



Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dirección de Investigación

Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Fitomejoramiento
Tema estratégico (ANA/PEP):					
Línea de investigación: Fitosanidad Sustentable I. Mejoramiento Genético para resistencia a Enfermedades					
Título del proyecto: Caracterización y Efectos Genéticos de accesiones Sobresalientes en germoplasma de Chile piquín (<i>Capsicum annuum</i> var. <i>Aviculare</i> L.)					
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)			El proyecto es: <input type="checkbox"/> Nuevo <input checked="" type="checkbox"/> Continuación		
Tipo de investigación:		<input type="checkbox"/> Básica	<input type="checkbox"/> Aplicada	<input checked="" type="checkbox"/> Tecnológica	e-mail del responsable: Alfopezbe_2000@hotmail.com
Vinculación:	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> x	Fondos concurrentes: Insumos agrícolas, terreno, Trabajo de campo, Supervisión			
Cooperante(s): MC. Moisés Ramírez Meraz, Dr. Rodolfo Velázquez Valle					
Entidad (es): Coahuila, Zacatecas Municipio (s):					
Localidades: UAAAN,					
A realizar durante el(los) año(s): 2018-2020					

Participantes	Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma
Responsable	Dr. Alfonso López Benítez	3615	797
Colaborador:	Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo	3615	3268
Colaborador:	Dr. Miguel Ángel Pérez Rodríguez	3614	4104
Colaborador:	Dra. Francisca Ramírez Godina	3615	1145
Colaborador:	Dr. Sergio Alfredo Rodríguez Herrera	3615	893
Colaborador:	Dr. Rodolfo Velázquez Valle	Externo	
	Grado por obtener	Matrícula	Firma
Tesista:	Juan Samuel Guadalupe Jesús Alcalá Rico	41091300	
Programa Docente:	Doctorado en Ciencias en Recursos Fitogenéticos para Zonas Áridas		
Tesista:			
Programa Docente:			
Tesista:			
Programa Docente:			

Vo. Bo.		Autoriza	
Firma y sello			
Nombre	Dr. Alfonso López Benítez Jefe de Departamento	Nombre	Dr. Armando Robledo Olivo Subdirector de Programación y Evaluación

• Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

Título del proyecto

Caracterización y efectos genéticos de accesiones sobresalientes en germoplasma de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *Aviculare* L.)

no cultivado

Introducción

Entre los cultivos hortícolas de mayor demanda e importancia económica a nivel mundial se encuentra el chile (*Capsicum* spp.). Éste es uno de los géneros más valiosos de la familia Solanaceae. El consumo se destaca por su constante incremento anual; se estima que el 25% de la población mundial ingiere diariamente alguno de sus tipos. El chile piquín forma parte del acervo cultural de México, en particular, es muy reconocido en el noreste. La planta es muy rentable, ya que produce una gran cantidad de frutos la mayor parte del año. Uno de los factores que afectan su sustentabilidad es la forma en que se recolectan los frutos la cual daña a toda la planta causando erosión genética. En esta cuestión la mejor alternativa es establecer las bases genéticas para el aprovechamiento de los recursos, siendo esto posible si se conocen sus características y potencial genético, por medio de caracterización morfológica y utilizando como una herramienta a los marcadores moleculares, para decidir que métodos de mejoramiento utilizar, en la obtención aquellos genotipos que muestren características sobresalientes de interés agronómico, los cuales al ponerlos a la disposición de los productores pueden evitar pérdidas de esta especie silvestre y haya una mejor conservación de este recurso genético.

Objetivos

Objetivo general

- Determinar la caracterización morfológica además de estimar los parámetros genéticos involucrados en las variables de interés agronómico y fisiológico para identificar genotipos sobresalientes de chile piquín.

Objetivos específicos

- Determinar la variabilidad morfológica de las colectas
- Determinar ACG, ACE y heterosis
- Determinar la relación de la distancia genética con el vigor híbrido

Hipótesis

- De acuerdo al origen geográfico de las accesiones se tendrán diferencias en la conformación morfológica y efectos genéticos.
- La distancia genética esta correlacionada positivamente con la heterosis y al menos un material presentará buenas características agronómicas y fisiológicas.

Revisión de Literatura

El país de México presenta extensas regiones de zonas áridas y semiáridas, que cubren el 54.3% de su superficie total. Donde las condiciones adversas que se tienen en estas zonas entre ellas temperaturas extremas, la poca disponibilidad de agua y la salinidad limitan la producción sostenida. A pesar de esto se producen diversas especies de plantas de interés económico que presentan una demanda comercial prometedora como el chile piquín *Capsicum annuum* var. *Aviculare* L. (Medina *et al.*, 2000) el cual es una especie altamente preferida entre los consumidores (30 a 37 %), a niveles similares que el jalapeño (33 a 37 %) (Rodríguez-del Bosque, 2004) y prácticamente toda la producción que capta el mercado nacional e internacional proviene de poblaciones naturales silvestres. Se encuentra ampliamente difundida en todo el país, es una planta silvestre adaptada a ecosistemas diversos uno de ellos es en las zonas áridas de muy poca precipitación en estados del norte de México y sur de Estados Unidos. Sin embargo, uno de los factores que afectan tanto su productividad como conservación son las prácticas de cosecha que se realizan cortando las ramas, lo que daña la planta; se cosechan indiscriminadamente desde frutos maduros (rojos) hasta frutos en desarrollo, inmaduros. Por la demanda cada vez más creciente y la forma tradicional de corta de chile piquín en el monte que daña la planta madre lo que disminuye su capacidad productiva y regenerativa, provocando erosión genética de las poblaciones, la alternativa más apropiada es la generación de variedades mejoradas genéticamente y que los productores puedan hacer uso de ellas con la finalidad de conservar la diversidad genética y evitar daños a la flora silvestre.

Sabiendo que las áreas de tierra cultivables se mantienen relativamente fijas y que la población humana crece constantemente, es necesario aprovechar los recursos fitogenéticos y ello sólo es posible si se conocen sus características y posibles usos para la aceptación por el consumidor y la disminución del volumen de pérdidas por cosecha (Vallejo *et al.*, 2002; Zambrano, 2005). La caracterización y la evaluación son actividades que consisten en describir los atributos cualitativos y cuantitativos de las accesiones de una misma especie para diferenciarlas, determinar su utilidad, estructura, variabilidad genética, y localizar genes de importancia en el mejoramiento de cultivos (Jaramillo y Baena, 2000).

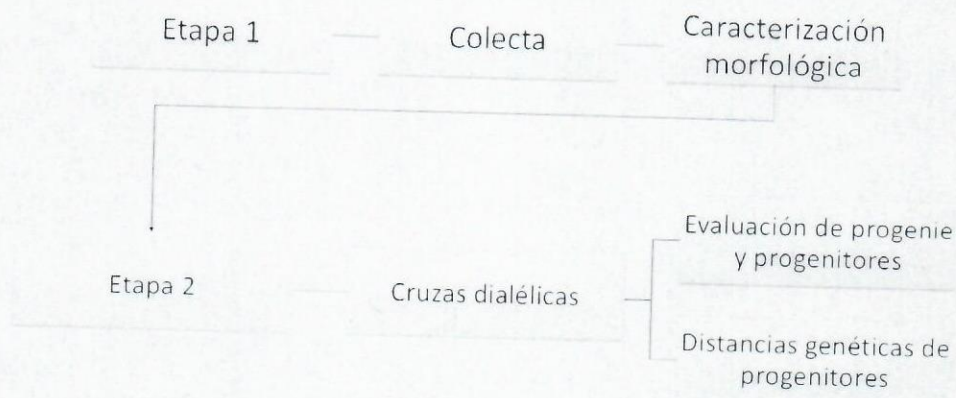
El mejoramiento genético es la base de incrementos relativamente rápidos y de bajo costo en la productividad de los cultivos. Su éxito descansa en saber elegir dentro del germoplasma disponible, individuos que ofrezcan las mejores expresiones de las características de interés, siendo requisito para lograr el objetivo que exista variación genética. La varianza genética en los grupos germoplásmicos puede ser estimada de varias formas, es decisión del fitomejorador elegir la estrategia más conveniente con base en sus posibilidades (Hallauer y Miranda, 1981). En Chile se ha explotado la heterosis por medio de cruza para incrementar el rendimiento y otros caracteres de importancia económica (Seneviratne y Kannangara, 2004), además de que se considera que en *Capsicum* la heterosis es alta (De Souza y Maluf, 2003).

En el mejoramiento genético los marcadores moleculares, constituyen una herramienta útil para el estudio de la diversidad genética entre especies de *Capsicum*, debido a que son una técnica poderosa para la identificación de variaciones en la secuencia de ADN entre individuos (Venkatachalam *et al.*, 2008). De acuerdo con Castañón-Najera *et al.* (2011) mencionan que utilizando marcadores AFLP en *Capsicum spp.*, los parámetros genéticos estimados manifestaron existencia de dominancia en relación a las distancias genéticas obtenidas con los fragmentos de ADN.

En este trabajo se propone la utilización de colectas de Chile piquín con la finalidad de establecer bases genéticas para un programa de mejoramiento genético por medio de la caracterización morfológica, patógenos asociados al cultivo, características de importancia agronómica y fisiológica, así como el indicio de potencial genético tanto de colectas como de sus cruza, que cuenten con mayor productividad, calidad de fruto, adaptabilidad y uso eficiente del agua.

Procedimiento Experimental

El presente trabajo de investigación se llevará a cabo durante el periodo 2017-2019, en dos etapas.



Etap 1

Accesiones

Se utilizarán 10 accesiones de seis estados de México, proporcionadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Tampico, Tamaulipas. Las accesiones se seleccionarán por su buen porte, sanidad, calidad y buena carga de frutos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Accesiones de Chile piquín utilizadas en experimentos

Colecta	Origen	Coordenadas	Altitud (msnm)	Clima	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)
---------	--------	-------------	----------------	-------	------------------	--------------------

1	Castaños, Coahuila	26°45'N 101°29'O	804	Seco semicálido	20-22	300-400
1	Ixhuatlán de Madero, Ver.	20°49'N 98°05'O	260	Calido-extremoso	18	436
1	Ixhuatlán de Madero, Ver.	20°49'N 98°05'O	260	Calido-extremoso	18	436
1	Ixhuatlán de Madero, Ver.	20°41'N 98°00'O	260	Calido-extremoso	18	436
1	Villaldama, N.L.	100°25'N 26°30'O	418	Templado	25	500
1	Aramberri, N.L.	24°06'N 99°49'O	1956	Templado	20-30	488
1	Linares, N.L.	24°51'N 99°34'O	356	Semicálido subhúmedo	22	749
1	San Carlos, Tamaulipas	24°35'N 98°56'O	432	Semiárido	25 5	700
1	Burgos, Tamaulipas	24°57'N 98°47'O	193	menos seco de los esteparios y muy cálido con presencia de canícula, extremo	23 5	500-600
1	Rioverde, San Luis Potosi	21°55'N 99°59'O	998	Semiseco, semicálido, seco semicalidoa	21	480

Siembra en charolas

El número de semillas por colecta dependerá de las plántulas necesarias para cada experimento. Las plántulas serán trasplantadas a los diferentes experimentos y el acomodo será de acuerdo al diseño a utilizar, cuando tengan una altura de 15 cm y cuatro hojas verdaderas.

Caracterización morfológica

La caracterización morfológica se efectuará en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Saltillo, Coahuila, simulando el hábitat silvestre en que se desarrolla, utilizando un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones, la unidad experimental constará de 8 plantas, sembradas a 1 m entre surcos y 0.35 m entre plantas. Cada una de las colectas se caracterizará con base en los descriptores para *Capsicum* propuestos por el IBPGR (1983). Se seleccionarán 21 descriptores (15 cualitativos y 6 cuantitativos) con el criterio de ser altamente discriminantes (García, 2006).

Variables de respuesta para caracterización morfológica

Caracteres de la planta

- Altura de planta
- Cobertura de la planta
- Hábito de crecimiento

Caracteres de tallo

- Pubescencia
- Color

Caracteres de fruto

- Forma del margen del cáliz
- Color del fruto
- Longitud del fruto
- Forma del fruto
- Peso de frutos
- Número de frutos

Caracteres de las flores

- Manchas en la corola
- Posición del pedicelo en antesis

Caracteres de la hoja
➤ Pubescencia

Caracteres de semilla
➤ Color de semilla

- Forma del fruto a final de cosecha
- Caracteres agronómicos**
➤ Días a Floración
➤ Días a Fructificación

Etapa 2

Cruzamientos dialélicos

Se realizarán cruzamientos dialélicos en invernadero No. 7 de la UAAAN, Saltillo, Coahuila, utilizando el método II de Griffing modelo 1, con 10 genotipos de *Capsicum annuum* var. *Aviculare* L. bajo un diseño de progenitores apareados, se plantarán 3 plantas por colectas en macetas.

Evaluación de progenie y progenitores

Se realizará a campo abierto, bajo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, la unidad experimental constará de parcelas de dos surcos de 3 m de longitud, 1 m entre surcos y 0.35 m entre plantas. La evaluación se efectuará en dos localidades: en la UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila y en Paredón, Ramos Arizpe, Coahuila, con coordenadas 25° 56'N, 100° 56'O y altitud 770 msnm, el clima predominante es seco semicálido y templado, presenta una temperatura media anual que oscila entre los 14°C y 18°C.

Variables de respuesta para la evaluación de progenie y progenitores

Variables agronómicas

- Días a floración
- Días a cosecha
- Numero de frutos
- Peso promedio de frutos
- Rendimiento

Variables fisiológicas

- Fotosíntesis en μmol de CO_2 atmosférico fijado, por metro cuadrado de hoja por segundo, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.
- Transpiración en moles de H_2O transpirados, por metro cuadrado de hoja por segundo, $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.
- Conductancia estomatal en $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.
- CO_2 intercelular en ppm.
- Resistencia estomática en s cm^{-1}
- Uso Eficiente del Agua: relación de Fotosíntesis y Transpiración

Las variables fisiológicas se realizarán con el fotosintetómetro portátil LI-6200.(LI-Cor, Inc., 1990).

Distancia genética en progenitores

Se efectuará en el Cinvestav, Irapuato, Gto, utilizando el kit propuesto por Castañón-Najera et al. (2011)

Análisis estadístico

En la caracterización morfológica, para caracteres cuantitativos se realizará un análisis estadístico descriptivo. En caracteres cualitativos se realizará un análisis de frecuencias estudiado además de un agrupamiento con base en la distancia de Dice. Se estimará ACE, ACG, heterosis, así como los componentes de varianza de acuerdo al diseño dialélico utilizado. Se realizará el análisis de componentes principales donde estén incluidos sitios y genotipos además de variables con genotipos, para después proceder a visualizarlo mediante un biplot. En experimento de cruza dialélicas también se analizará a través del ANVA de acuerdo al diseño utilizado. En los casos donde haya diferencias estadísticas en tal o cual efecto del modelo, se realizará una prueba de medias de rango múltiple de Tukey, $\alpha = 0.05$.

Los datos de bandas o fragmentos de AFLP serán analizados utilizando un análisis de varianza (ANVA). El cálculo de las distancias genéticas se realizará con el método de Dice y se graficará por medio del dendrograma para comparar la relación entre padres. Todos los análisis se realizarán a través de Software R.

Cronograma de actividades.

Actividades (2017)	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Revisión de literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Elaboración de anteproyecto	X	X	X	X	X							
Presentación de anteproyecto						X						
Colectas							X	X				
Siembra de colectas									X			
Caracterización morfológica									X	X	X	X
Manejo de experimentos						X	X	X	X	X	X	X
Toma de datos agronómicos										X	X	X
Actividades (2018)												
Caracterización morfológica	X	X	X									
Realización de cruzas (Método 2 de Griffing)		X										
Cosecha y tratamiento de semilla F ₁			X									
1er Siembra de cruzas dialélicas				X								
2° siembra de cruzas dialélicas					X							
Manejo de experimentos	X	X	X	X	X							
Toma de datos agronómicos				X	X	X	X	X	X	X		
Análisis de datos				X	X						X	X
Realización de artículo					X	X	X					
Estancia en Cinvestav								X	X	X	X	
Obtención de distancias genéticas								X	X	X	X	
Actividades (2019)												
Análisis de datos	X	X	X									
Realización de artículo				X	X	X	X					
Elaboración de tesis								X	X	X	X	
Presentación de examen de grado												X

5.-Productos esperados

Tesis nivel doctorado
Un artículo publicado
Una ponencia en congreso
Tener al menos una colecta que tenga las características de interés

6.-Literatura citada

Castañón-Najera, G., Ramírez-Meraz, M., Ruiz-Salazar, R., y Mayek-Perez, N. (2011) Aplicación de marcadores AFLP para explorar heterosis en *Capsicum spp.* *Phyton (Buenos Aires)*, 80(1), 53-58.

De Souza, J. A. and Maluf, W. R. (2003) Diallel analysis and estimation of genetic parameters of hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *Sci. Agric.* 60:105.

Dellaporta, S. L., T. Woods and J. B. Hicks (1983) A plant DNA miniprep. Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1: 19-21.

GARCÍA, M. A., BAENA, D., VALLEJO, F. (2006) Estudio de la diversidad genética de las accesiones de *Capsicum spp.* del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira. p 102.

Griffing, B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian J. Biol. Sci.* 9(4), 463-493.

FAOSTAT (2012) Modulo comercio. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>

- Hallauer, A. R. and Miranda, J. B. (1981) Quantitative genetics in maize breeding. Second Edition. Iowa State University Press Amer. p. 102-111.
- Jaramillo, S., and Baena, M. (2000) Conservación ex situ de recursos fitogenéticos. Roma: *International Plant Genetic Resources Institute*.
- Medina, M. T., Villalón, M. H., Lara, V. M., Gaona, G. G., Trejo, H. L., y Cardona, E. A. (2000) **Informe Técnico de Proyecto**, SIREYES 95/111
- Nei, M. y W. H. Li (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 76: 5269-5273.
- Rodríguez-del Bosque, L. A. (2005) Preferencia del consumidor por el chile piquín en comparación con otros chiles en el noreste de México. *Nota Científica. Revista Chapingo Serie Horticultura* 11(2): 279-281.
- Seneviratne, K. G. S. and Kannangara, K. N. (2004) Heterosis, heterobeltiosis and commercial heterosis for agronomic traits and yield of Chilli (*Capsicum annum* L.). *Ann. Sri Lanka Depar. Agric.* 6: 195
- Sprague, G. F., and Tatum, L. A. (1942). General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *Agronomy Journal*, 34(10), 923-932.
- Vallejo, F. A. y Estrada, E. I. (2002) Mejoramiento genético de plantas. Palmira Universidad Nacional de Colombia. p. 9-402
- Venkatachalam, L., Sreedhar, R. V., Bhagyalakshmi, N. (2008) The use of genetic markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and phylogenetic relationships among banana cultivars. *Mol Phylogenet Evol.* 47:974-985.
- Vos, P., Hogers, R., M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper y M. Zabeau (1995) AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4405-4414.
- Zambrano, G. M., González, J. R. A. D., Meraz, M. R., de la Rosa Loera, A. y Campodónico, O. P. (2005) Efectos genéticos y heterosis en la vida de anaquel del chile serrano. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(4), 327-332.