

PERSPECTIVAS DEL MEJORAMIENTO GENETICO Y LA PROPAGACION IN VITRO EN EL CULTIVO DE CHILE (*Capsicum spp*)

José de Jesús Luna Ruiz¹ y Otilio Vásquez Martínez²
Programa de Investigación Agrícola

INTRODUCCION

En este documento se presenta una panorámica sobre la situación actual del cultivo de chile (*Capsicum spp*) en nuestra región, su importancia histórica, económica y socio-cultural, así como la problemática de producción del cultivo y las posibles alternativas de solución. El objetivo fundamental de este documento es analizar y discutir dos propuestas de investigación encaminadas a resolver parte de la problemática del cultivo en la región. Las propuestas de investigación que se presentan son: (1) el establecimiento de un programa de mejoramiento genético basado en el uso de androsterilidad, y (2) el desarrollo de metodologías para la producción intensiva de planta y la conservación de recursos genéticos a través de la propagación del cultivo *in vitro*.

El género *Capsicum*

El chile (*Capsicum spp*) es una de las contribuciones más importantes del continente americano a todo el mundo. Existen aproximadamente 5 especies cultivadas de chile (*Capsicum annum*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, y *C. pubescens*), las cuales muestran gran diversidad en cuanto a color, sabor, forma, tamaño y pungencia en el fruto (Heiser, 1981). De ellas, *C. annum* es la más ampliamente cultivada y la de mayor importancia económica en el mundo, ya que incluye los chiles tipo pimiento o dulces, y casi todos los de mayor pungencia como el jalapeño, serrano, ancho, pasilla, etc. El chile tabasco pertenece a la especie *frutescens*, y se considera el único miembro cultivado de esta especie. El chile habanero pertenece a la especie *chinense*, y el capon o manzano a la especie *pubescens*.

De acuerdo con Heiser (1981), todas las especies cultivadas y silvestres de chile estudiadas hasta la fecha son diploides ($2n = 2x = 24$), autocompatibles, y por regla general autógamas, aunque pueden ser polinizadas por insectos. Algunas especies silvestres son auto-incompatibles, mientras que otras son de polinización cruzada debido a una sobre-elongación del estilo. Se han reportado hibridaciones entre las especies *annum*, *baccatum*, *frutescens* y *chinense* con varios grados de fertilidad, lo cual podría aprovecharse para ampliar la base genética del cultivo en un programa de mejoramiento genético. Aunque la producción de poliploides en la especie *annum* no ha tenido importancia económica, se

han reportado haploides (Heiser, 1981) que podrían tener gran potencial en el mejoramiento genético del cultivo.

Importancia del Chile en México

En México, el cultivo del chile ha tenido gran trascendencia social, económica y cultural desde épocas prehispánicas. El chile junto con el maíz, el frijol y las calabazas, formaron la base de la alimentación de los antiguos pobladores en Mesoamérica. Es por ello que a esta región se le considera como uno de los centros de origen y domesticación del género *Capsicum*, y en particular de la especie *annum*. En México, el chile se cultiva desde el nivel del mar en las costas del Golfo de México y del Pacífico, hasta los 2500 msnm en la Mesa Central cubriendo diferentes condiciones ecológicas (Laborde y Pozo, 1984). Los frutos son ricos en fibra y vitamina A y C, se consumen directamente en fresco y en seco, o procesados en salsas, polvo o encurtidos. Existen regiones especializadas en la producción comercial de ciertos tipos de chile. En la región del Golfo de México se cultivan los tipos serrano y jalapeño; en la región del Bajío predominan los anchos, mulatos y pasillas; en la Mesa Central se cultivan los de tipo poblano, miahualteco y carricillo; en el Pacífico Norte se cultivan los chiles de exportación como el dulce o bell, el Anaheim, el caribe y el Fresno; en la región del Norte se cultivan los tipos mirasol, ancho y jalapeño; en la Región Sur predominan los jalapeños, costeños y habaneros. A nivel nacional los chiles de mayor importancia son los anchos, los serranos, los mirasoles y los jalapeños, pues cubren el 75% de la superficie cultivada (Laborde y Pozo, 1984).

Problemática Regional del Cultivo

Aunque México figura como uno de los centros de domesticación del chile (Pickersgill, 1971), existe una gran confusión en cuanto a su clasificación debido probablemente a la gran diversidad y formas de propagación, conservación, etapas de cosecha, formas de consumo, usos, etc.

¹ PhD, Profesor-Investigador, Departamento de Disciplinas Agrícolas, Centro Agropecuario.

² Biólogo, Investigador Asociado, Departamento de Fitotecnia, Centro Agropecuario



Fig. 1.- La "marchitez" o "secadera" es el principal problema para la producción de chile a nivel regional. La variabilidad genética presente en los cultivares del productor puede ser aprovechada para el desarrollo de variedades resistentes a dicha enfermedad.

Los trabajos de mejoramiento genético se han enfocado principalmente al desarrollo de líneas puras de *C. annum* con resistencia a enfermedades, ya que debido al monocultivo, la mayoría de las regiones chileras presentan problemas fitosanitarios muy fuertes. Los problemas fitosanitarios de mayor importancia son la "marchitez del chile" o "secadera" causada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo y las enfermedades virales como el Virus Jaspeado del tabaco, el Virus Mosaico del pepino, el Virus Mosaico del tabaco, el Virus Mancha Anular del tabaco, y el Virus Y de la papa.

La marchitez es uno de los problemas más serios en el estado de Aguascalientes y en las regiones chileras de los estados vecinos. El problema se agudiza con la falta de rotación de cultivos en campos comerciales, con la escasez de semilla mejorada, y con el sistema deficiente para la producción de planta en el almácigo. La semilla para la siembra frecuentemente proviene de lotes comerciales con diferentes tipos de chile y contaminados con varios patógenos. La falta de control de calidad, sanidad y pureza en la producción y tratamiento de semilla da como resultado que la semilla disponible para siembra directa o almácigo sea heterogénea y contaminada por virus y patógenos.

Antecedentes del Mejoramiento Genético en Chile

En relación al problema de marchitez, existen reportes de resistencia genética a *P. capsici* en chile (Kimble and Grogan, 1960; Barksdale et al., 1984; Pochard and Daubeze, 1980; Smith et al., 1967; Alcántara and Bosland, 1994) en diferentes partes del mundo. Algunos estudios han mostrado que la resistencia a razas específicas de *P. capsici* es gobernada por dos genes dominantes independientes sin efectos aditivos (Polach and Webster, 1972; Smith et al., 1967) o bien, bajo

el control de un gen dominante con efectos de genes modificadores (Barksdale et al., 1984). Las fuentes de resistencia genética a *P. capsici* han sido utilizadas ampliamente en otros países, principalmente para el desarrollo de variedades mejoradas de chile tipo dulce.

En México los trabajos de investigación se han enfocado a los chiles de tipo pungente, en donde la introducción y selección de líneas puras han figurado como las principales estrategias de mejoramiento genético en este cultivo. Existen algunos híbridos y variedades comerciales actualmente distribuidos por compañías semilleras en algunas regiones chileras de importancia en México como el Pacífico Norte. Aunque tienen buena aceptación, los materiales mejorados han sido desarrollados en el extranjero e introducidos y distribuidos por las compañías semilleras en nuestro país. En el caso de los chiles de interés regional como el pasilla, ancho y mulato, actualmente no existen variedades mejoradas con resistencia a la marchitez. La falta de variedades resistentes, la falta de semilla sana, así como la ausencia de pureza genética en las variedades del productor, trae como consecuencia un incremento continuo en el problema de la marchitez en campos comerciales de la región.

Alternativas de Solución

La situación actual del cultivo, principalmente en la región Centro y Bajío del país demanda el desarrollo de híbridos y variedades comerciales de chile de alta calidad bajo las condiciones ambientales y socioculturales de la región en donde serían utilizadas. Se requieren variedades o híbridos de semilla sana, vigorosa y con buena calidad de germinación, de alta pureza genética, con resistencia a plagas y enfermedades, con buena calidad de fruto y con alto

potencial de rendimiento. Asimismo, es necesario contar con un sistema adecuado para la producción masiva de planta de alta calidad así como para la conservación de los recursos genéticos de interés. Las alternativas de solución que aquí se plantean son las siguientes:

- I.- La generación de un programa de mejoramiento genético en la región basado en el uso de androesterilidad.
- II.- El desarrollo de una metodología para la producción intensiva de planta y la conservación de recursos genéticos en base a la micropropagación del cultivo *in vitro*.

I.- Perspectivas del Mejoramiento Genético

El desarrollo de híbridos y variedades de excelencia requiere de un proceso controlado de carácter biológico y evolutivo, conocido como mejoramiento genético. El mejoramiento genético es una forma de evolución que depende de las mismas fuerzas que regulan el proceso evolutivo en poblaciones de especies silvestres, en donde la selección natural es reemplazada por la selección consciente y dirigida del fitomejorador. En general, el mejoramiento genético vegetal sigue dos etapas fundamentales:

- (1) la generación de variabilidad genética
- (2) la explotación de variabilidad genética

La generación y explotación de variabilidad genética se logra mediante diferentes técnicas y metodologías de mejoramiento genético. Por lo tanto, un programa regional para la formación de variedades e híbridos mejorados de chile debe contemplar la generación y explotación de variabilidad genética presente en el género *Capsicum*. La estrategia planteada para nuestra región contempla las siguientes etapas:

- (1) la colecta, evaluación y caracterización de germoplasma tanto regional como de introducción
- (2) la identificación, selección e hibridación de las líneas y cultivares más sobresalientes tanto en las colectas regionales como en los materiales de introducción
- (3) la selección, evaluación e hibridación de nuevas combinaciones bajo las condiciones propias de la región.

Se utilizarán dos fuentes de variabilidad genética, una a partir de colectas regionales y la otra a partir de material genético introducido. En esta etapa, se pretende rescatar los recursos genéticos disponibles en campos de productores bajo la premisa de que nuestra región tiene un historial importante en la producción de chile. Tradicionalmente después de la cosecha el productor ha seleccionado los mejores frutos con el fin de obtener semilla para el siguiente ciclo de cultivo. Esta práctica ha moldeado las poblaciones originales hasta llegar a los cultivares actuales del productor. Sin embargo, es evidente que las regiones chileras de México

se han caracterizado por una amplia variabilidad genética. Dicha variabilidad se mantiene vigente a través de hibridaciones relativamente aleatorias entre los diferentes genotipos que están presentes dentro y fuera de la parcela del productor. En este proceso, los vectores (insectos polinizadores) tienen una influencia muy importante en la hibridación entre genotipos diferentes. El intenso monocultivo es una práctica común que incrementa la población de enemigos naturales del cultivo (insectos, hongos, virus, etc.) en donde la selección natural favorece a las plantas que mejor se adaptan al ambiente. La habilidad de adaptación depende de factores genéticos presentes en la población o que surgen por recombinación genética y/o por mutaciones naturales. Los genes que confieren habilidad de adaptación como la tolerancia a factores bióticos (enfermedades, insectos, etc.) y a factores abióticos (sequía, heladas, deficiencias nutricionales, toxicidad mineral, etc.) son heredados generación tras generación. La variación genética presente en los cultivares del productor representa, por lo tanto, una fuente importante de genes para el fitomejorador.

Por otro lado y como consecuencia de la intensa presión de selección en los cultivares regionales del productor, existen varias características importantes en condición homocigótica como el tipo, apariencia y sabor del fruto. Dicha condición puede ser aprovechada por el fitomejorador cuando otros caracteres como la resistencia a enfermedades se encuentra en condición heterocigótica. Por ejemplo, la región de El Llano, Ags., se caracteriza por la producción de chile pasilla. Recientemente se ha observado que los cultivares del productor en esa región presentan gran diversidad en la reacción de las plantas al problema de marchitez. Aunque las características generales del fruto varían considerablemente en longitud, anchura y color entre plantas, es evidente que todas ellas mantienen fijo el tipo pasilla. La presencia de plantas con resistencia a la marchitez puede ser aprovechada para generar líneas puras a corto plazo. Lo anterior se puede lograr a través de la autofecundación de plantas resistentes del tipo pasilla con características que demanda el mercado.

En contraste con el caso anterior, los caracteres en estado homocigótico son indeseables cuando éstos representan una desventaja para el cultivo. Un ejemplo de este caso es cuando la susceptibilidad a una enfermedad es controlada por genes que se encuentran fijados en estado homocigótico en la población. La consecuencia sería la ausencia total de resistencia genética a la enfermedad. Existen algunas estrategias para generar variación en características homocigóticas indeseables. Las estrategias más usadas son:

- (1) la introducción de germoplasma externo que no esté emparentado con el germoplasma regional
- (2) la hibridación entre material no emparentado
- (3) la hibridación interespecífica
- (4) la inducción de mutaciones
- (5) la transformación a través del ADN recombinante

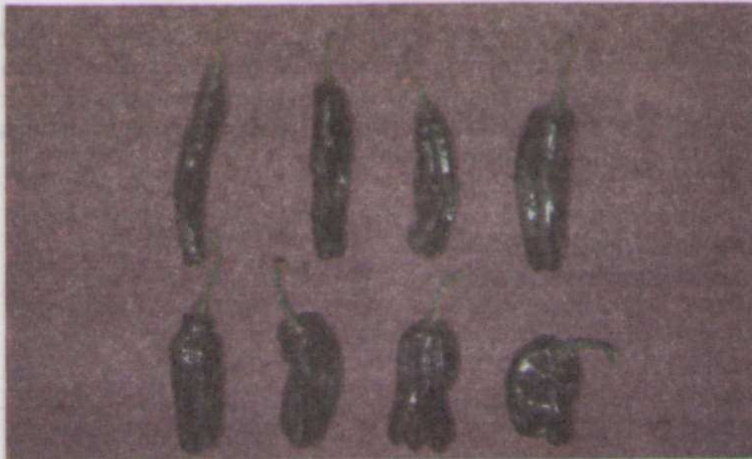


Fig. 2.- Aunque las características generales del fruto varían considerablemente en cuanto a longitud y anchura, es evidente que el tipo Pasilla se mantiene fijo en ciertos cultivares del productor, como se muestra en la foto.

Las estrategias planteadas contemplan la introducción de germoplasma externo, la hibridación entre material no emparentado, así como la hibridación interespecífica. Para ello se pretende evaluar y caracterizar una colecta del género *Capsicum* que incluye las especies *annum*, *frutescens*, *pubescens* y *chinense*, además de diversos tipos y cultivares de Chile provenientes de varios países. La colección incluye una fuente de androesterilidad genética (esterilidad masculina controlada por factores nucleares). La esterilidad masculina será estudiada y utilizada para facilitar las hibridaciones y de esta forma generar suficiente variabilidad genética para ser explotada a través de la selección en el proceso de mejoramiento. El estudio de la androesterilidad consistirá en determinar sus mecanismos de herencia y las alternativas para el mejor uso y mantenimiento del carácter. La inducción de mutaciones y la transformación genética a través de ADN recombinante son métodos alternativos que se emplean cuando la variabilidad genética para él o los caracteres de interés es reducida o nula en la especie que se pretende mejorar. Por lo tanto, dichas estrategias no están contempladas en esta primera etapa del programa, ya que la variabilidad genética presente en *Capsicum* spp no se ha explotado lo suficiente. El potencial genético presente en *Capsicum* spp puede ser explotado eficientemente a través de los métodos convencionales de mejoramiento genético.

II.- Perspectivas de la Propagación *in vitro*

Existe la necesidad de contar con metodologías más actualizadas para la propagación, conservación y manejo de material vegetativo. Al respecto, el productor chilero no tiene acceso a planta de buena calidad para el trasplante. Lo anterior se debe a la falta de un sistema de producción intensiva que permita la obtención de planta sana, vigorosa y con pureza genética. La conservación de la pureza genética en cierto germoplasma de interés particular (líneas heterocigóticas, mutantes raros, líneas con esterilidad genética o citoplásmica, haploides dobles, etc.) o de interés comercial (híbridos, líneas puras o variedades elite) es muchas

veces difícil cuando se hace en forma sexual o por semilla debido a los procesos de segregación y recombinación genética durante la meiosis y producción de gametos. En Chile, la conservación de pureza genética a través de autofecundaciones es muy difícil, ya que a pesar de ser una especie autógama, el porcentaje de polinización cruzada puede alcanzar niveles muy elevados por la acción de insectos polinizadores.

Una alternativa al problema de pureza genética en Chile es la propagación clonal, micropropagación o cultivo de tejidos *in vitro*, cuya meta es lograr la propagación de un genotipo selecto a través de técnicas de cultivo vegetativo *in vitro* (Debergh and Read, 1991). En la mayoría de los casos la micropropagación está asociada con producción de plántula, tejido o cierto meristemo de alta calidad en grandes cantidades a un precio competitivo. La micropropagación aplicada a cultivos hortícolas como Chile tiene un gran potencial debido a la creciente demanda de altas cantidades de planta con características específicas de calidad para el trasplante. Los protocolos de propagación vegetativa y/o cultivo de tejidos pueden variar en eficiencia con la especie, el genotipo y las condiciones ambientales y/o de manejo. Por ejemplo, George et al. (1987) reporta 22 medios para cultivo de tejidos en dos especies de Chile (*C. annum* y *C. frutescens*), sin embargo, a pesar de existir metodologías para el género *Capsicum*, se desconocen protocolos específicos para los tipos ancho, pasilla y mulato, de la especie *annum*, los cuales sobresalen por su importancia en la región Centro y Bajío. Por lo tanto, es necesario desarrollar metodologías o protocolos específicos o ajustar los ya existentes a la especie, al cultivar y/o a las condiciones propias de trabajo.

Una variante en la conservación y manejo de meristemas o clones es la "semilla artificial" o "semilla sintética". El usar clones en forma de semilla artificial tendría la gran ventaja de ser manejada, transportada, conservada y sembrada directamente en campo en grandes cantidades como semilla verdadera sin el riesgo de perder la pureza genética. Su potencial para la conservación, propagación y distribución de híbridos es incuestionable. Por ejemplo, el uso de semilla artificial en un programa de formación de híbridos con esterilidad citoplásmica evitaría la intensa y costosa labor que implica el mantenimiento e hibridación de líneas puras mantenedoras y restauradoras de fertilidad. El concepto de semilla sintética fue originalmente discutido por Toshio Murashige hace 18 años y llevado a la práctica como semilla sintética deshidratada por Kitto y Janick en Purdue, y como semilla sintética hidratada por Redenbaugh y colaboradores en Plant Genetics Inc., Davis, California. Varios de los conceptos originales de esta tecnología fueron también desarrollados por Walkery Lawrence (Redenbaugh, 1992). En general, se entiende por semilla artificial a la encapsulación de meristemas o tejido embrionario. El encapsulado sirve

como un endospermo sintético que contiene fuentes de carbono, nutrientes, reguladores de crecimiento, agentes anti-microbianos, etc. El encapsulado debe proteger al meristemo o embrión somático contra el daño mecánico que ocurre durante el manejo, pero debe permitir la "germinación" o conversión del embrión (a planta) sin inducir variaciones indeseadas. Existen dos tipos de encapsulado que han dado buenos resultados a nivel experimental en el desarrollo de semilla artificial: polioxietileno y alginato de sodio y calcio. Desafortunadamente, a la fecha, la siembra directa de semilla artificial en campo sólo ha tenido éxito en algunas especies como alfalfa (Redenbaugh, 1992). Aunque todavía existe mucho por investigar en esta área, particularmente en técnicas de conversión y en el desarrollo de materiales para encapsulación, se vislumbra un gran potencial, sobre todo para cultivos hortícolas.

La propuesta concreta en esta línea de investigación es evaluar dos tipos de técnicas de propagación clonal:

- (1) la micropropagación en medio de cultivo a partir de meristemos
- (2) el desarrollo de semilla artificial a través de la encapsulación de meristemos en alginato de sodio.

CONCLUSION

Es evidente que el cultivo de chile tiene gran importancia histórica, económica y sociocultural en México y particularmente en nuestra región. Desafortunadamente existen varios problemas de producción que han reducido en forma considerable la superficie sembrada y los rendimientos unitarios del cultivo en la región. Uno de los problemas más serios es la marchitez del chile causada por el hongo *P. capsici*. El problema de la marchitez se incrementa año con año a causa de varios factores como el intenso monocultivo, la falta de semilla mejorada, y el sistema deficiente para la producción de planta en el almacigo. La problemática del cultivo en la región requiere de soluciones concretas a corto y mediano plazo. Por lo tanto, existe la urgencia de iniciar una línea de investigación encaminada a resolver los problemas regionales de producción en Chile. Las perspectivas del mejoramiento genético y la propagación *in vitro* como alternativas de solución son bastante prometedoras. El análisis de las estrategias aquí planteadas sugiere que existe gran potencial para el desarrollo de variedades e híbridos mejorados. Las fuentes de variabilidad genética a utilizar garantizan por un lado, el rescate y aprovechamiento del potencial presente en los recursos genéticos regionales, y por otro lado, la incorporación de nuevos genes mediante la introducción de germoplasma proveniente de otras regiones del mundo. Asimismo, el uso de androesterilidad genética en el programa tendría sin duda un impacto considerable en la eficiencia del proceso de mejoramiento. El desarrollo de metodologías para la propagación *in vitro* promete grandes avances tanto en la conservación de los recursos genéticos como en la producción masiva de planta de alta calidad para fines comerciales.

Las propuestas de investigación aquí planteadas tienen el potencial para generar resultados a corto y mediano plazo. Sin embargo, dichas propuestas podrán concretarse cuando se reconozca la importancia de iniciar cuanto antes una línea de investigación en Chile.

BIBLIOGRAFIA

- Alcántara, T.P. and Bosland, P.W., 1994. *An inexpensive disease screening technique for foliar blight of chile pepper seedlings*. HortScience 29(10):1182-1183.
- Barksdale, T.H., Papavizas, G.C. and Johnston, S.A. 1984. *Resistance to foliar blight and crown rot of pepper caused by*. Plant Disease 68:506-509.
- Deberg, P.C. and P.E. Read., 1991. *Micropropagation. In Micropropagation Technology and Application*. P.C. Deberg and Zimmerman, R.H. (Eds.) Kluwer Academic Publishers.
- George E.F., Puttock, D.J.M., and George, H.J. 1987. *Formulations and uses*. Pp 43-44. In *Plant Culture Media*. Vol 1 Exegetics Limited, England.
- Heiser, C.B. 1981. *Peppers Capsicum (Solanaceae)*. Pp 265-268.
- Hwang, B.K. and Kim, C.H. 1995. *Phytophthora blight of pepper and its control in Korea*. Plant Disease 79(3):221-227.
- Kimble, K.A. and Grogan, R.G. 1960. *Resistance to Phytophthora root in pepper*. Plant Disease Report 44:872-873.
- Laborde, C.J.A. y Pozo, C.O. 1984. *Presente y pasado del chile en México*. SARH-INIFAP. México.
- Pickersgill, B. 1971. *Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus Capsicum)*. Evolution 25:683-691.
- Pochard, E. and Daubeze, A.M., 1980. *Rocherche et evaluation des composantes d'une resistance polygenique: la resistance du Piment à Phytophthora capsici*. Ann. Amélior. Plant 30:377-398.
- Polach, F.J. and Webster, R.K. 1972. *Identification of strains and inheritance of pathogenicity in Phytophthora capsici*. Phytopathology 62:20-26.
- Redenbaugh, K. 1992. *Introduction. In Synseeds: Applications of Synthetic Seeds to Crop Improvement*. K. Redenbaugh (Ed.) CRC Press.
- Smith, G.P., Villalón, B. and Villa, P.L. 1987. *Horticultural classification of peppers grown in the United States*. HortScience 22(1):11-13.
- Smith, P.G., Kimble, K.A., Grogan, R.G. and Milett, A.H. 1967. *Inheritance of resistance in pepper to Phytophthora root rot*. Phytopathology 57:377-379.
- Villalón, B. 1981. *Breeding peppers to resist virus diseases*. Plant Disease 65:557-562.
- Villalón, B. 1992. *Disease resistant jalapeño pepper breeding line evaluations: 1989*. Texas Agric. Exp. Sta. PR-4879. Texas A & M University, College Station, TX.
- Villalón, B. 1992. *Jaloro 'a new multiple virus resistant hot yellow jalapeño pepper*. Texas Agric. Exp. Sta. B-1709. Texas A & M University, College Station, TX.
- Villalón, B., Dainello, F.J. and Bender, D.A. 1994. *Jaloro 'hot yellow jalapeño pepper*. HortScience 29(9):1092-1093.