

TÉCNICAS DE CRUZAMIENTO EN CHILE

CROSSING METHODS IN CHILE PEPPER

Gaspar Martínez Zambrano^{1*}, Isidro Andrade Flores¹, Juan José Hernández Ríos¹, Moisés Ramírez Meraz² y Octavio Pozo Campodónico²

*Autor responsable: gmartin@uaaan.mx

RESUMEN

En Chile es común que se tenga una baja eficiencia en el proceso de cruzamiento de los progenitores, probablemente debido a corta vida del polen, vulnerabilidad de estigma y estilo al manejo durante la polinización, entre otros factores. El porcentaje de frutos obtenidos varía según la técnica utilizada. En esta investigación se compararon técnicas de manejo del polen antes y durante la polinización; así como de manejo de la flor polinizada, para obtener información que permita diseñar una técnica de cruzamiento que mejore la eficiencia de la polinización (EP), del cruzamiento (EC) y de la fecundación (EF). Los resultados mostraron que la polinización con polen fresco, colectado inmediatamente antes de la polinización, mejoró la eficiencia en la polinización al obtener 14.8% más de flores amarradas que la polinización con polen conservado a bajas temperaturas antes de ser usado en la polinización.

La polinización con polen fresco mejoró la eficiencia en el cruzamiento al obtener 14.8% más frutos cosechados, debido a que todas las flores amarradas llegaron a ser frutos cosechados. La polinización con polen fresco mejoró la eficiencia en la fecundación al obtener 12.6% más de semillas totales, que la polinización realizada con polen conservado a baja temperatura. Las técnicas de manejo del polen durante la polinización y las técnicas de cubrimiento de la flor polinizada estudiadas en este trabajo, no tuvieron ningún efecto sobre los índices de eficiencia basados en número de flores amarradas, frutos cosechados, semillas por fruto y semillas totales.

Palabras Clave: *Capsicum*, Chile Serrano, Cruzamientos, Polinización.

INTRODUCCIÓN

En el mejoramiento genético de Chile (*Capsicum annuum* L) juega un importante papel el 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 endocria y selección.

¹ Depto. de Fitomejoramiento, Univ. Aut. Agraria A. Narro, Ex Hacienda de Buenavista, C.P. 25315, Saltillo, Coahuila. (gmartin@uaaan.mx).

² Campo Experimental del Sur de Tamaulipas (CESTAM), CIRNE-INIFAP. Estación Cuauhtémoc, Tams.

El mejoramiento genético de los tipos raciales de Chile consiste, tradicionalmente, en hacer cruces entre líneas élite o variedades comerciales, siguiendo el esquema de hibridación, endocria y selección (Pozo y Ramírez, 1999), conocido como selección genealógica (Márquez, 1992) o método de pedigrí (Brauer, 1969). Algunos mejoradores de Chile han explorado, eventualmente, esquemas poblacionales de mejoramiento combinados con esquemas tradicionales, que les ha permitido incrementar la eficiencia de sus programas, en la obtención de nuevas variedades (Pozo y Ramírez, 1999).

El Chile pertenece a la familia de las Solanáceas, 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 de los progenitores, probablemente debido a corta vida del polen, vulnerabilidad de estigma y estilo al manejo durante la polinización, entre otros factores. 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). Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue obtener información empírica experimental que permita diseñar una técnica de cruzamiento que mejore la eficiencia en la obtención de progenies por cruzamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en invernadero en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, Coahuila en el año 2003, en tres experimentos. En el primer experimento se utilizaron las variedades de Chile serrano Gigante Ébano, Tampiqueño 74, Paraíso y las líneas experimentales Chiser 16-34 y Chiser P8-60. En el segundo experimento se incluyeron los materiales Tampiqueño 74, Paraíso y Chiser 16-34 del experimento anterior. En el tercer experimento participaron las variedades Don Pancho, Don Benito y Criollo Chiapas Largo y las líneas experimentales Chijal 10-19 y Chijal EB-13 de Chile Jalapeño.

En el primer experimento el trabajo consistió en la aplicación de técnicas de manejo del polen antes y durante la polinización, además de técnicas de manejo de la flor polinizada:

Manejo del Polen antes de la polinización.

Conservación en refrigeración por 24 horas antes de polinizar.

Polinizar directamente inmediatamente después de coleccionar el polen.

Manejo del polen durante la polinización.

Polinizar con pincel de pelo.

Polinizar frotando el estigma sobre caja de petri o portaobjetos conteniendo el polen.

Manejo de la flor polinizada:

Sin cubrir.

Cubierta con papel cebolla

Cubierta con cinta seporex.

En el segundo y tercer experimento el trabajo consistió en la aplicación de las técnicas de manejo del polen antes y durante la polinización del primer experimento: Con estas técnicas se generaron seis tratamientos mediante un factorial 2^3 , para el primer experimento, así como cuatro tratamientos mediante factorial 2^2 , para los experimentos segundo y tercero, los cuales se aplicaron en tres repeticiones de 100 flores, polinizadas con una mezcla de polen de los materiales participantes.

Con los datos obtenidos en los experimentos segundo y tercero sobre:

Número de flores polinizadas (NFP).

Número de flores abortadas (NFA).

Número de frutos caídos (NFC).

Número de semillas por fruto (NSPF).

Se estimó la eficiencia de las técnicas (tratamientos) a través de las variables siguientes:

Eficiencia en la polinización:

$$EP = \frac{NFP - NFA}{NFP} \times 100$$

Eficiencia en la fecundación:

$$EF = \frac{NSPF}{NFP - NFA} \times 100$$

Eficiencia en el cruzamiento:

$$EC = \frac{NFP - NFC}{NFP} \times 100$$

Eficiencia combinada de la técnica de cruzamiento:

$$ECT = \frac{EP + EF + EC}{3}$$

Eficiencia relativa de las técnicas:

$$ERT = \frac{EP}{3ECT} + \frac{EF}{3ECT} + \frac{EC}{3ECT}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento No.1.

Los resultados mostraron que al usar polen refrigerado por 24 horas en un refrigerador doméstico, a temperatura promedio de 9 °C, incrementa la caída de flores polinizadas en 27.6% en comparación con el uso de polen fresco colectado inmediatamente antes de la polinización; en consecuencia, polinizar con polen fresco incrementa el número de frutos cosechados, en esa misma proporción (Cuadro 1). Las técnicas de polinización con pincel de pelo o sosteniendo el polen en cubre objeto; así como las técnicas de protección de la flor polinizada, no tuvieron efectos estadísticamente significativos sobre la caída de frutos y, consecuentemente, sobre el número de frutos cosechados (Cuadro 1).

Los resultados de este primer experimento, no mostraron efectos de interacción entre las técnicas evaluadas de conservación del polen, de polinización y de protección de la flor polinizada, sobre la caída de flor y fruto cosechado.

Cuadro 1. Efectos de las técnicas de conservación del polen, de polinización y de protección de la flor polinizada, sobre la caída de flor y frutos cosechados en Chile Serrano.

Técnica	Flores Caídas (%)	Frutos Cosechados (%)
Fresco	59.2	a ¹
Refrigerado	86.8	b
Pincel	77.2	a
Porta objetos	68.8	a
Sin Cubrir	76.0	a
Con Papel	74.0	a
Con Cinta	69.0	a

¹ medias con la misma letra son estadísticamente iguales, dentro de las variantes de cada técnica, al 0.05 de probabilidad

Experimento No. 2.

Los resultados del experimento 2 mostraron que la conservación del polen a bajas temperaturas tuvo un efecto desfavorable sobre el número promedio de flores amarradas, en un promedio de 14.7%, lo cual se tradujo finalmente en número mayor de semillas totales (322 más), aún cuando no impactó significativamente el promedio de frutos, el cual solamente se incrementó en un promedio de 3.3 semillas (Cuadro 2).

Esta diferencia en número de flores amarradas es importante, debido a que, si bien en la literatura se reporta que la conservación del polen a bajas temperaturas alarga su viabilidad y vida útil (Crane et al., 1974; Greenleaf, 1986; Smith, 1957), los resultados de este trabajo señalan que en Chile no mejora su eficiencia en los cruzamientos, respecto a evitar que las flores polinizadas caigan a los pocos días de la polinización.

Este resultado es importante también ya que indica que para tener una eficiencia mejorada en el número de flores polinizadas que no abortan, no se requiere dedicar tiempo y equipo de laboratorio adicionales, necesarios para la conservación del polen a bajas temperaturas, sino simplemente polinizar con polen recién colectado inmediatamente antes de la polinización, y tiene especial importancia en términos de los objetivos del fitomejorador durante la fase de cruzamientos en un programa de mejoramiento de Chile Serrano, en tanto que parece indicar que el número de semillas por fruto es independiente del número de frutos cosechados a la madurez comercial.

Un análisis de correlación simple mostró que, efectivamente, el número de semillas por fruto es independiente del número de frutos cosechados ($r = -0.108$); en cambio el número total de semillas depende del número de frutos que se cosechan ($r = 0.618^*$).

Por otra parte, las técnicas de manejo del polen durante la polinización no mostraron efecto significativos en las variables estudiadas, lo que significa que la caída o aborción

de flores a los pocos días de ser polinizada no está relacionada con las diferencias entre las técnicas de polinizar con pincel de pelo o frotando el estigma con polen sostenido en porta objetos (Cuadro 2). Es decir, el mejorador tiene la libertad de elegir la técnica de manejo del polen durante la polinización, que mejor se acomode a sus necesidades y recursos.

Cuadro 2. Efecto de las técnicas de conservación del polen y de polinización sobre las medias de Flores Caídas (FC), Frutos Cosechados (FRA), Semillas por Fruto (SPF) y Total de Semillas (ST) en chile Serrano.

Técnica	FC	FRA	SPF	ST
Polen Fresco	18.0a ¹	82.0a	69.85a	1431.5a
Polen Refrigerado	32.7b	67.3b	66.53a	1109.0b
Con Pincel	27.3a	72.7a	69.15a	1295.0a
Con Porta objetos	23.3a	76.7a	67.24a	1245a
DMS(0.05) ¹	8.8	8.8	8.46	272.51

¹ medias con la misma letra son iguales al 0.05 de probabilidad.

La interacción entre las técnicas de conservación del polen antes de la polinización y las de manejo del polen durante la polinización, mostraron efectos complejos, de tal manera que el polen fresco obtuvo mayor número de frutos amarrados que la técnica de conservación de polen refrigerado, por el contrario, al polinizar con porta objetos se obtienen mejores resultados con cualquier técnica de conservación de polen. Finalmente, queda claro que se obtiene mayor número de frutos amarrados polinizando con polen fresco sostenido en porta objetos. Para el caso de semillas por fruto y semillas totales, si se usa polen fresco se obtiene mejores resultados poliniza

Cuadro 3. Efecto de interacción de las técnicas de conservación del polen y de polinización sobre las medias de Flores Caídas (FC), Frutos Cosechados (FRA), Semillas por Fruto (SPF) y Total de Semillas (ST) en chile Serrano.

Técnica	Flores Caídas (%) DMS(0.05)= 3.7		Frutos Cosechados (%) DMS(0.05)= 3.7		Semillas por Fruto DMS(0.05)= 3.5		Total de Semillas DMS(0.05)= 113.1	
	Pin cel	Porta Objetos	Pinc el	Porta Objetos	Pinc el	Porta Objetos	Pinc el	Porta Objetos
Polen Fresco	22.1a ¹	14.8a	78.9a	85.2a	66.8b	72.84a	1311.3b	1551.6a
Polen Refrigerado	33.2b	32.0b	66.8b	68.0b	71.42a	61.64c	1179.0c	1039.0d

¹ medias con la misma letra son iguales al 0.05 de probabilidad.

Experimento No. 3

Los resultados del experimento tres, con chile Jalapeño, mostraron que no hubo diferencias significativas entre las técnicas de manejo del polen durante la polinización, en todas las variables estudiadas, lo que coincide con los obtenidos en los experimentos uno y dos; sin embargo, al usar polen refrigerado se obtuvieron mejores resultados para todas las variables, excepto en semillas promedio por fruto en la cual se esperarían resultados estadísticamente iguales usando indistintamente polen fresco o refrigerado (Cuadro 4). Como ocurrió en los experimentos anteriores, el número promedio de semillas por fruto no depende de las técnicas de manejo del polen antes de la polinización.

Es decir, para obtener mayor número de semillas, el mejorador deberá incrementar el número de flores polinizadas, más bien que esperar un incremento en el número de semillas por fruto, como resultado de la aplicación de estas técnicas. Los resultados mostrados en el Cuadro 2 están enfáticamente en contraposición a los resultados obtenidos, en este experimento tres, con el uso de las técnicas de manejo del polen antes de la polinización, en tanto que el uso de polen fresco colectado inmediatamente antes de la polinización, produjo los mejores resultados, en general (Cuadro 4), lo cual puede ser atribuido a las propiedades germoplásmicas del tipo racial jalapeño, caracterizado por su poca manipulación y mejoramiento genético, así indicado por su gran diversidad expresada en la existencia de subtipos raciales (Casseres, 1984) con ciertos grados de aislamiento reproductivo (Pickergill et al., 1979).

Cuadro 4. Efecto de las técnicas de conservación del polen y de polinización sobre las medias de Flores Caídas (FC), Frutos Caídos (FRC), Frutos Cosechados (FRA), Semillas por Fruto (SPF) y Total de Semillas (ST) en chile Jalapeño.

Técnica	FC	FRA	SPF	ST
Polen Fresco	72.0b ¹	28.0b	70.3a	860.5a
Polen Refrigerado	50.8b	49.2a	70.2a	478.2b
Con Pincel	67.2a	32.8a	64.4a	519.5a
Con Porta objetos	55.2a	44.8a	76.1a	819.2a
DMS(0.05) ¹	13.2	13.2	14.6	324.2

¹ medias con la misma letra son iguales al 0.05 de probabilidad.

Los efectos de interacción entre las técnicas de conservación y aplicación del polen, mostraron que la mejor combinación fue usar polen refrigerado sostenido en porta objetos y aplicado frotando el estigma sobre este, para la mayoría de las variables estudiadas. Solamente semillas por fruto mostró efectos de interacción completamente cruzados, indicando que si se usa polen fresco, es mejor aplicarlo con porta objetos; pero si se usa polen refrigerado, es indistinto aplicarlo con pincel o porta objetos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto de interacción de las técnicas de conservación del polen y de polinización sobre las medias de Flores Caídas (FC), Frutos Cosechados (FRA), Semillas por Fruto (SPF) y Total de Semillas (ST) en chile Jalapeño.

Técnica	Flores Caídas (%) DMS(0.05)= 12.0		Frutos Cosechados (%) DMS(0.05)= 12.0		Semillas por Fruto DMS(0.05)= 6.9		Total de Semillas DMS(0.05)= 152.9	
	Pincel	Porta Objetos	Pincel	Poeta Objetos	Pincel	Porta Objetos	Pincel	Porta Objetos
Polen Fresco	68.0 ₁ ^b	76.0 ^b	32.0 ^b	24.0 ^b	56.7 ^c	84.0 ^a	451.7 _b	504.7 ^b
Polen Refrigerado	66.8 ^b	33.2 ^a	34.8 ^b	62.5 ^a	72.2 ^b	68.3 ^b	587.3 _b	1133.7 ^a

¹ medias con la misma letra son iguales al 0.05 de probabilidad.

CONCLUSIONES

De los resultados y discusión de estos trabajos se llegó a las siguientes conclusiones:

1. La polinización con polen fresco, colectado inmediatamente antes de la polinización, mejoró la eficiencia en la polinización al obtener 14.8% más de flores amarradas que la polinización con polen conservado a bajas temperaturas, antes de ser usado en la polinización.
2. La polinización con polen fresco mejoró la eficiencia en el cruzamiento al obtener 14.8% más frutos cosechados, debido a que todas las flores amarradas llegaron a ser frutos cosechados.
3. La polinización con polen fresco mejoró la eficiencia en la fecundación al obtener 12.6% más de semillas totales, que la polinización realizada con polen conservado a baja temperatura.
4. Las técnicas de manejo del polen durante la polinización y las técnicas de cubrimiento de la flor polinizada estudiadas en este trabajo, no tuvieron ningún efecto sobre los índices de eficiencia basados en número de flores amarradas, frutos cosechados, semillas por fruto y semillas totales.
5. La interacción entre las técnicas de conservación del polen antes de la polinización y las de manejo del polen durante la polinización, mostraron efectos complejos, de tal manera que el polen fresco obtuvo mayor número de frutos amarrados que la técnica de conservación de polen refrigerado, por el contrario, al polinizar con porta objetos se obtienen mejores resultados con cualquier técnica de conservación de polen. Finalmente, queda claro que se obtiene mayor número de frutos amarrados polinizando con polen fresco sostenido en porta objetos. Para el caso de semillas por fruto y semillas totales, si se usa polen fresco se obtiene mejores resultados polinizando con porta objetos; pero si se usa polen refrigerado es mejor polinizar con pincel.

BIBLIOGRAFÍA

1. Casseres, E. 1984. Producción de Hortalizas. 3a. Edición, Editorial Lica. San José Costa Rica.
2. Greenleaf, H. Walter. 1986. Pepper Breeding. Edited by Mark J. Cbassett. Vegetable Crops Department, University of Florida. Gainesville, Florida. AVI Publishing Company, INC., Westport, Connecticut.
3. Márquez S., F. 1991. Genotecnia Vegetal. Métodos, Teoría, Resultados. AGT Editor, México, D. F., México. Tomo II. 458 p.
4. Pickergill, B., C. B. Heiser y J. McNeill, 1979. Numerical taxonomic studies on variation and domestication in some species of Capsicum. In: Hawkes, J. G., R. N. Lester and A. D. Selding (Ed.) The Biology and taxonomy of Solanaceae. Academic Press. N. Y. pp: 679-700.
5. Pozo C., O. y M. Ramírez M. 1994. Gigante Ébano y Paraíso. Nuevas variedades de chile serrano en México. Folleto Técnico No. 10. CESTAM-CIRNE-INIFAP
6. Ramiro, C. A. 1986. Cruzamiento Artificial en Chile (*Capsicum annum* L.). Tesis de M.C. Colegio de postgraduados, Montecillos, México.