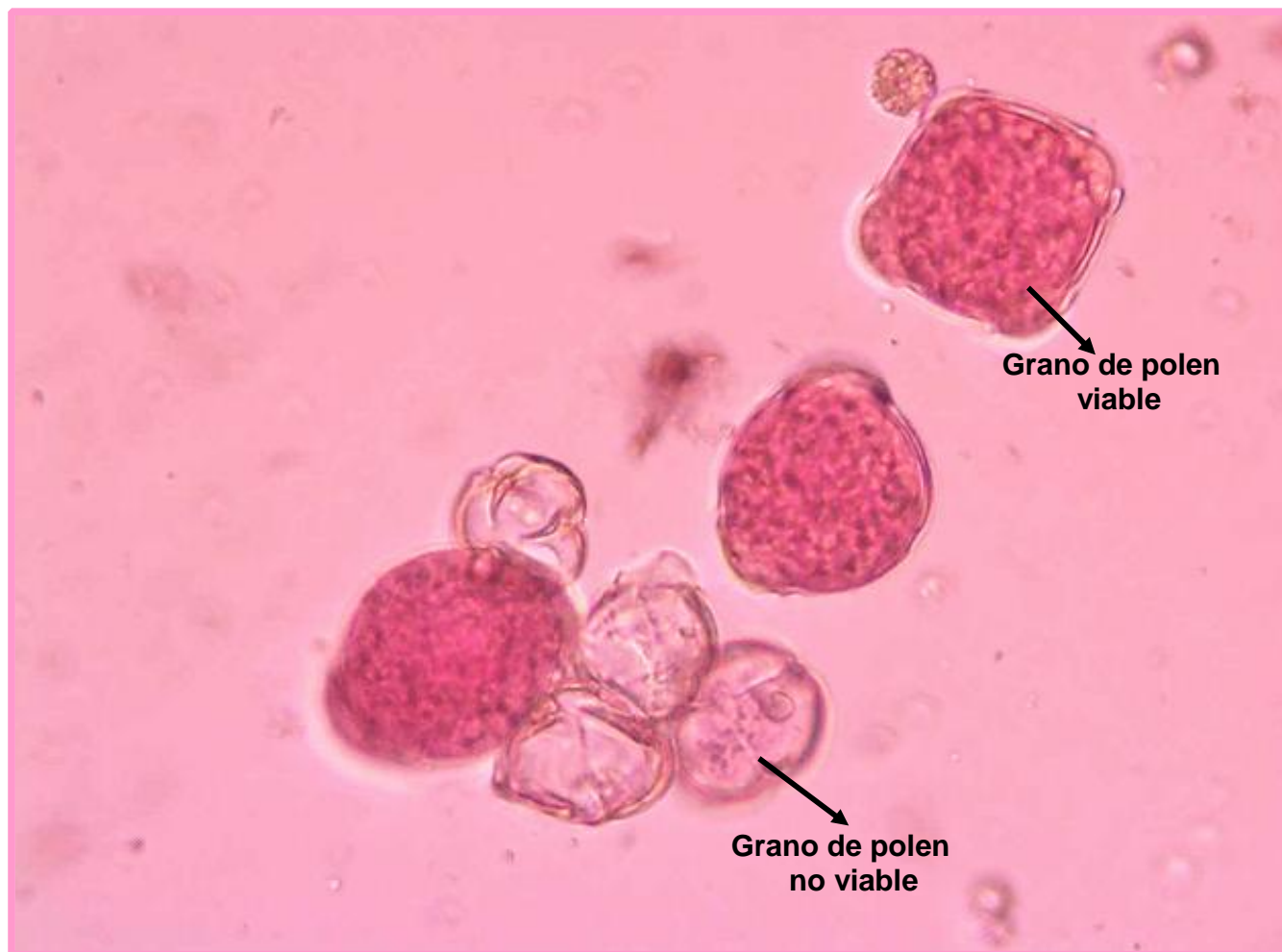


Figura 3.2. Tamaño del grano de polen.

Los datos de tamaño del polen se analizaron en un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial, considerando dos repeticiones, cinco variedades, 10 flores por variedad y 10 conteos por flor, con el siguiente modelo.

$$Y_{ijklm} = \mu + R_i + V_j + (RV)_{ij} + F_k + (RF)_{ik} + (VF)_{jk} + C_l + (RC)_{il} + (VC)_{jl} + (FC)_{kl} + \varepsilon_{ijklm}$$

Donde:

$Y_{ijklm}$  = Tamaño del polen medido  $l$  veces en la repetición  $i$  de la flor  $k$  en la variedad  $j$ .

$R_i$  = Efecto de la repetición  $i$ .

$V_j$  = Efecto de la variedad  $j$ .

$(RV)_{ij}$  = Efecto conjunto de la repetición  $i$  con la variedad  $j$ .

$F_k$  = Efecto de la flor  $k$ .

$(RF)_{ik}$  = Efecto conjunto de la repetición  $i$  con la flor  $k$ .

$C_l$  = Efecto del conteo  $l$ .

$(RC)_{il}$  = Efecto conjunto de la repetición  $i$  con el conteo  $l$ .

$(VC)_{jl}$  = Efecto conjunto de la variedad  $j$  con el conteo  $l$ .

$(FC)_{kl}$  = Efecto conjunto de la flor  $k$  con el conteo  $l$ .

$\varepsilon_{ijklm}$  = Efecto de las variedades no consideradas por el modelo o error experimental.

Cuadro 3.4. Análisis de varianza indicativo para el diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial según el Experimento 2.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>
<i>Re p</i>	$r - 1$	$SCr = \frac{Y_{i..}^2}{vfc} - FC$
<i>Var</i>	$v - 1$	$SCv = \frac{Y_{.j..}^2}{rfe} - FC$
<i>Re pxFlor</i>	$(r - 1)(f - 1)$	$SCrv = \frac{Y_{ij..}^2}{fc} - SCr - SCv + FC$
<i>Flor</i>	$f - 1$	$SCf = \frac{Y_{..h.}^2}{vc} - FC$
<i>Re pxFlor</i>	$(r - 1)(f - 1)$	$SCrf = \frac{Y_{i.k.}^2}{vc} - SCr - SCf + FC$
<i>VarxFlor</i>	$(v - 1)(f - 1)$	$SCvf = \frac{Y_{.jk.}^2}{rc} - SCv - SCf + FC$
<i>Conteo</i>	$c - 1$	$SCc = \frac{Y_{...l}^2}{rvf} - FC$
<i>Re pxConteo</i>	$(r - 1)(c - 1)$	$SCrc = \frac{Y_{i..l}^2}{vf} - SCr - SCc + FC$
<i>VarxConteo</i>	$(v - 1)(c - 1)$	$SCvc = \frac{Y_{.j.l}^2}{rf} - SCv - SCc + FC$
<i>FlorxConteo</i>	$(f - 1)(c - 1)$	$SCfc = \frac{Y_{..kl}^2}{rv} - SCf - SCc + FC$
<i>Error</i>	$(r - 1)(v - 1)(f - 1)(c - 1)$	La diferencia $SC_t$ menos SC de las otras variables.
<i>Total</i>	$rvfc - 1$	$SC_t = Y_{ijkl}^2 - FC$

### **Experimento 3. Estudio meiótico**

#### a) Obtención del material

En este experimento al igual que en los otros dos, se colectaron 10 flores por cada variedad de Chile Ancho pero en este caso las flores fueron un poco más pequeñas casi al inicio de su desarrollo.

#### b) Fijación

Una vez colectadas las florecillas se llevaron al laboratorio inmediatamente, para colocarlas en un fijador llamado Farmer que es el más utilizado, las principales funciones que tienen los distintos líquidos fijadores que se utilizan con frecuencia, 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, 1984). El fijador Farmer tiene una concentración de 3:1 de etanol y ácido acético (tres partes de alcohol etílico y una de ácido acético). En esta solución permanecieron las flores por 24 horas y al término del lapso ya estaban listas para trabajar.

#### c) Procedimiento

Se seleccionó un botón floral, se puso en una caja petri, se le agregó agua destilada con el fin de retirar los residuos de la solución fijadora, empezamos a hacer la preparación, se tomaron dos anteras por cada flor y se colocaron en un portaobjetos se le añadió un colorante llamado aceto carmín y se procedió al aplastamiento de las anteras para observar las fases de la meiosis en las que se encontraba la células.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Experimento 1. Caracterización de un grupo de líneas de Chile Ancho por Viabilidad de polen.

En el (Cuadro 4.1) se presenta el análisis de varianza de la viabilidad del polen

Cuadro. 4.1. Análisis de varianza para viabilidad del polen en cinco líneas de chile ancho.

FV	GL	SC	CM	F
Rep	1	51.84	51.84	0.26
Var	4	4637.44	1159.36	<b>5.74**</b>
Rep x var	4	1509.76	377.44	1.87
Flor	9	4275.84	475.09	<b>2.35*</b>
Rep x flor	9	1160.96	129.00	0.64
Var x flor	36	12770.56	354.74	<b>1.75*</b>
Error	36	7277.44	202.15	
Total	99	31683.84		

CV = 17.6 %. \* \*\* significativo al 0.01 y 0.05 de probabilidad, respectivamente.

No se encontraron diferencias significativas en las fuentes Repetición, Repetición x Variedad y Repetición x Flor. En cambio, se encontraron diferencias significativas entre variedades ( $P < 0.01$ ) y flores ( $P < 0.05$ ) así como entre la interacción flor x variedad ( $P < 0.05$ ). En cambio y de acuerdo con las hipótesis planteadas, hubo diferencias significativas ( $0.01 < p < 0.05$ ) entre variedades y flores; así como en la interacción Variedades x Flor.

Lo anterior indica que los materiales empleados en esta investigación son muy diferentes en su aptitud para producir polen vivo y esto es un componente importante del valor adaptativo; es decir, de la capacidad de los seres vivos para enfrentar exitosamente los embates de factores adversos del ambiente que dirigen la selección natural. Kelly, *et al.* (2002) mencionan que la calidad del polen producido por una flor es un componente importante de la adaptación. Pozo (1981) señala que la gran diversidad germoplásmica existente en los chiles mexicanos, especialmente de la especie *C. annuum* ha prevalecido porque ha sido poco el mejoramiento genético. Como en el caso del tipo racial Jalapeño, el chile ancho es uno de los que más variabilidad conserva y es fácil distinguir subtipos en cuanto a tamaño forma y color de fruto. Las diferencias en viabilidad del polen puede ser parte de esta diversidad germoplásmica y probablemente está relacionada con los factores de la selección natural que propician la deriva genética y los procesos de especiación.



La comparación de medias de viabilidad se muestra en el Cuadro 4.2. Como puede observarse, el valor más alto de viabilidad fue de aproximadamente 90% (variedad Ancho Saltillo 79-4), casi 20% arriba de la variedad con el valor más bajo (AP 97-4).

Cuadro 4.2. Comparación de medias de viabilidad en cinco variedades de chile ancho.

<b>Variedad</b>	<b>Viabilidad (%)</b>
Ancho saltillo 79 – 4	89.8 a
AP 96 – 6	83.4 a
AM 97 – 47	82.8 ab
Carmín 6 – 1	79.8 b
AP 97 – 24	69.0 c
DMS <sub>(0.05)</sub>	9.10

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

La comparación de medias de la variable viabilidad del polen clasificó tres grupos estadísticos, en el primer grupo se encuentran las variedades Ancho Saltillo 79 – 4, AP 96-6 y AM 97-47, el segundo grupo se integró por la variedad AP 96 – 6, AM 97 – 47 y Carmín 6 – 1 las dos primeras variedades mencionadas presentaron traslape en su clasificación ambas pertenecen al primer grupo, por ultimo la que presentó menor viabilidad que se encuentra en el grupo tres fue la variedad AP 97 – 24.

Mejoradores y productores tienen interés en la condición de viabilidad del grano de polen de sus cultivos ya que afecta su productividad y la efectividad del trabajo de cruzamiento del mejorador (Pline, *et al* 2002).

Este tipo de estudios son importantes no solo porque la baja viabilidad dificulta las cruces en el mejoramiento, sino porque se considera que la viabilidad en cualquier cultivo es de suma importancia, ya sea en campo abierto o bajo invernadero, y es afectada por los factores ambientales como el calor, la lluvia y otros factores que afectan su desarrollo; así que los problemas de fertilidad pueden derivar en una reducción en la cantidad de semilla producida y el rendimiento potencial (Pline, *et al* 2002).

## **Experimento 2. Estudio del tamaño del grano de polen**

Los resultados obtenidos en este experimento se muestran en el Cuadro 4.3 en donde se puede observar que la viabilidad del grano de polen es significativamente diferente ( $p < 0.01$ ) entre variedades y flores; así mismo, es significativamente importante la diferencia entre flores como una función de la variedad de procedencia (Var x Flor). Como en el caso de la viabilidad, el tamaño del grano de polen es también una característica distintiva entre los materiales utilizados en este estudio.

La prueba de medias (Cuadro 4.4) formó dos grupos muy bien definidos en donde el primer grupo está integrado por las variedades AP 96 –

6, AP 97 – 24 y Ancho Saltillo 79 – 4 y el segundo grupo integrado por las variedades AM 97 – 47 y Carmín 6 – 1. Los valores máximo y mínimo los tuvieron las variedades AP 96-6 (30.810  $\mu$ ) y Carmín 6-1 (26.378  $\mu$ ).

Cuadro 4.3. Análisis de varianza para diámetro del grano de polen en cinco líneas de chile ancho.

FV	GL	SC	CM	F
Rep	1	0.022	0.022	0.06
Var	4	24.153	6.038	<b>19.04</b> **
Var*Rep	4	2.576	0.644	2.03
Flor	9	59.282	6.586	<b>20.77</b> **
Rep*Flor	9	4.120	0.457	1.44
Var*Flor	36	51.629	1.434	<b>1.44</b> **
Conteo	9	2.619	0.291	0.92
Rep*Conteo	9	3.869	0.429	1.36
Var*Conteo	36	8.766	0.243	0.77
Flor*Conteo	81	26.696	0.329	1.04
Error	801	254.025	0.317	
Total	999	439.679		

C.V = 10.5. \* \*\* significativo al 0.01 y 0.05 de probabilidad, respectivamente

Kelly *et al* (2002), en un estudio sobre las relaciones entre tamaño y viabilidad del polen en *Mimulus guttatus* menciona que la variación en el tamaño del grano de polen puede ser un indicador de las diferencias en viabilidad. En su trabajo, encontraron que el diámetro promedio de los granos de polen viables es aproximadamente 13 milimicras más grande que el diámetro promedio de los granos de polen no viables.

Las propiedades funcionales del grano de polen se pueden ver afectadas por la forma y tamaño del mismo, ya que, como lo señala Kelly *et al* (2002) el diámetro puede ser un indicador de las deficiencias que pueda presentar el cultivo de chile en cuanto a la caída de flores, amarre de frutos, número de semillas por fruto y además también puede afectar la efectividad de la polinización natural y artificial.

Cuadro 4.4. Comparación de medias para variedades por el método de Diferencia Mínima Significativa (DMS).

<b>Variedad</b>	<b>Media</b>
AP 96-6	30.810 a
AP 97-24	30.593 a
Ancho Saltillo 79-4	29.927 a
AM 97-47	27.399 b
Carmin 6-1	26.378 b
DMS <sub>(0.05)</sub>	2.240

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

En el (Cuadro 4.5) se muestran las medias de las dos variables y se puede observar claramente que el diámetro del grano de polen no va correlacionado con la viabilidad del polen. Una prueba de correlación simple confirmó que el coeficiente de correlación es muy bajo ( $r=-104$ ) y no significativo ( $p<0.05$ ).

Cuadro 4.5. Medias de viabilidad y diámetro del grano de polen en cinco variedades de chile ancho.

<b>Variedad</b>	<b>Viabilidad %</b>	<b>Diámetro <math>\mu</math></b>
AP 96 – 6	83.4	<b>30.81</b>
AP 97 – 24	69.0	30.59
Ancho saltillo 79 – 4	<b>89.8</b>	29.92
Carmín 6 – 1	79.8	26.37
AM 97 – 47	82.8	27.39
DMS <sub>(0.05)</sub>	9.10	2.240

### **Experimento 3. Estudio meiótico.**

En este experimento cabe señalar que no se muestran los resultados, debido a que en las líneas experimentales evaluadas no se presentaron anomalías en la meiosis, y por lo que se consideró que la meiosis es absolutamente regular en todas las variedades observadas.

Es decir, los problemas observados en la caída de flores y frutos de manera natural y durante el trabajo de cruzamientos, no están relacionados con algún tipo de irregularidad en el proceso de microsporogénesis.

De los resultados de este trabajo puede establecerse que los problemas de caída de flores y frutos poco después de la polinización natural o manual durante el proceso de cruzamientos puede tener su origen en otras causas diferentes a la viabilidad del polen, el tamaño del polen o

irregularidad meiótica durante la microsporogénesis. Las diferencias observadas de casi 20% en la viabilidad del polen entre los materiales utilizados en este trabajo, pueden considerarse muy altas, pero no lo suficiente como para considerarse una limitante seria, dada la cantidad de polen que produce una flor. También queda claro que el tamaño del grano de polen es una característica distintiva de los materiales usados en este trabajo, y no parece ser la causa de los niveles de viabilidad del polen como lo afirman Kelly *et al* (2002) en un estudio con *Mimulus guttatus*, en el cual el tamaño del grano de polen resultó ser un indicador confiable de sus niveles de viabilidad y probablemente tenga su origen en las condiciones de manejo del cultivo, como estrés por temperaturas altas y deficiencia de agua, entre otros.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con las hipótesis planteadas en el trabajo de investigación se hacen las siguientes conclusiones:

- ❖ Que las variedades utilizadas en este trabajo difieren en sus niveles de viabilidad y tamaño del polen.
- ❖ Que la viabilidad del polen no guarda relación alguna con el tamaño del grano de polen.
- ❖ Que las variedades evaluadas no presentaron anomalías meióticas de ningún tipo.
- ❖ Que los problemas de caída de flores y frutos no está originada por problemas de viabilidad del polen, el tamaño del grano de polen o algún tipo de irregularidad meiótica durante el proceso de microsporogénesis.

## 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 Ancho, 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



## BIBLIOGRAFÍA

- Acosta R. G. Madurez del fruto a cosecha y tiempo de extracción en la calidad de semilla de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) Tesis, UAAAN. Buenavista Saltillo Coahuila, México.
- Aloni, B; L. Karni, Z, Zaidman and A. A Schaffer 1996. Change of carbohydrates in papper (*Capsicum annum L.*) flowers under different shading regimes Annals of Botany 78: 163-168.
- Alón, B. , E. Presuman and L. Karni 1999 The effect to fruti load, defoliation and nigh temperature on the morphology of pepper flowers and on fruit shape. Ann. Bot. 83:529 – 534.
- Brison, F.R. 1976. El cultivo del nogal pecadero, S.A.G. CONAFREUT. México, D.F
- Burke, J. J., J. Velten and M. J. Oliver. 2004 In vitro analysis of cotton pollen germination Agron. J. 96:359-368
- Calderón, A. E. 1985. Fruticultura General. El Esfuerzo del Hombre Ed. Limusa 3ª edición México, D. F.
- Edmon, D. J. 1976. Principios de Horticultura. Tercera edición. Editorial SECSA, México. 492. P.
- Eshbaugh, W. H. 1975. Genetic and biochemical systematic studies of chili peppers (*Capsicumsolanacae*). Bulletin of the Torrey Botanical Club. 102 (6): 396403.
- 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.
- Hatch, A. H. 1992. El raleo químico de árboles frutales. Memorias del V ciclo internacional sobre el cultivo del manzano. Unión Regional Agrícola de productores de manzano del estado de Coahuila. Pp. 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
- Hernández 1984 Manual de laboratorio citología y citogenética Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- José Imery, y Cequea, 2002. Anormalidades Cromosómicas en la Microsporogénesis de Aloe Vera (L.) Burm. F. (Aloaceae). *Acta Bot. Venez.*, vol.25, no.2, p.143-152. ISSN 0084-5906.
- Janick, J. 1965. Horticultura Científica e Industrial. Editorial Acriba. Zaragoza, España.
- Karni, L. and B. Aloni. 2002 Fructokinase and hexokinase from pollen grain of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) Possible in pollen germination under conditions of high temperature and CO<sub>2</sub> 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
- Laborde C, J. A y O. Pozo C. 1984. Presente y pasado del chile en México. Publicación Especial No. 85. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos-Instituto Nacional de Investigadores Agrícolas. México, D. F. Pág. 80.
- Marcelis, L. F. M. and L. R. B. Hofman – Eijer. (2004) Effects of seed number on competition and dominance among fruits in *Capsicum annuum* L. *Ann. Bot.* 79:687-693.
- Marcelis L.F. 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.
- Maximov, A. N. 1946. Fisiología Vegetal. ACME AGENCY. SOC. RESP. LTDA. Buenos Aires pp. 396 a 400.
- Montes L. A. 1974 Cultivo de Hortalizas en el Trópico Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, Departamento de Horticultura.
- Muñoz F., I. y B. Pinto C. 1966. Taxonomía y distribución geográfica de los chiles cultivados de México. Folleto Misceláneo. No. 15. INIASAG. México.
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). *Evolution.* 25:683-691.

- Pickersgill, B. 1969. The domestication of chili peppers. En: P. J. Ucko y G. W. Dimbley (eds.). The domestication and exploration of plants and animals. Duckworth. London. UK. pp. 443-450.
- 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 glyphas – resistant cotton pollen viability. Crop sa: 42: 2193 a 2200
- Pozo C., O. 1981. Descripción de tipos y cultivares de chile (*Capsicum* spp.) en México. Folleto Técnico. No. 77. INIA SARH. México.
- Pozo, C. O. 1983 Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el cultivo del chile. SARH-INIA. México.
- Pozo C., O.; S. Montes H. y E. Redondo J. 1991. Chile (*Capsicum* spp.) En: Ortega P., R.; G. Palomino H.; F. Castillo G.; V. A. Gonzalez H. y M. Livera M. (Eds.). Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos en México. SOMEFI. Chapingo, Méx. pp. 217 - 238.
- Pozo C, O. y M. Ramírez M. 1994. Gigante Ebano y Paraíso. Nuevas variedades de chile serrano en México. Folleto técnico No.10. CESTAM-CIRNE-INIFAP:
- Praagh y Hauschildt, 1994. Evaluation of shoot bending, pruning and pollination for increasing fruti set and yield on young Cox trees. Hort. Abstr.
- Ramiro, C. A. 1986. Cruzamiento Artificial en Chile (*Capsicum annum* L.). Tesis de M.C. Colegio de postgraduados, Montecillos, México.
- Roberts, N.L., T.C. Gaude, G. Harrod and H.G. Dickson. 1983. Pollen – Stigma interaction in Brassica oleracea; a new pollen germinating medium and its use in elucidating the mechanism of self incompatibility. Theor. Appl. Genet 65:231-238.
- Rodríguez M. R. 1988. Evolución del sistema reproductivo de *Capsicum annum* L. Tesis de M.C. Colegio de Posgraduados. Montecillos, México.
- Ruiz O. M, Nieto R. y Larios R. 1949. Tratado Elemental de Botánica. Ed. Porrúa, México.
- Shivana, k. R. And n.s. Rangaswamy. 1992. Pollen Biology. A Laboratory Manual Springer Verlag, Berlin Heidelberg. P. 119.

- Séller, G. J. 1984. evaluation of self - comparison and perennial sunflowers. In agronomy abstracts ASA, madison, WI. P 87.
- Smith G. A y B. H. 1957. Taxonomy of Capsicum sinense J., and the geographie distribution of the Cultivated spp Bull. of the Torrey Botanical Club vol. 84 No 6.
- Serrano, C. Z. 1978. Tomate Pimiento y Berenjena en invernadero. Colección Agrícola Practica No. 27 Publicación. Madrid España.
- Stone, J. L., J. D. Thomson and S. A. Dent-Acosta 1995. Assessment of pollen viability in hand pollination experiments: A review. Am. J. Bot. 82 (9) 1186-1197.
- Tuinstra, M. R. and J. Wedel. 2000. Estimation of pollen viability, in grain sorghum crop sa: 4:968- 970
- Vilmorin, D. F. 1977. El Cultivo del Pimiento Dulce Tipo Bell. Editorial Dana México.
- Westwood, N.M. 1982. Fruticultura de Zonas Templadas. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España.