



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

**SELECCIÓN DE PROGENITORES DE CHILE
HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.) PARA LA
OBTENCIÓN DE HÍBRIDOS CON ALTO POTENCIAL
PRODUCTIVO**

Tesis que presenta

LAURA PATRICIA PEÑA YAM

En opción al título de

DOCTOR EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Opción Bioquímica y Biología Molecular)

Mérida, Yucatán, México

Enero 2020

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de LAURA PATRICIA PEÑA YAM titulado SELECCIÓN DE PROGENITORES DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.) PARA LA OBTENCIÓN DE HÍBRIDOS CON ALTO POTENCIAL PRODUCTIVO fue realizado en la UNIDAD DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE PLANTAS, GENÉTICA VEGETAL, LABORATORIO 9 del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección de la Dra. NANCY SANTANA BUZZY y la Dra. MARTA ÁLVAREZ GIL dentro de la opción de BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.
Atentamente.

Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, Enero de 2020

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma: _____

Nombre: M. C. LAURA PATRICIA PEÑA YAM

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE PLANTAS del Centro de Investigación Científica de Yucatán, y forma parte del proyecto titulado “Estudio sobre los factores bioquímicos, morfológicos y moleculares implicados en el desarrollo de la embriogénesis somática y su relación con la incapacidad del embrión somático del género *Capsicum* para su conversión en plantas *in vitro*”. Ciencia Básica. 602740001 en el que participaste bajo la dirección de la Dra. NANCY SANTANA BUZZY.

AGRADECIMIENTOS

Al CICY por darme la oportunidad de estudiar el doctorado en sus instalaciones, en especial al laboratorio No 9 de la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular. Y al CONACYT por la beca otorgada con número 276423 durante la realización de esta investigación.

A la Dra. Nancy Santana Buzzy, por su ayuda en la elaboración de este trabajo de investigación, sus conocimientos aportados y consejos durante todo el doctorado. A la Dra. Marta Álvarez Gil, por enseñarme a realizar los cruzamientos y por su ayuda en el diseño de los experimentos. Y a la Dra. Lourdes Iglesias Andreu, por sus importantes observaciones y sugerencias durante el doctorado.

A mi comité tutorial: Dr. Javier Mijangos por su contribución en la elaboración de esta tesis, sus conocimientos aportados, sus importantes observaciones y sugerencias durante el doctorado. Y a la Dra. Sara Luz Nahuat Dzib, por formar parte de mi comité de tesis, siempre dispuesta, pieza clave para que se realizarán los exámenes tutorales. Gracias por su apoyo.

A los técnicos M.C. Adriana Canto Flick, por los consejos y sugerencias aportados a pesar de tener siempre una agenda complicada. A la Dra. Susana A. Avilés Viñas, por sus valiosos consejos, su manera tan paciente de explicar la ciencia, su apoyo en el laboratorio y su amistad. A los Dr. Adolfo Guzmán y MC. Eduardo Balam, por su apoyo en el control de plagas y el cuidado de las plantas así como de sus importantes consejos y su apoyo académico.

A mis compañeros y amigos que han formado parte del laboratorio 9 de la Unidad de Bioquímica: Biol. Liliana Sarai Muñoz Ramírez, por su gran ayuda en el diseño y desarrollo del proyecto de tesis y por nunca perder la paciencia conmigo. A Margarita Rafaela, Felipe Estrella, María José Espinoza, Jacobo y Dulce por su ayuda en la cosecha de frutos y que de alguna otra forma siempre me apoyaron y me brindaron su amistad.

DEDICATORIA

A mi familia en especial a mis padres:

Mario Rubén Peña Rosado y María Cristina Yam Quintal, porque me sacaron adelante, son un ejemplo de superación y entrega, gracias a ello, hoy puedo ver alcanzada una de mis metas, va dedicada a ustedes porque siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles y porque admiro su fortaleza.

A mis hermanos, tíos, primos, abuelos y amigos. Gracias por haber fomentado en mí el deseo de superación. Mil palabras no bastarían para agradecerles su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles

ÍNDICE

LISTADO DE FIGURAS	1
LISTADO DE CUADROS.....	3
RESUMEN.....	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	8
CAPÍTULO I	10
ANTECEDENTES.....	10
1.1 CHILE HABANERO (<i>CAPSICUM CHINENSE</i> JACQ.)	10
1.2 MEJORAMIENTO GENÉTICO VEGETAL	11
1.3 HÍBRIDOS F1	12
1.4 BIOLOGÍA REPRODUCTIVA	14
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	i
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	II
CAPÍTULO II	3
ESTUDIOS DE BIOLOGÍA FLORAL EN CHILE HABANERO (<i>CAPSICUM CHINENSE</i> JACQ.) PARA IMPLEMENTAR EN UN PROGRAMA DE CRUZAMIENTO.....	3
2.1 INTRODUCCIÓN	3
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS	5

2.3	RESULTADOS	11
2.4	DISCUSIÓN	21
CAPÍTULO III		24
ANALYSIS OF GENETIC PARAMETERS, CHARACTER ASSOCIATIONS AND CONTRIBUTION FOR AGRONOMICAL TRAITS IN HABANERO PEPPER (<i>CAPSICUM CHINENSE</i> JACQ.) OF THE YUCATAN PENINSULA, MEXICO.....		24
3.1	ABSTRACT	25
3.2	INTRODUCTION.....	26
3.2	MATERIALS AND METHODOS	27
3.3	RESULTS	29
3.4	DISCUSSION.....	36
CAPÍTULO IV		39
SELECCIÓN DE HÍBRIDOS F1 A PARTIR DE CRUZAMIENTOS ENTRE PROGENITORES ÉLITES DE CHILE HABANERO (<i>CAPSICUM CHINENSE</i> JACQ.).....		39
4.1	INTRODUCCIÓN	39
4.2	MATERIALES Y MÉTODOS	41
4.3	RESULTADOS	46
4.4	DISCUSIÓN	59
CAPÍTULO V		63
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS F1 Y PROGENITORES DE CHILE HABANERO (<i>CAPSICUM CHINENSE</i> JACQ.) CULTIVADOS EN INVERNADERO.....		63
5.1	INTRODUCCIÓN	63

5.2 MATERIALES Y MÉTODOS	64
5.3 RESULTADOS	67
5.4 DISCUSIÓN	83
CAPÍTULO VI.....	87
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	87
6.1 CONCLUSIONES	87
6.2 PERSPECTIVAS	89
BIBLIOGRAFÍA.....	90
ANEXOS	90

LISTADO DE FIGURAS

Figura 2. 1 Flores de <i>C. chinense</i> Jacq. en antesis, a. Planta en plena floración, b. Flor en antesis.	7
Figura 2. 2 Clasificación de la posición del pistilo en flores en antesis de <i>C. chinense</i> Jacq.	8
Figura 2. 3 Patrón de antesis en genotipos de chile habanero.	13
Figura 2. 4 Dehiscencia de anteras en botón floral y flores en antesis en genotipos chile habanero.	16
Figura 2. 5 Receptividad del estigma en genotipos de chile habanero. Las columnas representan el porcentaje de estigmas receptivos (n = 20).	17
Figura 2. 6 Receptividad del estigma de chile habanero evaluada con H ₂ O ₂ al 3 %.	18
Figura 2. 7 Micrografía de granos de polen de chile habanero.	19
Figura 4. 1 Variabilidad en el color y la forma de frutos de híbridos F1 (1-29) y progenitores (30-41).	54
Figura 4. 2 Líneas F1 (cruzamientos), seleccionados por destacar en la mayoría de los caracteres evaluados.	58
Figura 5. 1 Análisis de correspondencia múltiple que muestra la distribución de los híbridos F1 y progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq.	69
Figura 5. 2 Caracterización de planta de progenitores e híbridos F1; a) Grosor de tallo, b) Color de antocianinas en el nudo, c) Altura de la planta.	71
Figura 5. 3 Caracterización de fruto de progenitores e híbridos F1	71
Figura 5. 4 Matriz de correlación Pearson para 18 descriptores cuantitativos de 29 híbridos	

F1 y once progenitores de *C. chinense* Jacq. cultivadas en invernadero. 78

Figura 5. 5 Análisis de componentes principales que muestra la distribución de los híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. 80

Figura 5. 6 Dendograma del análisis de clasificación jerárquico de 29 híbridos F1 y 11 progenitores de *C. chinense* Jacq. obtenido en base al análisis de componentes principales (ACP). 81

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 2. 1 Genotipos seleccionados de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.....	6
Cuadro 2. 2 Análisis de varianza de la antesis en genotipos de chile habanero.....	11
Cuadro 2. 3 Comparación de medias de la antesis en genotipos de chile habanero.....	12
Cuadro 2. 4 Porcentaje de flores con diferente posición del pistilo con respecto a las anteras en genotipos de <i>C. chinense</i> Jacq.	14
Cuadro 2. 5 Posición del pistilo en flores en antesis en genotipos de <i>C. chinense</i> Jacq..	14
Cuadro 2. 6 Porcentaje de anteras cerradas (AC), anteras semiabiertas (AS) y anteras abiertas (AA) en botones y flores en antesis en genotipos de <i>C. chinense</i> Jacq.	15
Cuadro 2. 7 Horario de apertura de las anteras en genotipos de <i>C. chinense</i> Jacq.	16
Cuadro 2. 8 Receptividad del estigma en genotipos de <i>C. chinense</i> Jacq.....	18
Cuadro 2. 9 Viabilidad de polen guardado a 4 °C en genotipos de <i>C. chinense</i> Jacq.....	20
Cuadro 4. 1 Características de las líneas progenitoras de <i>C. chinense</i> Jacq. para los cruzamientos.	41
Cuadro 4. 2 Cruzamientos Top Cross para obtener híbridos de chile habanero.....	43
Cuadro 4. 3 Cruzamientos adicionales con frutos de color rojo y naranjas para obtener híbridos de chile habanero.....	43
Cuadro 4. 4 Cruzamientos obtenidos del Top Cross con RKI-01 como progenitor masculino élite.....	46
Cuadro 4. 5 Cruzamientos obtenidos del Top Cross con MBI-11 como progenitor femenino élite.....	47
Cuadro 4. 6 Cruzamientos adicionales obtenidos a partir de frutos de color rojo y naranjas.	47

Cuadro 4. 7 Vigor de plántulas de las líneas F1 y sus progenitores de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.....	48
Cuadro 4. 8 Porcentaje de germinación, días a floración, fructificación y primera cosecha de las líneas F1 y sus progenitores de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.....	49
Cuadro 4. 9 Características cualitativas de fruto en las líneas F1 y sus progenitores.....	51
Cuadro 4. 10 Características cuantitativas del fruto en las líneas F1 y sus progenitores.	52
Cuadro 4. 11 Porcentaje de Heterosis en caracteres agronómicos de interés en líneas F1 y sus progenitores de <i>Capsicum chinense</i> Jacq.	55
Cuadro 4. 12 Efectos de habilidad combinatoria general para los caracteres evaluados en progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq.....	56
Cuadro 4. 13 Efectos de habilidad combinatoria específica para los caracteres evaluados en híbridos F1 de <i>C. chinense</i> Jacq.....	57
Cuadro 5. 1 Número y Clave de los híbridos F1 y progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq. que fueron caracterizados en base a descriptores morfológicos.....	64
Cuadro 5. 2 Descriptores evaluados y su clasificación observada en híbridos F1 y progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq. según el IPGRI (1995) y el SNICS (2015).	64
Cuadro 5. 3 Porcentaje de distribución de 22 descriptores cualitativos y sus índices de diversidad en híbridos F1 y progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq. Caracterizados en invernadero.....	67
Cuadro 5. 4 Análisis de correspondencia múltiple para 22 descriptores cualitativos en híbridos F1 y progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq.	68
Cuadro 5. 5 Análisis de varianza de 29 híbridos F1 y sus once progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq. cultivadas en invernadero para 18 descriptores cuantitativos.	70

Cuadro 5. 6 Descriptores cuantitativos evaluados en híbridos F1 y progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq. cultivadas en invernadero.....	73
Cuadro 5. 7 Análisis de componentes principales señalando valores y vectores propios de 17 descriptores cuantitativos en híbridos F1 y sus progenitores de <i>C. chinense</i> Jacq.	79
Cuadro 5. 8 Medias de los descriptores cuantitativos para cada uno de los cinco grupos (1-5) formados por el análisis de clasificación jerárquico.....	82

RESUMEN

Este trabajo estuvo dirigido a la evaluación y selección de genotipos de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con alto potencial para la obtención de híbridos. Para ello se evaluaron 12 genotipos de los cuales se estudió la biología reproductiva, así como se determinaron los diferentes parámetros genéticos requeridos para identificar los genotipos promisorios para el diseño de un programa de cruzamientos. Como resultado del estudio de la biología reproductiva, se observó que el mayor número de flores en anthesis se presenta en horas tempranas de la mañana (8:00 am). La receptividad del estigma resultó positiva en todos los estadios evaluados. Al evaluar la viabilidad del polen conservado a 4 °C por 0, 24 y 48 h, se observó que el mayor porcentaje de viabilidad y mayor número de semillas por fruto (NSF) se obtiene con polen recién colectado (0 horas). En relación con los parámetros genéticos, los resultados muestran que los genotipos estudiados constituyen una excelente fuente de variación genética para realizar trabajos de mejora en este cultivo. A partir del programa de cruzamientos desarrollado (Top Cross) con el progenitor masculino élite RKI-01 y con el progenitor femenino élite MBI-11 cruzado con el resto de los genotipos, así como de 10 cruzamientos libres. Se obtuvieron 219 cruza (Líneas F1) de las cuales el mayor porcentaje de “cuaje” de fruto (65 %) correspondieron al cruzamiento 17 (MBI-11 x NKA-07). El color rojo del fruto y la textura rugosa de la superficie del fruto (pericarpio) resultaron caracteres dominantes, con independencia de la posición ocupada por los progenitores en la crusa (masculino o femenino). El cruzamiento 20 (MSB-12 x RES-05) presentó el mayor peso de fruto (15.58 g) y mayor rendimiento (9952.5 g·planta⁻¹), superando significativamente a ambos progenitores. Este cruzamiento resultó el de mayor porcentaje de heterosis (504.14 %). El análisis de correspondencia múltiple (ACM) con las 22 variables cualitativas evaluadas permitió identificar dos dimensiones que explican el 38.2 % de la variabilidad total, siendo el descriptor Color de Antocianinas en el Nudo (CAN) el de mayor aporte. El análisis de componentes principales (ACP) reveló que lo primeros seis ejes representaron el 85.1 % de la variabilidad. El análisis de clasificación jerárquica de las Líneas F1 (cruzamientos) y los progenitores, reveló tres grupos basado principalmente en descriptores del fruto y hoja. En conclusión el 83 % de los genotipos evaluados (RKI-01, RHN-03, RNJ-04, RES-05, NBA-06, NKA-07, AKN-08, ASBC-09, MBI-11, MSB-12) como progenitores, resultaron aptos para integrar un programa de cruzamientos para la obtención de Híbridos de chile habanero.

ABSTRACT

This work was aimed at the evaluation and selection of genotypes of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) With high potential as for obtaining hybrids. For this, 12 genotypes were evaluated, of which reproductive biology was studied, as well as the different genetic parameters required to identify promising genotypes for the design of a cross-breeding program. As a result of the study of reproductive biology, it was observed that the greatest number of flowers in anthesis occurs at the first hours of the day (8:00 am). The stigma receptivity was positive in all stages evaluated. When evaluating the viability of the pollen conserved at 4 °C for 0, 24 and 48 h, it was observed that the highest percentage of viability and greater number of seeds per fruit (NSF) is obtained with freshly collected pollen (0 hours). In relation to genetic parameters, the results show that the genotypes studied constitute an excellent source of genetic variation to perform improvement work on this crop. From the cross-breeding program developed (Top Cross) with the elite male parent RKI-01 and the elite female parent MBI-11 crossed with the rest of the genotypes, as well as 10 free crossings. 219 crosses (Lines F1) were obtained, of which the highest percentage of "fruit set" (65%) corresponded to cross 17 (MBI-11 x NKA-07). The red color of the fruit and the rough texture of the surface of the fruit (pericarp) were dominant characters, regardless of the position occupied by the parents at the cross (male or female). Cross 20 (MSB-12 x RES-05) had the highest fruit weight (15.58 g) and highest yield (9952.5 g • plant⁻¹), significantly exceeding both parents. This crossing resulted in the highest percentage of heterosis (504.14%). The multiple correspondence analysis (MCA) with the 22 qualitative variables evaluated allowed us to identify two dimensions that explain 38.2% of the total variability, with the descriptor Color of Anthocyanins in the Knot (CAN) being the one with the greatest contribution. The principal component analysis (ACP) revealed that the first six axes represented 85.1% of the variability. The hierarchical classification analysis of the F1 Lines (crossings) and the parents revealed three groups based mainly on fruit and leaf descriptors. In conclusion, 83% of the genotypes evaluated (RKI-01, RHN-03, RNJ-04, RES-05, NBA-06, NKA-07, AKN-08, ASBC-09, MBI-11, MSB-12) as parents, can integrate to a cross-breeding program to obtain hybrids from habanero pepper.

INTRODUCCIÓN

Capsicum es un género que está integrado por alrededor de 25 especies de las cuales cinco son las que han sido domesticadas: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. pubescens*, *C. frutescens*, *C.* y *C. chinense*. Son económicamente importantes en el mundo, la industria alimentaria es el usuario más grande de *Capsicum*, usándolo como colorante y saborizante en salsas, sopas, carnes procesadas, aperitivos y dulces (Purkayastha *et al.*, 2012). *Capsicum* también es usado en preparaciones de uso medicinal; para aliviar el dolor muscular, en tratamientos contra la obesidad, terapia contra el cáncer, como antioxidante y agente antimicrobiano es debido a su contenido de numerosos compuestos químicos, incluyendo aceites volátiles, aceites grasos, capsaicinoides, carotenoides, vitaminas, proteínas, fibras y elementos minerales (Omolo *et al.*, 2014).

México es el país que tiene la mayor variabilidad genética de *Capsicum* del mundo; su riqueza genética se debe en gran parte a la diversidad de climas, suelos y por manejo humano. La explotación del germoplasma de *Capsicum* y su uso en programas mejoramiento es poco estudiada, en la actualidad existe necesidad de desarrollar nuevos cultivares (Di Dato *et al.*, 2015). Entre las técnicas agrícolas existentes para lograr mayores rendimientos en los cultivos, se encuentra el mejoramiento genético tradicional, proceso que se lleva a cabo a través de la emasculación y polinización, utilizando diferentes líneas y/o variedades en los cruzamientos, sin embargo, uno de los problemas con los que se enfrentan estos programas son el bajo porcentaje de amarre o “cuaje” de frutos durante la etapa de cruzamientos, así como la falta de información sobre la especie a utilizar, y la capacitación sobre técnicas apropiadas para realizar la polinización y los métodos de cruzamiento, aspectos de vital importancia para el mejorador de plantas, con el fin de tener éxito en la polinización manual para posteriormente obtener híbridos (Hernández y Martínez, 2014).

Las ventajas del híbrido es que exhiben mayor uniformidad que sus progenitores, muestran bajo efecto ambiental, dada su condición heterocigota, presentan mayor potencial productivo que sus progenitores. Sin embargo, la producción de semilla híbrida de alta calidad requiere un manejo cuidadoso de las líneas progenitoras, mano de obra especializada para hacer las polinizaciones cruzadas, y el procesamiento adecuado de las

semillas resultantes. La mayor producción de semilla híbrida se produce en países con mano de obra barata y calificada, como lo son China, India y Tailandia (Berke, 2000). Existen empresas extranjeras dedicadas a la producción de semilla híbrida de diferentes tipos de chiles, como son: Seminis, Geneseeds y Syngenta.

Entre la gran diversidad del género *Capsicum*, se encuentra el chile habanero (*C. chinense* Jacq.) la Península de Yucatán es reconocida como centro de diversidad genética de esta especie. En la actualidad el chile habanero se ha convertido en un símbolo de pungencia, debido a su alto contenido de capsaicina encontrado en el fruto, adquiriendo un valor agregado por ser el producto vegetal con mayor contenido de capsaicina, alcaloide que le confiere el picor al fruto, y que es componente fundamental de diversos productos alimenticios, industriales y terapéuticos (Gómez *et al.*, 2010). En este contexto, el productor y la agroindustria del chile habanero tienen una oportunidad única para posicionarse estratégicamente en los mercados demandantes de este producto y sus derivados, tanto a nivel nacional, como internacional. Sin embargo, para lograr este objetivo se requieren variedades e híbridos, más productivos, más tolerantes y con altos contenidos de capsaicina. De aprovecharse esta oportunidad, los beneficios económicos y sociales para la región serían cuantiosos.

El objetivo en este estudio fue evaluar y seleccionar progenitores con alto potencial productivo para la producción de líneas híbridas con el propósito de obtener Híbridos F1 de chile habanero por los métodos convencionales (cruzas).

CAPÍTULO I**ANTECEDENTES****1.1 Chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.)**

El género *Capsicum* incluye cinco especies domesticadas: *C. annuum* (que contiene al jalapeño, Serrano y Bell) con centro de origen en México, *C. frutescens* (que contiene a la variedad Tabasco), *C. chinense* (que contiene al Habanero y las variedades Scotch Bonnet) originario de la cuenca del Amazonas, *C. baccatum* (que contiene a los Aji) y *C. pubescens* (que contiene las variedades Rocoto y Manzano) ambos oriundos de Bolivia (Gahungu *et al.*, 2011, Eshbaugh, 2012).

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) presenta la siguiente clasificación taxonómica: Reino: *Plantae* Subreino: *Tracheobionta* Superdivisión: *Spermatophyta*, División: *Magnoliophyta*, Clase: *Magnoliopsida*, Subclase: *Asteridae*, Orden: *Solanales*, Familia: *Solanaceae*, Género: *Capsicum* L., Especie: *Capsicum chinense* Jacq. (USDA, 2016).

El fruto del chile habanero es una baya hueca, acampanulada y con terminación en punta. El gineceo está constituido por dos o cuatro carpelos. El fruto es poco carnoso y las paredes que dividen el interior del fruto se unen en la parte apical del fruto para formar unas estructuras membranosas comúnmente denominadas venas que en la base se unen a la placenta, en la cual se encuentran dispuestas las semillas de color amarillo pajizo. La pared del fruto o pericarpio es poco carnosa. El fruto es de color verde en estado inmaduro y a su madurez fisiológica presenta variaciones en color (rojo, naranja, amarillo, morado) el cual está determinado principalmente por la presencia de dos tipos de pigmentos: los carotenoides y las antocianinas. La combinación en diferentes proporciones de estos dos pigmentos en el fruto, da lugar a los diferentes colores que se aprecian en las variedades cultivadas de chile habanero (DOF, 2012).

En la Península de Yucatán el chile habanero es una de las hortalizas más cultivadas, y es donde podemos encontrar la mayor diversidad genética de esta especie. El chile habanero es ampliamente apreciado por su olor, sabor y pungencia. Dada sus características, el 4 de junio de 2010 obtuvo la denominación de origen como “Chile Habanero de la Península de Yucatán” (DOF, 2010). El chile habanero en los últimos años, ha despertado gran interés en los mercados de Estados Unidos y Canadá, ya que se considera uno de los chiles más

picantes y aromáticos del mundo, características que han hecho de él uno de los favoritos en la cocina internacional, además de tener una amplia variedad de aplicaciones, tales como colorantes naturales, como fuente de minerales y vitaminas, así como insumo en la industria farmacéutica y química. Los principales exportadores de este vegetal son México y Belice; por lo general, se distribuye en forma fresca o pasta (Ruiz-Lau, 2011). La producción de chile habanero a nivel nacional hasta el 2017 se encontraba en 15,040.15 toneladas, de los cuales Yucatán contribuye con una producción de 1963.29 toneladas que representa el 13 % de la producción a nivel nacional (SIAP, 2018). A pesar de ser uno de los estados más productivos no figuramos entre los de mayor rendimiento, en este aspecto es donde se tiene que trabajar para mejorar.

1.2 Mejoramiento genético vegetal

El mejoramiento genético vegetal se originó aproximadamente hace 10,000 años, cuando el hombre se hizo agricultor y comenzó la domesticación de las plantas. En el siglo XX, con la incorporación de los cruzamientos sexuales, el conocimiento de la biología floral de las especies, el desarrollo de la genética y de la estadística experimental, entre otros avances, se conformaron los métodos de mejoramiento actualmente utilizados; uno de estos métodos es el mejoramiento genético tradicional que se basa en la existencia de variabilidad genética para los caracteres que se desea mejorar y la manipulación de la misma mediante la reproducción sexual (Echenique *et al.*, 2004). El mejoramiento genético vegetal puede contribuir mejorando el grado de sostenibilidad de los sistemas agropecuarios de producción, mediante el desarrollo de genotipos adaptados a nuevos requerimientos ambientales y nuevas demandas del mercado de consumo. En este contexto Latournerie *et al.* (2015) evaluaron el potencial agronómico de doce poblaciones criollas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en tres localidades de Yucatán, México bajo condiciones de riego, en un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones y como unidad experimental 40 plantas, entre sus resultados la población H-224 de fruto color naranja sobresalió en los tres ambientes de prueba, mostrando estabilidad, altos rendimientos de fruto (1,864.2 g·plant⁻¹) y buenas características agronómicas, concluyen que la población criolla de chile habanero H-224 tiene potencial para integrarse en un programa de mejoramiento genético.

El creciente mercado para *Capsicum* de diferentes tamaños, colores y sabores, las demandas de la industria farmacéutica y deshidratadora, sumado a la incidencia de enfermedades y plagas que reducen los rendimientos; representan un continuo desafío para los productores y mejoradores. En el mejoramiento de *Capsicum* la elección de la metodología a emplear depende de los objetivos perseguidos y de los cultivares disponibles. Si bien es considerada una especie autógama, se han verificado porcentajes de alogamia que varían entre el 7 % y 91 %, lo cual influye en la estrategia de mejoramiento a emplear y en las precauciones a tomar para la futura producción de semillas. La obtención de nuevos cultivares se ha hecho seleccionando dentro de las mismas poblaciones e introducciones o bien realizando cruzamientos seguidos de una selección. Los métodos más empleados son la selección masal, genealógica y las retrocruzas (Galmarini, 2000). En este contexto May *et al.* (2010) evaluaron los efectos de heterosis en poblaciones de chile dulce (*Capsicum annuum* L.). Trabajo del cual concluyen que la hibridación sería el método de mejoramiento genético más adecuado para incrementar rendimiento de fruto y número de frutos por planta. En cambio, para mejorar altura de planta, peso individual de fruto, días a inicio de cosecha, longitud y diámetro de fruto, el método de mejoramiento por endogamia y selección sería el indicado, para formar nuevas variedades.

1.3 Híbridos F1

En los últimos cincuenta años se han desarrollado métodos para obtener híbridos F1 en vegetales, abriendo nuevas posibilidades para mejorar la precocidad, la uniformidad y la calidad; otorgando a los mejoradores la ventaja de la exclusividad incorporada para la producción y venta de semillas. La uniformidad fenotípica de un híbrido F1 depende de la homocigosidad genética en los progenitores consanguíneos, pero la depresión endogámica puede reducir rápidamente el número de líneas supervivientes. Idealmente, se debe seleccionar un gran número de líneas endogámicas para obtener el fenotipo deseado y para determinar la habilidad combinatoria general y específica (Riggs, 1988). El método de análisis de línea x probador introducido por Kempthorne en 1957; es una de las poderosas herramientas disponibles para estimar los efectos combinación y ayuda en la selección de padres deseables (Fellahi *et al.*, 2013). El uso de híbridos F1 (Filial 1) es uno de los medios mayormente empleados para satisfacer la demanda de *Capsicum*. Los híbridos F1, en *Capsicum* ofrecen varias ventajas tales como una mayor productividad, mejor calidad,

resistencia a estreses bióticos y abióticos también proporcionan una manera rápida y conveniente de combinar caracteres deseables. La heterosis ha sido ampliamente utilizada en programas de mejoramiento de muchos cultivos para la identificación de poblaciones genéticamente divergentes, como base para el desarrollo de líneas endogámicas a ser usadas en cruzamientos F1. La heterosis es la expresión de un carácter en la progenie más allá de los límites de expresión manifestada en sus progenitores que tiene origen en los efectos genéticos principalmente de dominancia y en la diferencia genotípica de frecuencias génicas (Falconer, 1996). Entre los trabajos relacionados se encuentra el de Tembhurne y Rao (2012) en el cual evaluaron 51 híbridos F1 de *Capsicum annuum* L. obtenidos a partir del cruzamiento entre tres progenitores femeninos (línea) y 17 progenitores masculinos (probador) cruzadas en la modalidad línea x probador, entre los resultados; identificaron híbridos con mayor heterosis, el cruzamiento ACA1/LCA334 exhibió una heterosis de 493.4 % con respecto a los padres.

Swamy *et al.* (2015) realizaron un estudio para evaluar variedades e híbridos de *Capsicum annuum* L. para los atributos de calidad bajo un cultivo con un 50 % neto de sombra, entre los resultados observaron un máximo de espesor del fruto en el híbrido Indra (1.05 cm) y en la variedad Royal Wonder (1.01 cm) por lo tanto son adecuados para el transporte a largas distancias, con sus resultados concluyeron, que los híbridos pueden presentar características de mayor calidad que una variedad. Por otro lado Geleta y Labuschagne (2004) cruzaron siete líneas endogámicas de *Capsicum annuum* L. para evaluar el rendimiento de los híbridos y determinar la heterosis con respecto a los padres. Resultando que los híbridos mostraron buen rendimiento para la mayoría de las características en comparación con las líneas endogámicas. Tres de los 21 híbridos fueron significativamente mejores que el control estándar (Bakko local). Se concluyó que los híbridos de pimiento con alto potencial de rendimiento, buenas características de fruto y maduración temprana se pueden desarrollar a partir del cruzamiento con los progenitores adecuados.

1.4 Biología reproductiva

Contar con el conocimiento de la biología reproductiva de la especie a mejorar, es un requisito previo para iniciar el establecimiento de un cultivo o desarrollar un programa de mejoramiento genético por hibridación. La viabilidad y germinación del polen, la carga de polen por flor y otros pasos de la polinización son datos que debemos tener en cuenta para alcanzar el éxito al momento de generar híbridos. *Capsicum* es de los cultivos donde el tiempo de antesis, dehiscencia de las anteras, receptividad del estigma, germinación y viabilidad del polen sufren cambios en las diferentes condiciones ambientales (Dhall *et al.*, 2011). Entre los estudios realizados en este tema se encuentra el de Aleemullah *et al.* (2000) en el cual se analizó la fenología de la floración en *Capsicum annuum* resultando que la antesis ocurrió principalmente durante la mañana, las mediciones realizadas en primavera y verano revelaron que el inicio de la antesis diaria es controlada por la duración del día, los patrones de dehiscencia de las anteras sugiere que se controla en parte por ritmos endógenos de la flor y las polinizaciones controladas mostraron que el período de receptividad femenina duró cinco días antes de la antesis hasta tres días después de la antesis, la máxima fertilidad ocurre en el día de la antesis. En otro trabajo Ofosu-Anim *et al.* (2006) realizaron estudios en laboratorio e invernadero para investigar la receptividad del estigma y el crecimiento del tubo polínico en *Capsicum annuum* var. Golden Bell. donde emascularon flores que fueron polinizadas y posteriormente monitoreadas para observar el crecimiento de los tubos polínicos. Se observó que la fertilización del pimiento dulce, tiene lugar dos días después de la polinización. Los granos de polen no germinaron en el estigma en el tercer día después de la antesis, lo que indica una receptividad del estigma es de dos días después de la apertura de la flor. Por otra parte Kivadasannavar *et al.* (2009) determinaron el período óptimo de la receptividad del estigma de la semilla parental (VN-2) y el tiempo de polinización en la producción de semilla híbrida de chile híbrido HCH-9646 de *Capsicum annuum* L. los resultados indicaron que la polinización entre las 9:00 h - 12:00 h un día después de la emasculación exhibió mayor porcentaje de frutos (53.63 %), longitud del fruto (13.33 cm), circunferencia del fruto (0.99 cm), número de semillas híbridas por fruto (57.30), rendimiento de semilla híbrida por planta (7.08 g).

JUSTIFICACIÓN

La base del mejoramiento genético es el germoplasma de las especies, en el cual se conserva toda la diversidad. Se sabe que Yucatán es centro de reserva genética de *C. chinense* contradictoriamente no existía un programa de mejora cuyo propósito fuera la obtención de variedades mejoradas y/o híbridos de esta especie.

Debido a la demanda de *C. chinense* Jacq. en el mercado nacional e internacional, tanto fresco como procesado, es necesario generar productos que cumplan con las normas de calidad e interés comercial (forma, color, tamaño, picor y , sobre todo, que sean altamente productivos) además generar híbridos F1 para la producción comercial, significaría una garantía de protección de la especie y una mejor explotación de la diversidad genética existente, al aprovechar el vigor híbrido (heterosis) que se genera de esta.

OBJETIVOS

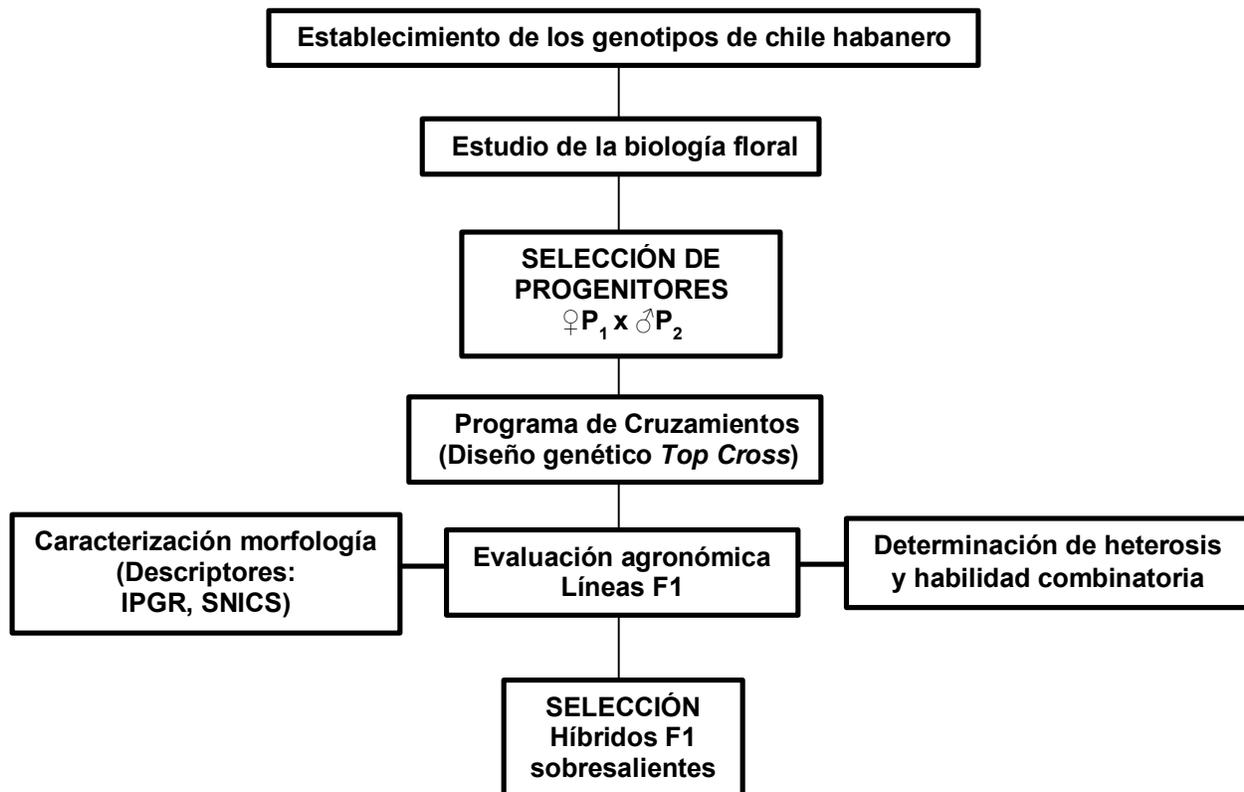
OBJETIVO GENERAL

Selección de híbridos F1 de chile habanero (*C. chinense* Jacq.) de alto potencial para el consumo en fresco y/o para la industria a partir de 12 progenitores de alto valor agronómico.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

1. Estudiar la *biología reproductiva* de la especie *Capsicum chinense* Jacq. (Por primera vez en la especie).
2. Definir una metodología de cruzamientos intraespecíficos de *C. chinense*, basada en indicadores de la *biología reproductiva* de la especie.
3. Determinar los progenitores más adecuados *como padre y/o como madre* dentro del programa de cruzamientos.
4. Determinar el nivel de *heterosis* y *la habilidad combinatoria* en los *cruzamientos obtenidos*, en los caracteres relacionados con el *rendimiento*.
5. Determinar la *variabilidad morfológica* de los progenitores y los cruzamientos obtenidos mediante un *análisis multivariado*.
6. Determinar las *correlaciones* entre caracteres de interés agronómico.
7. Seleccionar las *Líneas F1* más sobresalientes por su rendimiento y su grado de pungencia.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



CAPÍTULO II

ESTUDIOS DE BIOLOGÍA REPRODUCTIVA EN CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.) PARA IMPLEMENTAR UN PROGRAMA DE CRUZAMIENTO.

2.1 INTRODUCCIÓN

La hibridación es una estrategia del mejoramiento genético, la cual permite la transferencia de genes de interés entre especies (interespecífica) o dentro de la misma especie (intraespecífica), para desarrollar genotipos genéticamente superiores. El conocimiento de la biología reproductiva se basa en la estructura floral de una especie y es la que determina la naturaleza del proceso reproductivo de la misma. Los principales avances alcanzados en el mejoramiento genético de plantas, están asociados al conocimiento del sistema reproductivo de las plantas, a través de estudios relacionados con la antesis, la viabilidad del polen, la receptividad del estigma, entre otros (Abdelgadir, 2011; Caraballo, 2001, Gomes *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2018). Se han realizado estudios sobre biología reproductiva de *Withania ashwagandha* sp, *Jatropha curcas*, *Moringa oleifera* Lam (Mir *et al.*, 2013; Rincon-rabales *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2018), se ha examinado la viabilidad del polen y compatibilidad cruzada entre varias especies de *Capsicum* (Martins *et al.*, 2015). Características morfológicas y reproductivas de genotipos de aceroleira (*Malpighia emarginata*) han sido revisadas por Gomes *et al.* (2009), en *Capsicum eximium* se ha estudiado la interacción entre el polen y el pistilo por Ohu (2000) y en pimientos ornamentales por Crispim *et al.* (2017). Por lo que sabemos, no existen estudios sobre biología reproductiva en *Capsicum chinense* Jacq. (chile habanero). Mercado *et al.* (1991) indica que en pimiento, no se ha hecho mucho esfuerzo en evaluar aspectos biología reproductiva, sin embargo, estos son útiles en estudios de germinación del polen y en programas de reproducción o almacenamiento de polen.

Chile habanero es un cultivo tradicional en México que se cultiva para fines culinarios y de exportación por su sabor y típico aroma, que se caracteriza por su alto contenido de oleorresina y elevado picor (pungencia), características que han generado una gran demanda en el mercado nacional e internacional. Debido a la importancia del chile habanero contar con el conocimiento de su biología floral, se podría aumentar la producción logrando un mayor “cuaje” de fruto tanto en un cultivo comercial, así como en programas de

mejoramiento genético por hibridación, al momento de realizar los cruzamientos. Sin embargo, la producción de semilla híbrida es costosa, muy laboriosa y requiere una intensa supervisión técnica. En algunos cultivos, el control de los mecanismos de polinización puede ayudar a hacer más económica la producción comercial de semilla híbrida (James y Knox, 1993, Hundal y Dhall, 2005). Dada la importancia de la hibridación como estrategia de mejoramiento y a la falta de información sobre la biología reproductiva de *Capsicum chinense* Jacq., este estudio estuvo orientado a determinar el momento óptimo para la colecta del polen y su viabilidad, así como definir el estadio de desarrollo del botón floral y la receptividad del estigma, con el objetivo identificar progenitores potenciales para un programa de cruzamientos para la obtención de híbridos de chile habanero.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en invernadero, a 20-35 °C, 55–75 % de humedad relativa y ciclos de luz natural (aproximadamente 11 h de luz, 13 h de oscuridad), ubicado en las instalaciones del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), Mérida, Yucatán, a 20° 58' 2.53" Latitud Norte y 89° 35' 33.30" Longitud Oeste y a una altitud de 10 msnm, con una precipitación media de 978.4 mm y temperatura media entre 21.3 y 33.6 °C (SMN, 2015).

Se evaluaron 12 genotipos de chile habanero de los cuales cinco genotipos son de fruto color rojo, dos genotipos de fruto color naranja, tres genotipos de fruto amarillo y dos genotipos de fruto color morado (Cuadro 2.1). Para su evaluación se utilizó un diseño de bloques completos al azar, diez plantas como unidad experimental y dos repeticiones. Las semillas de cada genotipo se desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial durante 10 min y se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades. Se empleó mixed comercial substrate called Cosmopeat® (Cosmocel S.A., San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México). Las charolas se mantuvieron cubiertas con plástico negro para mantener la temperatura y humedad, hasta la germinación. Durante el desarrollo de las plántulas, se aplicó una vez por semana el fertilizante comercial Hakaphos® 13-40-13 (1 g·L⁻¹) (Compo Agro México S.A. de C.V., Jalisco, México) hasta su trasplante el cual se realizó en bolsas negras (40 x 40 cm) conteniendo una mezcla de tierra roja y Cosmopeat® en una proporción 3:1. Durante el crecimiento de las plantas se aplicó el fertilizante Triple 18 (1 g·L⁻¹) (Royal Garden's®, Guadalajara, México).

Cuadro 2. 1 Genotipos seleccionados de *Capsicum chinense* Jacq.

PROGENITORES	COLOR
RKI-01	ROJO
RHC-02	ROJO
RHN-03	ROJO
RNJ-04	ROJO
RES-05	ROJO
NBA-06	NARANJA
NKA-07	NARANJA
AKN-08	AMARILLO
ASBC-09	AMARILLO
ASBG-10	AMARILLO
MBI-11	MORADO
MSB-12	MORADO

2.2.1 Antesis

En cada planta en la segunda floración se procedió a contabilizar las flores en antesis (cuando la flor está abierta y los pétalos separados unos de otros) (Figura 2.1) y una vez registradas fueron eliminadas de la planta para no volver a contarlas. Este conteo se realizó diariamente en tres horarios del día: 8:00 a.m., 12:00 p.m. y 4:00 p.m., durante 10 días. Esta evaluación de la antesis se realizó con el objetivo de determinar el momento del día que se concentra el mayor número de flores aptas, para la extracción de polen para los cruzamientos. Para ello se utilizó un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial A x B (Factor A: genotipos, Factor B: horarios). Se calcularon las medias de cada horario durante los 10 días usando el programa SAS versión 9.1 para Windows (SAS Inst., Inc. 2003). Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) y se aplicó la prueba t Tests (LSD) con $p < 0.05$ a fin de determinar la significancia de las diferencias entre variables.



Figura 2. 1 Flores de *C. chinense* Jacq. en anthesis, **a.** Planta en plena floración, **b.** Flor en anthesis.

2.2.2 Posición del pistilo con respecto a las anteras

Se determinó la posición en que se encuentra el pistilo con respecto a las anteras a fin de determinar la probabilidad de ocurrencia de polinización cruzada en cada genotipo evaluado. Para ello, se contabilizaron 60 flores en anthesis escogidas al azar, y se evaluó cuántas de ellas presentaban: el pistilo inserto (-1), pistilo al mismo nivel que las anteras (0), pistilo ligeramente exserto (pistilo hasta 1 mm por encima de las anteras) (2) y pistilo exserto (pistilo >1 mm con respecto a las anteras) (Figura 2.2).

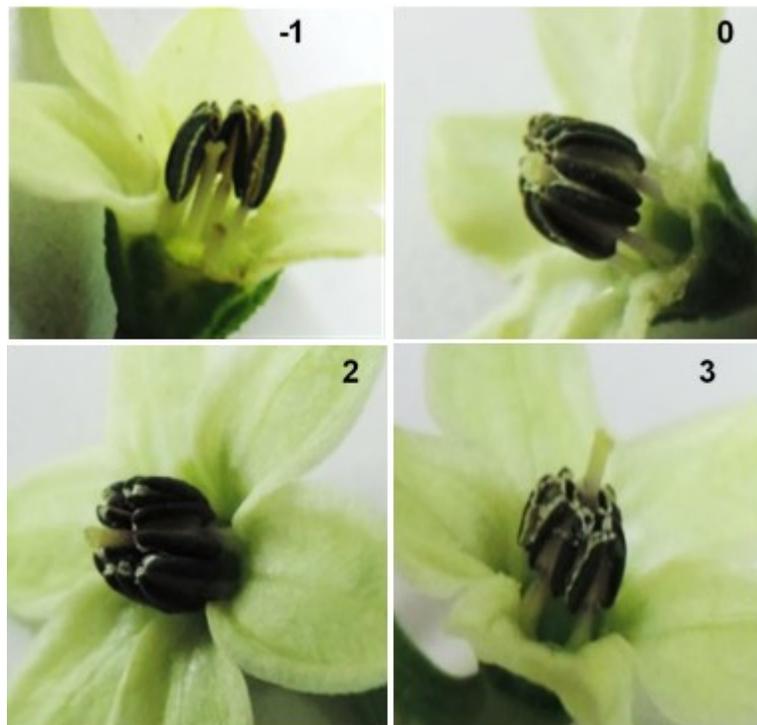


Figura 2. 2 Clasificación de la posición del pistilo en flores en antesis de *C. chinense* Jacq. 1: Pistilo inserto, 0: Pistilo al nivel de las anteras, 2: Pistilo ligeramente exserto, 3: Pistilo exserto.

2.2.2 Dehiscencia de las anteras

Para determinar la dehiscencia de las anteras, las observaciones se realizaron al azar en 60 botones florales el día previo a la antesis y en 60 flores el día de la antesis en tres horarios del día: 8:00 a.m., 10:00 a.m. y 12:00 p.m., por cada tiempo y por cada genotipo. La apertura de las anteras se clasificó como: anteras cerradas (ac), anteras semiabiertas (as) y anteras abiertas (aa). Adicionalmente, se marcaron cinco flores abiertas en cada planta a fin de monitorear el tiempo de dehiscencia de las anteras, observación realizada cada dos horas y posterior a ello se eliminaron de la planta. El total de las anteras cerradas (ac), anteras semiabiertas (as) y anteras abiertas (aa) evaluadas fue expresado en porcentaje (%). Se utilizó una prueba de Chi-cuadrado (X^2) con $p < 0.05$, mediante el programa estadístico IBM *SPSS Statistics versión 22* (IBM Corp. Release, 2013).

2.2.4 Receptividad del estigma

La receptividad del estigma fue evaluada mediante la prueba rápida de goteo con peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 3 % (Ángel-Coca *et al.*, 2011). Para ello se aplicó sobre el estigma 10 μ L de H_2O_2 con una micropipeta (Micropipette 1-10 μ L) y seguidamente se hicieron las observaciones con el auxilio de un microscopio estereoscopio (Nikon SMZ800). Se evaluaron 20 estigmas de cada genotipo por estadio floral: a) botones florales previo a la antesis (antes de antesis), b) flores durante el día de antesis (en antesis) y c) flores 24 h posterior l día antesis (después de antesis). En todos los casos, se utilizaron estigmas de flores recién cosechadas. Estadísticamente los datos fueron analizados mediante una prueba binomial, en la que se asignó el número (1) cuando se observó la presencia de burbujas en el estigma (estigma receptivo) y (0) cuando no se observó la presencia de burbujas en el estigma (estigma no receptivo). Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico IBM SPSS *Statistics* versión 22 (IBM Corp. Release, 2013).

2.2.5 Viabilidad del polen.

Con el objetivo de determinar la viabilidad del polen se colectaron al azar entre 50 - 60 flores en antesis de cada genotipo y se les extrajo el polen con ayuda de una pinza. Se utilizaron dos métodos para evaluar la viabilidad: el de tinción con acetocarmín al 1 % (Caraballo, 2001; Gehrke-Vélez *et al.*, 2011) y mediante la polinización manual. Mediante el método con tinción, primero se pesó 0.001 g de polen y se agregaron a 50 μ L de agua destilada; seguidamente, se adicionaron 50 μ L de una solución de acetocarmín al 1 %, se agitó por un minuto y se dejó incubar a 4 °C durante 30 min en obscuridad.

Los granos de polen que se colorean son viables o fértiles, mientras que los que se mantienen incoloros son los no viables o estériles. El conteo de granos de polen se realizó con una cámara de Neubauer donde se colocaron 10 μ L de la dilución del colorante conteniendo polen y se realizó el conteo con el auxilio de un microscopio óptico (ZEISS, Axioplan), a fin de determinar el porcentaje de viabilidad (%V). Para evaluar la viabilidad del polen mediante el método de polinización manual; 10 botones florales se polinizaron por cada genotipo por tratamiento (0 h, 24 h y por 48 h de refrigeración a 4 °C). Se designó como hora cero (0 h) al polen recién colectado, el polen colectado de los restantes

tratamientos se colocó en viales sellados y fueron refrigerados a 4 °C por 24 h y por 48 h para su posterior evaluación. Transcurrido cada tiempo, se polinizaron manualmente los botones florales, los cuales fueron cubrieron con pequeñas bolsas de *glassine* hasta cuajar el fruto. Se evaluó: número de frutos cuajados (FC), largo de fruto (cm), ancho de fruto (cm), peso del fruto (g) y número de semillas por fruto (NSF).

2.3 RESULTADOS

Antesis. Al analizar los resultados relacionados con la apertura de las flores (antesis), se observaron diferencias significativas tanto entre horario de antesis como entre los genotipos estudiados (Cuadro 2.2 y 2.3). Para la mayoría de los genotipos, el mayor número de flores en antesis fue registrado a las 8:00 a.m. (Figura 2.3), excepto los genotipos RHN-03 Y RNJ-04, en los cuales la apertura de las flores ocurrió con mayor frecuencia a partir de las 12:00 p.m.

Cuadro 2. 2 Análisis de varianza de la antesis en genotipos de chile habanero.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios Antesis
Genotipos	11	8498.97*
Hora	2	99880.09*
Genotipo x Hora	22	5241.31*
Modelo	35	11479.44*
Bloque	1	4702.22
Error	107	745.22

*significativo a una probabilidad de $p < 0.05$

Cuadro 2. 3 Comparación de medias de la antesis en genotipos de chile habanero.

Genotipo	Antesis
RKI-01	30.42 cd
RHC-02	50.73 a
RHN-03	36.05 bc
RNJ-04	41.40 ab
RES-05	25.68 def
NBA-06	19.28 efgh
NKA-07	12.30 h
AKN-08	27.63 cde
ASBC-09	17.10 fgh
ASBG-10	13.13 h
MB1-11	15.60 hg
MSB-12	25.13 defg
LSD (0.05)	9.79
Hora	Antesis
8:00 a.m.	44.52 a
12:00 p.m.	29.88 b
4:00 p.m.	4.22 c
LSD (0.05)	4.89

Valores con letras iguales no difieren significativamente para una $p < 0.05$ del LSD.

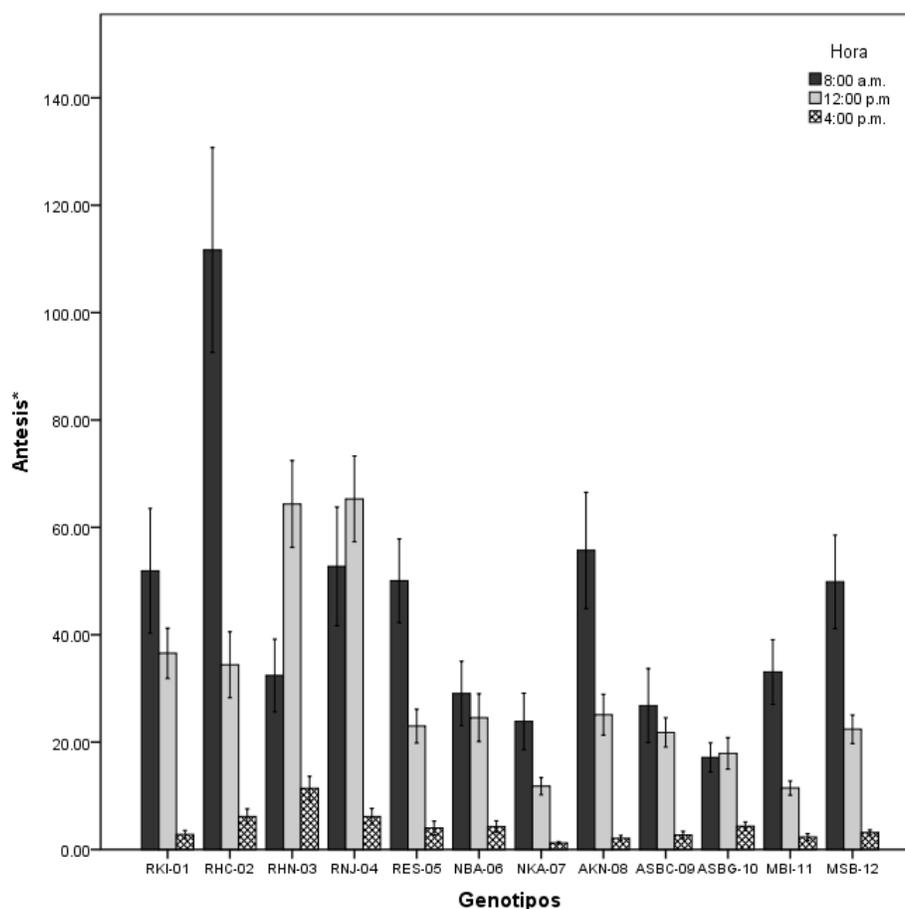


Figura 2. 3 Patrón de antesis en genotipos de chile habanero.*Las columnas representan el valor medio de flores en antesis en cada hora (8:00 a.m., 12:00 p.m. y 4:00 p.m.) durante los 10 días de evaluación. Las barras de error son valores +/- 1 SD.

Posición del pistilo con respecto a las anteras. La posición del pistilo con respecto a las anteras en los genotipos estudiados (Cuadro 2.4), se pudo apreciar que sólo AKI-08 presentó *pistilo exserto* en la totalidad de sus flores evaluadas (100 %), seguido por el genotipo RES-05 el cual se presentó con el *pistilo ligeramente exserto* en la mayoría de sus flores (82 %); los genotipos RKI-01, NBA-06 y NKA-07 predominó el *pistilo al nivel de las anteras* en la mayoría de sus flores (70 % y 78 %), contrastando con el genotipo ASBG-10 que presentó frecuencias similares (35 %, 40 % y 25 %) para las diferentes posiciones del pistilo respectivamente, excepto para *pistilo incerto* (0). El resto de los genotipos (seis) presentaron el *pistilo ligeramente exserto* con un porcentaje en un rango entre 50 % - 67

%. Los análisis estadísticos indican que, en relación con la posición del pistilo, todos los genotipos excepto AKN-08, presentaron frecuencias que van de moderadas ($\leq 40\%$) a altas ($> 40\%$), en las diferentes posiciones ($X^2 = 32.658$, $p < 0.05$) (Cuadro 2.5).

Cuadro 2. 4 Porcentaje de flores con diferente posición del pistilo con respecto a las anteras en genotipos de chile habanero.

GENOTIPOS	POSICIÓN DEL PISTILO			
	-1	0	2	3
RKI-01	5	77	18	-
RHC-02	-	18	55	27
RHN-03	-	13	50	37
RNJ-04	-	10	63	27
RES-05	-	7	82	12
NBA-06	-	70	28	2
NKA-07	17	78	5	-
AKN-08	-	-	-	100
ASBC-09	-	8	60	32
ASBG-10	-	35	40	25
MBI-11	-	-	48	43
MSB-12	-	18	50	7

-1: Pistilo inserto, 0: Pistilo al nivel de las anteras, 2: Pistilo ligeramente exserto (hasta 1 mm por encima de las anteras 3: Pistilo exserto (pistilo > 1 mm con respecto a las anteras).

Cuadro 2. 5 Posición del pistilo en flores en antesis en genotipos de chile habanero.

POSICIÓN DEL PISTILO	POSICIÓN	GENOTIPOS
Chi-cuadrado (X^2)	32.658	2.596
Grados de libertad (gl)	3	11
Significación Asintótica	0.000	0.995

Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis, $p < 0.05$

Dehiscencia de las anteras De acuerdo a las observaciones realizadas respecto a la apertura de las anteras, *el día previo a la antesis* (botón floral) el 100 % de las anteras se encuentran cerradas (Cuadro 2.6), excepto en el progenitor RHC-02 que presentó el 12 % de sus botones florales con anteras semiabiertas. La dehiscencia de las anteras, ocurrió de manera longitudinal (lo) (Figura 2.4 G.) observando granos de polen una hora después de la apertura de la flor. La prueba de Chi-cuadrado (X^2) indica que la apertura de las anteras

es diferente en los cuatro tiempos evaluados: *día previo a la antesis* (botón floral), flores el *día de la antesis* en tres horarios: 8:00 a.m., 10:00 a.m. y 12:00 p.m., ($\chi^2= 9.623$, $p < 0.05$) y no se revelo diferencias entre genotipos ($\chi^2= 1.794$, $p > 0.05$) (Cuadro 2.7). El genotipo ASBG-10, fue descartado en la evaluación de receptividad del estigma y en viabilidad de polen debido a que presento un elevado aborto floral; no contando con las flores suficientes para las siguientes evaluaciones (receptividad del estigma y viabilidad de polen).

Cuadro 2. 6 Porcentaje de anteras cerradas (ac), anteras semiabiertas (as) y anteras abiertas (aa) en botones y flores en antesis en genotipos de chile habanero.

GENOTIPOS	DÍA PREVIO A LA ANTESIS			DÍA DE ANTESIS								
	Botones			08:00 a.m.			10:00 a.m.			12:00 p.m.		
	ac (%)	as (%)	aa (%)	ac (%)	as (%)	aa (%)	ac (%)	as (%)	aa (%)	ac (%)	as (%)	ac (%)
RKI-01	100	0	0	0	3	97	5	5	90	7	15	62
RHC-02	88	12	0	0	5	95	8	12	80	2	8	90
RHN-03	100	0	0	0	85	15	0	82	18	0	67	33
RNJ-04	100	0	0	0	2	98	12	17	72	7	20	73
RES-05	100	0	0	0	3	97	17	7	77	5	18	77
NBA-06	100	0	0	0	20	80	10	7	83	0	18	82
NKA-07	100	0	0	0	8	92	8	28	63	7	13	63
AKN-08	100	0	0	0	5	95	8	12	80	5	25	70
ASBC-09	100	0	0	0	5	95	15	13	72	0	8	92
ASBG-10	100	0	0	0	3	97	0	18	82	0	8	42
MBI-11	100	0	0	0	2	98	23	10	83	3	12	85
MSB-12	100	0	0	2	5	93	3	8	88	0	12	88

ac: anteras cerradas, as: anteras semiabiertas, aa: anteras abiertas.

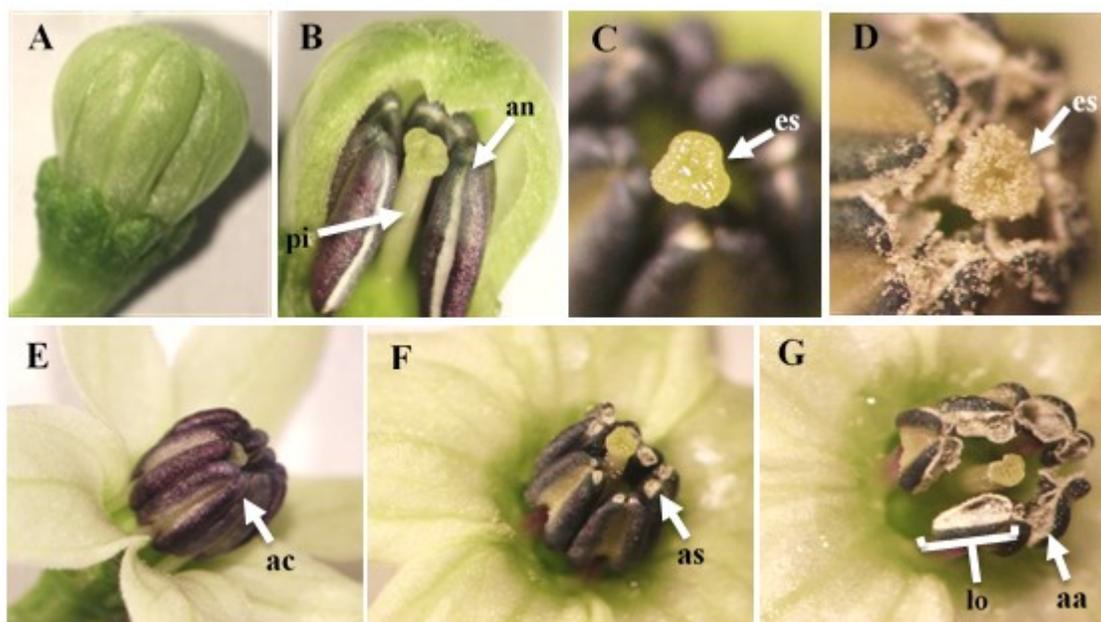


Figura 2. 4 Dehiscencia de anteras en botón floral y flores en antesis en genotipos chile habanero. **A.** Botón floral (día previo a la antesis) apto para emasculación, **B.** Anteras cerradas en botón floral, **pi.** Pistilo, **an.** Antera, **C.** Estigma libre de polen en botón floral, **es.** Estigma **D.** Estigma cubierto con polen con las anteras abiertas en flor en antesis, **E.** Anteras cerradas (**ac**) de flor en antesis, **F.** Anteras semiabiertas (**as**) de flor en antesis. **G.** Anteras abiertas (**aa**) en flor en antesis, **lo.** Apertura longitudinal de las anteras. Las flechas en las figuras; E, F y G apuntan la ubicación de la apertura de la antera.

Cuadro 2. 7 Horario de apertura de las anteras en genotipos de chile habanero.

APERTURA	ESTADIOS	HORA	GENOTIPOS
Chi-cuadrado (X^2)	28.269	9.623	1.794
Grados de libertad (gl)	2	3	11
Significación Asintótica	0.000	0.022	0.999

Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis, $p < 0.05$

Receptividad del estigma. El comportamiento de los diferentes genotipos en relación a la receptividad del estigma, se pudo observar que el genotipo AKN-08 resultó el de mayor receptividad (100 %), para todos los estadios evaluados (*previo a la antesis, durante la antesis y posterior a la antesis*). En los genotipos RKI-01 Y RES-05 se apreció un incremento gradual de la receptividad del estigma desde *un día previo a la antesis* hasta un

día posterior a la antesis (Figura 2.5). Sin embargo, los genotipos RHN-03 y MSB-12 mostraron un patrón diferente al resto de los genotipos en el que la receptividad del estigma fue *baja previo a la antesis*, *aumentó durante la antesis* y *disminuyó posterior a la antesis*. En chile habanero, la mayor receptividad se presentó *un día posterior a la antesis* para la mayoría de los progenitores, excepto para los genotipos RHN-03 y MSB-12 en el que la receptividad disminuye (Figura 2.6). La receptividad del estigma resultó positiva desde *un día previo a la antesis* hasta *un día posterior a la antesis*, en todos de los genotipos (Cuadro 2.8).

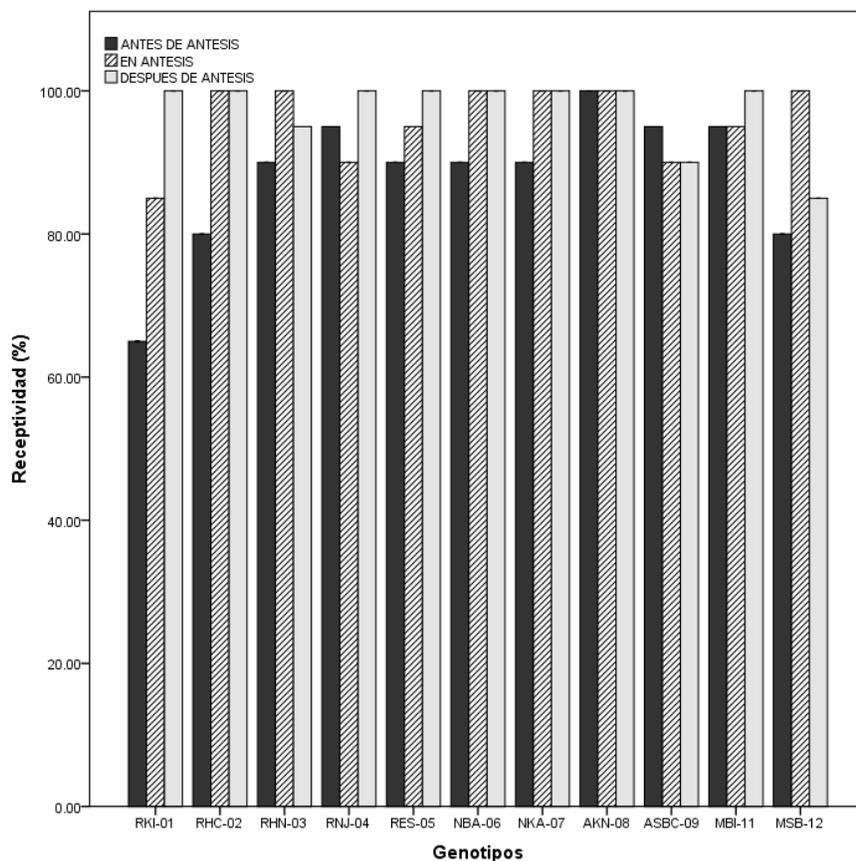


Figura 2. 5 Receptividad del estigma en genotipos de chile habanero. Los columnas representan el porcentaje de estigmas receptivos (n = 20).

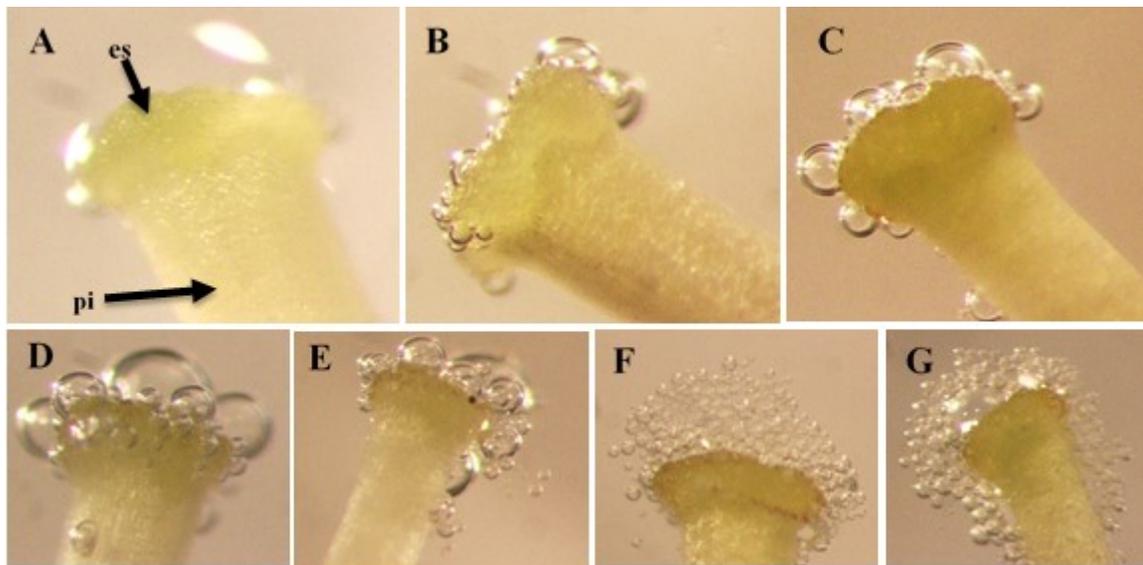


Figura 2. 6 Receptividad del estigma de chile habanero evaluada con H_2O_2 al 3 %. **A.** Estigma no receptivo (0) en botón floral (antes de antesis), se puede apreciar el estigma libre de burbujas: **pi.** Pistilo, **es.** Estigma, **B y C.** Estigma receptivo (1) de botón floral *previo a la antesis* (antes de antesis), se puede apreciar burbujas alrededor del estigma. **D y E.** Estigma receptivo de flor *durante la antesis* (en antesis) **F y G.** Estigma receptivo en flor de *un día posterior a la antesis* (después de antesis). Se puede apreciar el aumento de burbujas desde botón floral hasta la flor después de antesis.

Cuadro 2. 8 Receptividad del estigma en genotipos de chile habanero.

	Categoría	N	Probabilidad observada	Probabilidad de prueba	Significación exacta (bilateral)
Grupo 1	Receptivo	619	0.97	0.50	0.000
Grupo 2	No receptivo	41	0.03		
Total		660	1.00		

Estadístico de prueba: Prueba binomial, N: número de pistilos.

Viabilidad del polen. La viabilidad del polen varió dependiendo del tiempo de conservado (en refrigeración) después de su colecta (Figura 2.7). De los tres momentos evaluados (0, 24 y 48 h), el mejor tiempo para utilizarlo fue al momento de cosecharlo (0 h) ya que el polen presentó el mayor porcentaje de viabilidad (88 %) y el mayor número de semillas por fruto (NSF) con un promedio de 56 para la mayoría de los genotipos, excepto RNJ-04, NKA-06, AKN-08 y ASBC-09, aunque el porcentaje frutos cuajados (%FC) resultó bajo (Cuadro 2.9). El resto de las variables evaluadas, como lo fueron largo de fruto (LF), ancho de fruto (AF) y peso de fruto (PF), no se vieron significativamente afectadas por los diferentes tiempos de conservación de polen evaluados.

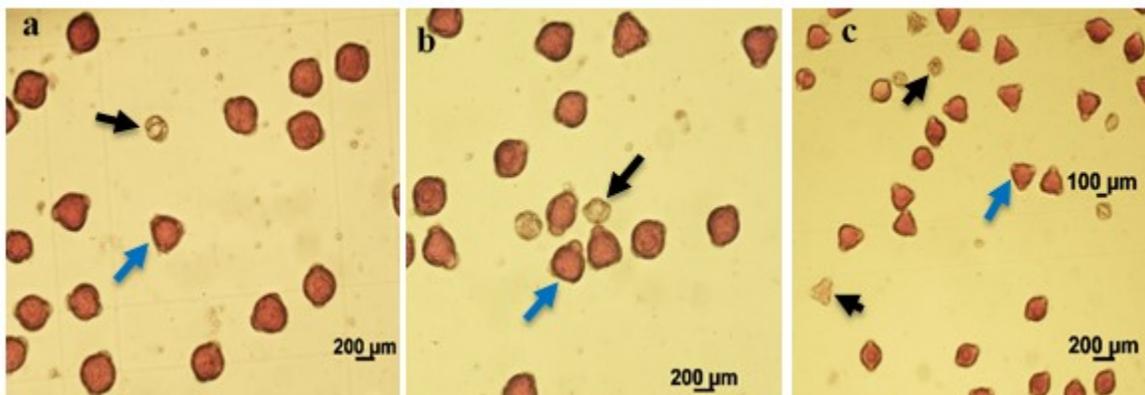


Figura 2. 7 Micrografía de granos de polen de chile habanero. **a)** Granos de polen a las 0 h (día de colecta), **b)** Granos de polen después de 24 h de estar guardado a 4 °C, **c)** Granos de polen después de 48 h de estar guardado a 4 °C. La tinción roja (flecha azul) indica que los granos de polen son viables, la falta de tinción indica que no son viables (flecha negra).

Cuadro 2. 9 Viabilidad de polen guardado a 4 °C en genotipos de chile habanero.

Genotipos	0 h						24 h						48 h					
	% Viabilidad	% No. Frutos	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)	No Semillas	% Viabilidad	% No. Frutos	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)	No Semillas	% Viabilidad	% No. Frutos	Largo (cm)	Ancho (cm)	Peso (g)	No Semillas
RKI-01	90	30	4.53	3.33	11.05	70	84	40	4.37	4.52	22.52	89	77	50	3.74	4.42	20.03	80
RHC-02	89	50	4.13	4.39	19.73	76	78	80	3.61	2.95	8.01	32	77	30	3.06	3.11	8.45	22
RHN-03	86	80	4.56	3.08	14.93	59	83	15	5.40	3.14	15.02	49	77	60	4.36	2.91	11.95	47
RNJ-04	85	0	-	-	-	-	81	50	3.13	2.20	5.88	5	78	40	3.46	2.53	6	6
RES-05	91	43	2.69	4.38	13.03	72	84	30	2.59	4.16	12.11	25	79	50	2.15	3.53	7.18	22
NBA-06	87	30	3.41	2.49	6.3	15	85	50	3.12	2.16	4.67	9	80	-	-	-	-	-
NKA-07	86	19	3.58	3.93	16.91	94	82	10	3.46	3.58	14.98	88	79	10	3.66	4.02	16.34	32
AKN-08	95	40	3.50	3.20	8.39	53	88	60	2.98	2.63	6.01	28	87	60	3.53	2.59	6.31	24
ASBC-09	93	80	3.93	2.93	10.94	49	86	60	4.02	2.85	10.21	57	86	90	3.92	2.89	10.33	29
MBI-11	78	70	2.20	4.04	10.81	60	77	40	1.70	2.93	5.04	13	87	30	1.42	2.54	3.2	3
MSB-12	93	70	2.76	3.09	6.53	71	81	70	2.89	3.14	10.73	83	80	60	2.82	3.38	7.68	70
\bar{x}	88	47	3.21	3.17	10.78	56	83	46	3.39	3.12	10.47	42	81	44	2.92	2.90	8.86	30

2.4 DISCUSIÓN

En general para la mayoría de los genotipos, el mayor número de flores en antesis fue registrado a las 8:00 a.m., excepto los genotipos RHN-03 Y RNJ-04, en los cuales la apertura de las flores ocurrió con mayor frecuencia a partir de las 12:00 p.m. Estos resultados permiten establecer que ese es el momento del día en el que se debe coleccionar su polen, cuando estos genotipos sean utilizados como progenitores masculinos, dentro del programa de cruzamientos. En un estudio similar, Aleemullah *et al.* (2000) analizando la fenología de la floración de *Capsicum annuum* observaron que la antesis se presentó con mayor frecuencia, durante la mañana. En un estudio sobre la biología reproductiva de *Jatropha curcas*, Rincón-Rabanales *et al.* (2016) encontraron que las flores, tanto masculinas como femeninas, comienzan a abrirse a las 8:00 h, y que la máxima apertura de las flores se registra a las 9:00 h. Mientras, Mir *et al.* (2013) estudiando la biología reproductiva de *Withania ashwagandha* sp. Novo (Solanaceae) observaron que la antesis ocurrió en un intervalo entre las 8:00 - 11:00 h. Estos resultados permiten inferir que la antesis está afectada por diversos factores, particularmente por el genotipo y por el ambiente.

Al analizar la posición del pistilo con respecto a las anteras en los genotipos estudiados, se pudo apreciar que sólo AKI-08 presentó *pistilo exserto* en la totalidad de sus flores evaluadas (100 %), los genotipos RKI-01, NBA-06 y NKA-07 predominó el *pistilo al nivel de las anteras* en la mayoría de sus flores (70 % y 78 %). La mayoría de los genotipos presentaron el *pistilo ligeramente exserto* con un porcentaje en un rango entre 50 % - 67 %. Estos resultados indican que *C. chinense*, al menos bajo las condiciones edafoclimáticas de la Península de Yucatán, se comporta como una especie *alógama facultativa*. Esta clasificación de chile habanero ha sido mencionada reiterativamente, de manera empírica, en trabajos previos; sin embargo, en este reporte, por primera vez, está sustentada en un estudio de la biología reproductiva de 12 genotipos de la especie (Cuadro 2.4). Estos resultados permiten confirmar que existe un nivel de alogamia importante en la especie, el cual puede variar entre genotipos y que debe ser tomada en cuenta en los programas de mejoramiento genético y de producción de semilla de chile habanero. Opedal *et al.* (2018) menciona que la herkogamia o la separación espacial de las anteras y los estigmas dentro de las flores, es un rasgo que promueve el entrecruzamiento o evita la autogamia. Larrinaga

et al. (2009) estudiando la morfología floral de *Narcissus cyclamineus* (Amaryllidaceae) observaron que la posición relativa de los estigmas y las anteras tiene un efecto significativo en el éxito reproductivo femenino. Información similar ha sido reportada en tomate por Pan *et al.* (2017) indicando que la autogamia suele estar asociada con la posición de la antera en relación con el estigma. En la polinización cruzada, la superficie estigmática del pistilo recibe el polen de las flores vecinas, las flores autopolinizadas se caracterizan típicamente por una superficie estigmática que está empotrada dentro de su propia antera.

De acuerdo a las observaciones realizadas respecto a la apertura de las anteras, *el día previo a la antesis* (botón floral) el 100 % de las anteras se encuentran cerradas (Cuadro 2.6). La dehiscencia de las anteras, ocurrió de manera longitudinal observando granos de polen una hora después de la apertura de la flor. Resultados similares fueron reportados por Aleemullah *et al.* (2000), quienes trabajando con *Capsicum annuum* observaron que la dehiscencia de las anteras fue longitudinal y la liberación de los granos de polen se inició una hora después de la apertura de la flor. En un estudio sobre la biología reproductiva de otra especie (*Cornus capitata*), Khanduri *et al.* (2017) reportaron que la apertura de la antera también ocurre del ápice a la base. Resultados similares fueron reportados por Douglas and Freyre *et al.* (2010) estudiando la biología reproductiva de *Nolana* (Solanaceae). En base a los resultados de la evaluación de la apertura de anteras, lo recomendable es realizar la polinización *el día previo a la antesis* (en botón floral) para tener la certeza de que las anteras están cerradas y no existe presencia de polen el estigma.

Al analizar el comportamiento de los diferentes genotipos en relación a la receptividad del estigma, en los genotipos RKI-01 y RES-05 se apreció un incremento gradual de la receptividad del estigma desde *un día previo a la antesis* hasta *un día posterior a la antesis* (Figura 2.5). Sin embargo, los genotipos RHN-03 y MSB-12 mostraron un patrón diferente al resto de los genotipos en el que la receptividad del estigma fue baja *previo a la antesis*, aumentó *durante la antesis* y disminuyó *posterior a la antesis*. En un estudio similar Aleemullah *et al.* (2000) determinaron el período de receptividad en *C. annuum* indicando que el pistilo fue más receptivo en -1 (un día pre-antesis), 0 (día de antesis) y +1 (día post-antesis). Recientemente, Crispim *et al.* (2017) observaron que las flores de pimiento ornamental, aunque son receptivas desde la fase de botón floral, la mayor receptividad fue observada posterior a la antesis. Zhang *et al.* (2018) en un estudio sobre la biología floral y la receptividad del pistilo de *Moringa oleifera* Lam., reportaron que la mayor receptividad del estigma se registró los días 1 y 2 posterior de la antesis, con más del 93 % de los estigmas

receptivos. En Chile habanero la mayor receptividad se presentó *un día posterior a la antesis* para la mayoría de los progenitores (Figura 2.6). Estos resultados permiten planear y diseñar de manera eficiente, un programa de cruzamientos para la obtención de híbridos de Chile habanero. Según Ofuso-Anim *et al.* (2006), el estigma de las flores de pimiento (*C. annuum*) mantienen su receptividad por tres días (el día de la antesis; y dos días posteriores a la antesis). En nuestro estudio la receptividad del estigma resultó positiva desde *un día previo a la antesis* hasta *un día posterior a la antesis*, en todos de los genotipos (Cuadro 2.8) es recomendable que *un día previo a la antesis* (botón floral) se realicen los cruzamientos ya que las anteras se encuentran cerradas en su totalidad (100 %) en la mayoría de los genotipos. De esta manera se evitaría la autofecundación. Resultados similares fueron reportados por Gomes *et al.* (2009) quienes estudiando la biología reproductiva de genotipos de acroleína también observaron que los botones florales son factibles de emasculación.

La viabilidad del polen varió dependiendo del tiempo de conservación (en refrigeración) después de su colecta. De los tres momentos evaluados (0, 24 y 48 h), el mejor tiempo para utilizarlo fue al momento de cosecharlo (0 h) ya que el polen presentó el mayor porcentaje de viabilidad (88 %) y el mayor número de semillas por fruto (NSF) con un promedio de 56 para la mayoría de los genotipos, aunque el porcentaje frutos cuajados (%FC) resultó bajo (Cuadro 2.9). Según Mir *et al.* (2013), quienes trabajaron con la especie *Withania ashwagandha* sp. Novo (Solanaceae), mencionan que la baja fructificación en la polinización cruzada es un indicador de fijación parcial de la autogamia. En general, las plantas con flores poseen una amplia gama de mecanismos morfológicos y fisiológicos que influyen en sus patrones de apareamiento y en particular en el grado de auto fertilización. Las variables: largo de fruto (LF), ancho de fruto (AF) y peso de fruto (PF), no se vieron significativamente afectadas por los diferentes tiempos de conservación de polen evaluados (Cuadro 2.9). García *et al.* (2011) evaluando las características del fruto de un pimiento silvestre (*Capsicum flexuosum*), observó que cuando se realizó la polinización manual, el número de semillas por fruto aumentó con el tamaño del fruto. Existen reportes sobre estudios de la viabilidad de polen en otras especies, como guayabo (*Psidium guajava* L.) (Caraballo, 2001), y en Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataúlfo (Gehrke-Vélez *et al.*, 2011). Los resultados de la viabilidad de polen permitirán determinar la factibilidad de utilizar cada genotipo como progenitor masculino y/o como progenitor femenino en un programa de cruzamientos de esta especie.

CAPÍTULO III**ANALYSIS OF GENETIC PARAMETERS, CHARACTER ASSOCIATIONS AND CONTRIBUTION FOR AGRONOMICAL TRAITS IN HABANERO PEPPER (*Capsicum chinense* Jacq.) OF THE YUCATAN PENINSULA, MEXICO.**

Laura P. Peña-Yam, Liliana S. Muñoz-Ramírez, Susana A. Avilés-Viñas, Adriana Canto-Flick, Jacobo Pérez-Pastrana, Adolfo Guzmán-Antonio, Nancy Santana-Buzzy¹

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY). Calle 43 No. 130, Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, CP 97205, México

Erick A. Aguilera-Cauich, Javier O. Mijangos-Cortés

Unidad de Recursos Naturales, Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), Mérida, Yucatán, México

¹To whom reprint requests should be addressed. Email address: buzzy@cicy.mx

Este capítulo ha sido publicado en la revista HortScience:

HORTSCIENCE 54(3):429–433. 2019. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI113710-18>

3.1 ABSTRACT

The variability and genetic parameters of seven agronomic characteristics were estimated in 11 genotypes, obtaining high values of the phenotypic coefficient of variation (PCV) in capsaicin content (CC). Heritability (h^2) was found to be high for yield per plant (YP) 0.98 and CC (0.93). The principal components analysis (ACP) revealed that the first three components explain 94.02 % of the total variation, placing in quadrant I the genotypes with higher values in YP and fruit weight (FW) (AKN-08, ASBC-09), in quadrant II those with greater CC, and lowest in YP and FW (MBI-11, RES-05), in quadrant III; the greatest fruit length (FL) (RNJ-04) and in quadrant IV those with the greatest number of fruits per plant (NFP) (NBA-06, RKI-01, RHC-02, RHN-03, NKA-07 and MSB-12). The results show that the genotypes studied constitute an excellent source of genetic material for the improvement program of Habanero pepper.

Additional index words: heritability, genetic improvement, hybrid production, germplasm resources.

3.2 INTRODUCTION

The genus *Capsicum* includes all the diversity of peppers and chilies, which are the most consumed vegetables in the world and Mexico is the country with the greatest genetic diversity of this plant genus. *Capsicum* comprises a complex of taxa (species and varieties) which show a high genetic and phenotypic diversity; there are 32 described taxa, of which five are considered to be domesticated: *C. annuum* L. (Bell pepper, Jalapeños), *C. frutescens* L. (Tabasco variety), *C. chinense* Jacq. (Habanero pepper and Scotch Bonnet), *C. baccatum* (Aji variety) and *C. pubescens* L. (Rocoto and Manzano varieties) (Baba *et al.*, 2016). Habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) is one of the most demand species in the market, within this genus, and represents the hottest chilies in the world.

The Mexican Habanero pepper is distinguished from the Habanero pepper grown in any other region of the world, for its aroma, flavor and particularly by its high itching. For these attributes was granted to Habanero pepper of the Yucatan Peninsula, the Denomination of Origin in 2010 (DOF, 2012). Habanero pepper of the Yucatan Peninsula is characterized by the great diversity of shapes and colors of the fruit. However, the absence of improved varieties has been one of the factors of the slow development of the crop in the region.

Precise estimates of genetic parameters such as components of variance and narrow-sense heritability for economically important population characteristics in breeding programs allow us to calculate optimal selection rates, maximize genetic gain rates and choose the most appropriate selection system (Silva-Cifuentes *et al.*, 2011). The extent of genetic variability is of paramount importance for the improvement of a crop as greater is the genetic variability in the existing germplasm better would be the chances of selecting superior genotypes (Bhatia and Kumar, 2017). The genetic variability has been studied and different genetic parameters have been estimated in others species but not in *C. chinense* Jacq. (Mishra *et al.*, 2015; Mehmood *et al.*, 2014; Saoudi *et al.*, 2016; Sieczko *et al.*, 2015; Tripathi *et al.*, 2012; Tripathi *et al.*, 2013).

The aim of the present work was to evaluate and select outstanding progenitors of Habanero pepper for their agricultural yield and for their high capsaicin content, based on the heritability index and on the genetic variability, with the purpose of incorporating them in a cross-breeding program to obtain F1 Lines with high productive potential and elevated pungency.

3.3 MATERIALS AND METHODOS

An evaluation was carried out on eleven genotypes from the germplasm of *C. chinense* Jacq., conserved in the Scientific Research Center of Yucatan, Mexico (Table 3.1). The evaluation was conducted in the greenhouses of the seed production unit in the Scientific and Technological Park of Yucatan, located in Sierra Papacal, Merida, Yucatan at 21° 07' 20" N 89° 43' 41" O at an altitude of 9 meters above sea level, from September 2016 to June 2017.

Table 3. 1 Characters associated with the fruit of the eleven genotypes of *Capsicum chinense* Jacq.

Genotype	Color in immature state	Color in mature state	Shape of Fruit	Type of Epidermis
RKI-01	Light green	Red	Triangular	smooth
RHC-02	Light green	Red	Campanulate	smooth
RHN-03	Dark green	Red	Triangular	smooth
RNJ-04	Dark green	Red	Triangular	Strongly wrinkled
RES-05	Light green	Red	Square	Strongly wrinkled
NBA-06	Dark green	Orange	Triangular	smooth
NKA-07	Dark green	Orange	Triangular	smooth
AKN-08	Dark green	Yellow	Square	smooth
ASBC-09	Dark green	Yellow	Campanulate	Slightly wrinkled
MBI-11	Dark green	Greyed-Purple	Rectangle	smooth
MSB-12	Dark green	Greyed-Purple	Campanulate	Slightly wrinkled

An experimental design of completely randomized blocks, with four repetitions was used. The agronomic management was conducted in the following manner: the transplant was carried out in growbag (Pelemix Guadalajara Jalisco 44680, Mexico) with a length of one meter. Coconut fiber (thick and fine) in a proportion 70:30 was used as substrate; the distance between plants and rows was 20 cm and 160 cm, respectively. Eight plants of each genotype per block were evaluated in the third and fourth harvest; the morphological characterization of the fruit was based on the descriptors for the genus *Capsicum* (IPGRI, 1995). The characters evaluated were; FW: fruit weight (g), PT: pericarp thickness (cm), FL: fruit length (cm), WF: fruit width (cm), NFP: number of fruits per plant, YP: yield per plant

(g·plant⁻¹). In addition, the capsaicin content (CC) was determined [mg·g⁻¹ of dry weight (DW)] with the method of Collins *et al.* (1995), and quantified by high performance liquid chromatography (HPLC).

The data obtained were subjected to (ANOVA) variance analysis test were performed and Tukey's test of comparison of means ($P \leq 0.05$), using the SAS program version 9.1 for Windows (SAS Inst., Inc. 2003). The association between characters was determined using the correlations of Pearson, employing the IBM statistical program *SPSS Statistics version 22* (IBM Corp. Release, 2013). The average values of the data of the characters evaluated were subjected to a principal components analysis (ACP) and a hierarchical cluster analysis, using the Euclidean distance and ligation algorithm UPGMA as dissimilarity index, for which the statistical package NTSySpc 2.2 (Rohlf, 2005) was used. The following genetic parameters were determined: variances and coefficients of variation (genotypic, phenotypic and environmental), as well as heritability in a broad sense (h^2), according to the methodology reported by Pistorale *et al.* (2008):

Variances:

$$\text{Genetic variance } (\sigma^2_G) = MS_g - MS_e / r$$

$$\text{Environmental variance } (\sigma^2_E) = MS_e$$

$$\text{Phenotypic variance } (\sigma^2_P) = \sigma^2_G + \sigma^2_E$$

Where: MS_g = mean square of the genotypes, MS_e = mean square of the experimental error, r = number of repetitions.

Coefficients of variation:

$$\text{Genotypic coefficient of variation (GCV)} = \sqrt{\frac{\sigma^2_G \times 100}{\bar{x}}}$$

$$\text{Phenotypic coefficient of variation (PCV)} = \sqrt{\frac{\sigma^2_P \times 100}{\bar{X}}}$$

$$\text{Environmental coefficient of variation (ECV)} = \sqrt{\frac{\sigma^2_E \times 100}{\bar{X}}}$$

\bar{X} = mean of each variable.

Heritability

$$\text{Heritability (h}^2\text{)} = \sigma^2_G / \sigma^2_P$$

$$\text{Where: } \sigma^2_P = \sigma^2_G + \sigma^2_E$$

The genetic advance (GA) and the genetic advance as mean percentage (%GA of the mean) was estimated in accordance with Acquah (2009): $AG = ih^2\sigma$ (where; 2.06 at 5 %, h^2 : Heritability, σ : Phenotypic variation) and the %GA of the mean = $(GA / \bar{X}) \times 100$ where \bar{X} = mean of each variable.

3.3 RESULTS

The analysis of variance (ANOVA) revealed significant differences among the eleven varieties for quantitative traits indicating the existence of variability among varieties for studied characters (Table 3. 2). With the analysis of means among the genotypes, for the different characters evaluated, standed the genotype ASBC-09 differed significantly from the rest of the genotypes evaluated for the characters; WF and YP with 4.32 cm and 2610.28 g·plant⁻¹ ($P = 0.000$ and $P = 0.000$) respectively (Table 3.3). The genotypes of yellow fruit: ASBC-09 and AKN-08, they present a higher FW with 16.82 g and 16.68 g respectively, without deferring one from another ($P = 1.00$). The genotype RES-05 presented the highest CC with 147.11 mg·g⁻¹ DW. As a result, a wide range of variation was obtained in the values

of coefficient of variation (CV) (14.08 % at 94.50 %), for all the characters evaluated. The highest values corresponded to the characters CC (94.50 %) and NFP (27.52 %), while the lowest values were for the characters FL (14.08 %) and WF (15.99 %) (Table 3. 2).

Table 3. 2 Analysis of variance of the seven characters evaluated in eleven genotypes of *C. chinense* Jacq.

Characters	df	Mean squares			CV %
		Replication 3	Genotype 10	Error 30	
FW (g)		0.011	44.64*	0.10	27.19
PT (cm)		0.000	0.007*	0.00	18.93
FL (cm)		0.008	1.57*	0.01	14.08
WF (cm)		0.023	1.08*	0.01	15.99
NFP		30.60	10725.27*	42.77	27.52
YP (g·plant ⁻¹)		567.14	1331868.34*	597.15	26.50
CC(mg·g ⁻¹ DW)		0.009	7949.15*	11.89	94.50

*Significant difference ($P \leq 0.05$), df: degrees of freedom, CV %: coefficient of variation in percentage, FW: fruit weight, PT: pericarp thickness, FL: fruit length, WF: fruit width, NFP: number of fruits per plant, YP: yield per plant, CC: capsaicin content.

Table 3.3 Mean of the seven characters evaluated in eleven genotypes of *C. chinense* Jacq.

Genotype	FW (g)	PT (cm)	FL (cm)	WF (cm)	NFP	YP (g·plant ⁻¹)	CC (mg·g ⁻¹ DW)
RKI-01	14.11 b ^z	0.220 cd	4.90 b	3.01 cd	170 ed	2393.75 cd	23.68 de
RHC-02	12.73 c	0.193 e	4.32 c	3.14 c	184 d	2342.31 de	15.71 e
RHN-03	9.75 de	0.239 bc	4.02 d	2.81 d	240 b	2276.00 f	20.34 de
RNJ-04	6.75 g	0.146 f	5.28 a	2.42 e	220 c	1482.28 g	120.38 b
RES-05	7.77 f	0.166 f	3.63 e	2.97 cd	109 g	846.78 i	147.11 a
NBA-06	12.70 c	0.252 b	4.81 b	2.94 cd	182 d	2315.25 ef	28.95 d
NKA-07	10.46 d	0.227 c	5.03 ab	3.01 cd	239 b	2501.32 b	29.09 d
AKN-08	16.68 a	0.234 bc	4.48 c	3.67 b	149 f	2485.28 b	26.52 d
ASBC-09	16.82 a	0.279 a	3.62 e	4.32 a	155 ef	2610.28 a	23.82 de
MBI-11	13.53 bc	0.198 de	4.24 cd	2.95 cd	105 g	1418.62 h	44.54 c
MSB-12	9.55 e	0.284 a	3.41 e	3.66 b	256 a	2448.01 bc	21.62 de

^zMeans within a column followed by the same letter are not significantly different at $P \leq 0.05$, by Tukey's Studentized range test. FW: fruit weight, PT: pericarp thickness, FL: fruit length, WF: fruit width, NFP: number of fruits per plant, YP: yield per plant, CC: capsaicin content.

Variability, Heritability and Genetic advance. The results of the variability analysis, in terms of range, general average, variances (genetic, phenotypic and environmental); coefficients of variation: genotypic (GCV), phenotypic (PCV) and environmental (ECV); heritability in a broad sense (h^2), genetic advance (GA), and genetic advance as percentage of mean, are shown in Table 4. A maximum range of variation was observed for the character YP ($1772.38 \text{ g}\cdot\text{plant}^{-1}$), followed by the characters NFP and CC with values of 163 and $138.60 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1} \text{ DW}$, respectively. The characters with lowest ranges of variation were registered for PT whit 0.15 cm , FL (2.16 cm) and WF (2.10 cm). The estimates of the GCV and PCV were higher for the CC (29.45 % and 30.40 %, respectively) and NFP (8.53 % and 9.25 %, respectively) (Table 3. 4).

It is interesting to note the high heritability obtained for the characters YP (0.98), CC (0.93), FW (0.91) and NFP (0.85) (Table 3.4). It was also observe high heritability in conjunction with high genetic advance as percentage of the mean, for these same characters.

Table 3. 4 Parameters of genetic variability of the seven characters evaluated in eleven genotypes of *C. chinense* Jacq.

Characters	Mean	Range	Variance			Coefficient of Variance			h ²	Genetic advance	
			Genetic	Phenotypic	Environmental	GCV (%)	PCV (%)	ECV (%)	Broad Sense	GA	GA % mean
FW (g)	11.90	10.50	1.01	1.12	0.10	8.46	8.88	2.71	0.91	2.09	17.53
PT (cm)	0.22	0.15	0.00016	0.00024	0.00008	5.79	7.01	3.96	0.68	0.0003	0.15
FL (cm)	4.34	2.16	0.04	0.05	0.01	4.33	5.05	2.61	0.73	0.07	1.67
WF (cm)	3.17	2.10	0.02	0.03	0.01	4.91	5.77	3.03	0.72	0.05	1.58
NFP	182.64	163.00	242.78	285.56	42.77	8.53	9.25	3.58	0.85	500.14	273.84
YP (g·plant⁻¹)	2101.81	1772.38	30256.16	30853.31	597.15	8.28	8.36	1.16	0.98	62327.70	2965.43
CC (mg·g⁻¹ DW)	45.61	138.60	180.39	192.28	11.89	29.45	30.40	7.56	0.93	371.61	814.75

GCV: genotypic coefficient of variation, PCV: phenotypic coefficient of variation, ECV: environmental coefficient of variation, h²: heritability in broad sense GA: genetic advance, GA % mean: genetic advance as percentage of mean, FW: fruit weight, PT: pericarp thickness, FL: fruit length, WF: fruit width, NFP: number of fruits per plant, YP: yield per plant, CC: capsaicin content.

Correlations analysis. The direction and magnitude of the phenotypic association of the different characters analyzed indicate that the YP is positively correlated with PT (0.770**) and with the WF (0.519**) (Table 3. 5). This result indicates that fruits with thick pericarp present high yield. The CC presented a correlation inversely proportional with YP (-0.883**) and PT (-0.744), from which we can infer that the genotypes with a higher capsaicin content (RNJ-04 and RES-05) present lower yield and pericarp thickness reduced. In the case of FW, this showed a positive correlation with WF (0.662**) and with YP (0.558**), indicating that the genotypes with greater yield (ASBC-09 and AKN-08) presented the highest fruit weight and the greatest fruit width, while WF presented an inversely proportional correlation with the FL (-0.573**).

Table 3. 5 Phenotypic correlation between the seven traits evaluated in eleven genotypes *C. chinense* Jacq.

Characters	FW (g)	PT (cm)	FL (cm)	WF (cm)	NFP	YP (g·plant ⁻¹)	CC (mg·g ⁻¹ DW)
FW (g)	1	0.492**	-0.070	0.662**	-0.416**	0.558**	-0.484**
PT (cm)		1	-0.399**	0.696**	0.318*	0.770**	-0.744**
FL (cm)			1	-0.573**	0.171	0.063	0.042
WF (cm)				1	-0.133	0.519**	-0.436**
NFP					1	0.503**	-0.314*
YP (g·plant⁻¹)						1	-0.883**
CC(mg·g⁻¹ DW)							1

** Significant difference ($P < 0.05/0.01$). FW: fruit weight, PT: pericarp thickness, FL: fruit length, WF: fruit width, NFP: number of fruits per plant, YP: yield per plant, CC: capsaicin content.

Principal components analysis (ACP). The results of the principal components analysis (Table 3. 6) show that the first three components (C1, C2 and C3) extracted 94.02 % of the total variation. The first component (C1), with 53.03 % of total variation, was mainly determined by the variables: PT, YP and CC. The second component (C2) extracted 24.79 % of the total variation, determined by the variable NFP which showed a significant, positive influence in the formation of said component. The third component (C3) was determined by the variable FL, which extracted 16.19 % of the total variation detected. The Fig. 3. 1 shows the spatial distribution of the genotypes and the variables in the first two principal components (C1 and C2). The genotypes AKN-08 and ASBC-09 were located in quadrant I and presented the highest values for the characters YP and FW, but the lowest for NFP; the genotypes RES-05 and MBI-11 were located in quadrant II and the genotype RNJ-04 was found in quadrant III. It is important to note that, in these two quadrants, the genotypes with the highest values of CC were found; however, they also presented lower values for YP, PT and FW. In quadrant IV, the genotypes RKI-01, RHC-02, RHN-03, NBA-06, NKA-07, and MSB-12 were located, presenting high values for the characters NFP, YP and PT.

Table 3. 6. Principal Component Analysis, pointing eigenvalues and eigenvectors of seven characters evaluated instead of genotypes *C. chinense* Jacq.

Eigenvalues	C1	C2	C3
Own Values	3.712	1.735	1.333
% Explained variance	53.035	24.798	16.193
% Accumulated variance	53.035	77.833	94.026
Eigenvectors			
FW (g)	0.738	0.365	0.563
PT (cm)	<u>0.916</u>	-0.044	-0.261
FL (cm)	-0.318	-0.611	<u>0.691</u>
WF (cm)	0.802	0.468	-0.165
NFP	0.197	<u>-0.864</u>	-0.443
YP (g·plant ⁻¹)	<u>0.885</u>	-0.422	0.110
CC(mg·g ⁻¹ DW)	<u>-0.874</u>	0.291	-0.188

C1: principal component 1, C2: principal component 2, C3: principal component 3, FW: fruit weight, PT: pericarp thickness, FL: fruit length, WF: fruit width, NFP: number of fruits per plant, YP: yield per plant, CC: capsaicin content.

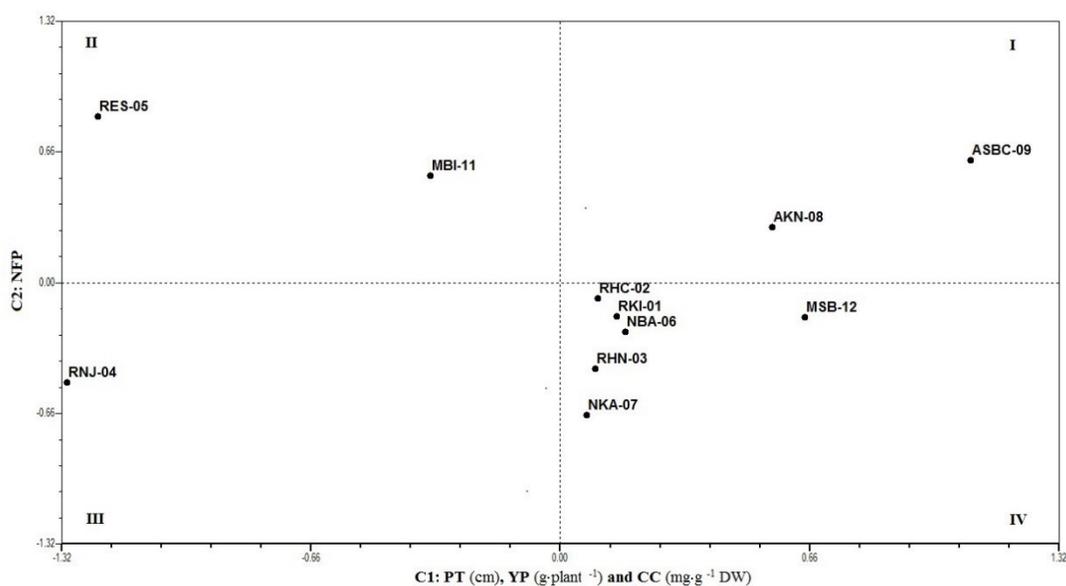


Figure 3. 1. Principal component analysis of eleven genotypes of *C. chinense* Jacq. based on seven characters evaluated, represented in two principal components (C1: 53.03 %, C2: 24.79 %). PT:

pericarp thickness, NFP: number of fruits per plant, YP: yield per plant, CC: capsaicin content. Quadrants: I, II, III y IV.

Cluster analysis. The dendrogram obtained from the cluster analysis by making a cut at a distance of 4.7 allowed the formation of six groups (A, B, C, D, E and F) (Fig. 3. 2) formed by the following genotypes: A (MBI-11), B (MSB-12, RHN-03, NKA-07), C (RHC-02, RKI-01, NBA-06), D (AKN-08, ASBC-09), E (RNJ-04) and F (RES-05). Table 7 shows the average values for the different characters evaluated, based on the six groups generated for the cluster analyze. The genotypes (AKN-08 and ASBC-09) of group D presented the highest average values for the characters FW, PT and YP. With respect to the CC, the highest average values are found in the genotypes RNJ-04 and RES-05 of groups E and F.

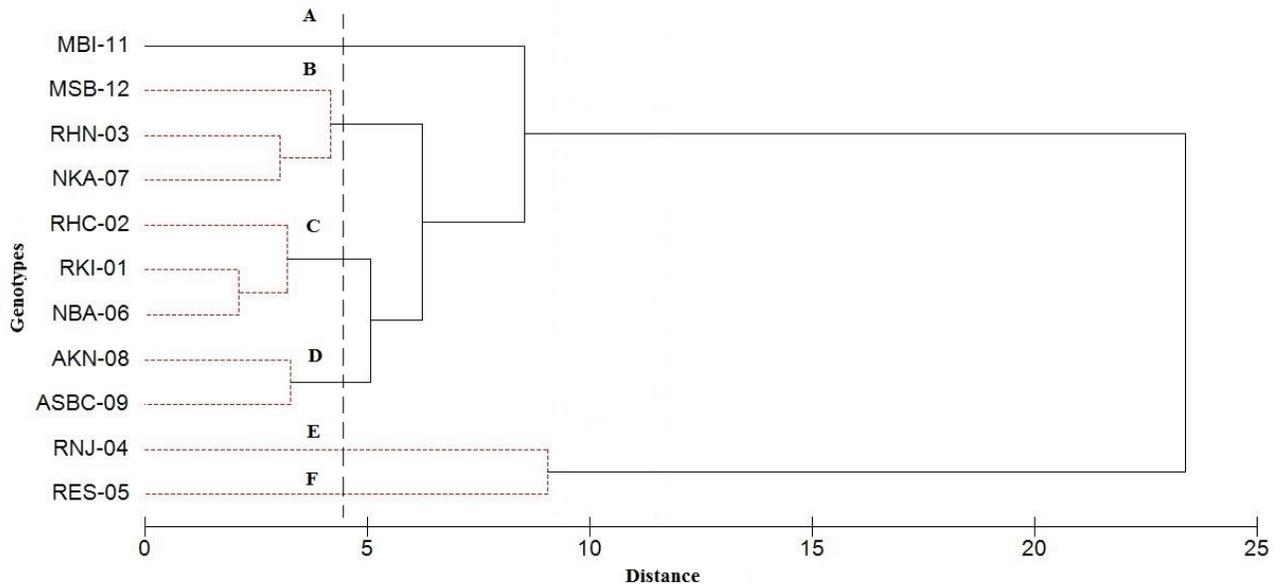


Figure 3. 2. Cluster analysis dendrogram according to UPGMA using the Euclidean distance coefficient to represent the grouping between genotypes of *C. chinense* Jacq.

3.4 DISCUSSION

In our study, the analysis of variance (ANOVA) revealed significant differences among the eleven varieties for studied characters. Similar results were reported by Verdugo *et al.* (2008) working with populations of *Capsicum annuum*, and by Mishra *et al.* (2015) working with *Curcuma longa* L. Our results show that the genotype ASBC-09 was significantly superior to the other genotypes evaluated, for the characters PT, FW, WF and YP; while the genotype RES-05 presented the highest value in CC, differing significantly from the other genotypes evaluated, so we can consider it as a potential parent to obtain varieties with higher capsaicin content in an improvement program or for its direct use for the extraction of capsaicin.

According to Rodríguez *et al.* (2008), the CV estimate provides the degree of variation in relation to the average of a given character, and shows the variability present in it and its possibilities for improvement. This allows us to infer that the characters evaluated in our work are adequate to obtain substantial advances in processes of selection. Similar recommendations have been described by Mishra *et al.* (2015) and Thul *et al.* (2009). Our results showed a wide range of variation (14.08 % at 94.50 %) obtained in the values of coefficient of variation (CV), for the characters evaluated. Mehmood *et al.* (2014), in a study about the genetic diversity of Pakistani guava (*Psidium guajava* L.) germplasm and its implications for conservation and breeding, reported extensive morphological variability, with range of coefficient of variation between 15.62 % at 44.3 %. In our work, the estimates of the GCV and PCV were higher for the CC (29.45 % and 30.40 %, respectively) and NFP (8.53 % and 9.25 %, respectively). Similar results were reported by Choudhary and Samadia (2004) who working with 30 chilli genotypes, obtained high phenotypic and genotypic coefficient of variations for red ripe fruit yield per plant (44.20 and 42.91, respectively),

followed by green fruit yield per plant, weight of seeds per fruit, fruit weight and number of fruits per plant.

Our results show the high heritability obtained for the characters YP (0.98), CC (0.93), FW (0.91) and NFP (0.85). Similar results were reported by Do Rêgo *et al.* (2011) who studied the phenotypic diversity in fruits of *C. baccatum* var. *pendulum* and obtained high values for h^2 97.3 % for FW character. The high values of GCV, h^2 and GA obtained for the YP, NFP and CC in our study, suggest that these characters are feasible to include them in a program of genetic improvement of Habanero pepper. High heritability and a high genetic advance have been reported for different characters in different species (*Jatropha curcas* L., *Cicer arietinum* L., *Curcuma longa* L.) (Mishra *et al.*, 2015; Tripathi *et al.*, 2012; Tripathi *et al.*, 2013).

When analyzing the results of the calculation of the correlation between characters, it was observed that the character YP showed a high positive correlation with PT (0.770 **), WF (0.519 **), FW (0.558 **) and NFP (0.503 **), these correlation values corresponding to the genotypes with greater yield (ASBC-09 and AKN-08). In a similar study carried out by Sieczko *et al.* (2015) found positive correlation (0.42) between fruit size and yield capacity. The results of the principal components analysis (ACP) show that the first three components extracted 94.02 % of the total variation. In a similar study, Mehmood *et al.* (2014) working with *Psidium guajava* L., the ACP separated the 15 quantitative traits into six components that explained 74.54 % of the total variation the ACP plot successfully grouped the samples according to their phenotypic resemblance. On the other hand, the morphological dendrogram generated from agglomeration hierarchical clustering grouped the 132 accessions into 3 major clusters. Our results show that the dendrogram obtained from the cluster analysis allowed the formation of six groups (A, B, C, D, E and F). The group D (AKN-08 and ASBC-09) presented the highest average values for the characters FW, PT and YP

and the groups E(RNJ-04) and F (RES-05), presented the highest average values the CC, thus, they can be recommended as progenitors in future genetic improvement work with the aim of increasing the pungency in genotypes with outstanding agronomic characters.

Thul *et al.* (2009) estimated the phenotypic divergence in a collection of *Capsicum* spp. for yield-related traits. They concluded in their study that the three characteristics that played the greatest role in differentiation were fruit diameter, number of fruits per plant, and leaf diameter, indicate which can be utilized as conventional/morphological markers for the improvement of chilli yield and obtaining good segregants in chilli breeding programs.

As result of our study, the ACP and cluster analysis show that the genotypes studied are genetically divergent, which would facilitate the production of heterotic hybrids for the characters analyzed. These results concur with those obtained by Castañón-Nájera *et al.* (2008) found a considerable genetic diversity when analyzing by ACP and cluster analysis, the variation of characters relating to yield in genotypes of *Capsicum* spp.

In conclusion, our results indicate that the high values of phenotypic and genetic variation, of heritability and genetic advance, for all the characters evaluated, confirm the great variability existing between the genotypes of habanero pepper studied, which allows us to guarantee that these genotypes can be part of an improvement program. However, according to the results obtained from the principal components analysis and from cluster analysis, for the purpose of selecting and recommending progenitors in order to obtain hybrids of Habanero pepper (*C. chinense* Jacq.) of high yield and elevated content of capsaicin (pungency) it is recommended to use the genotypes the of group D (AKN-08 and ASBC-09) as progenitors of highest yield, to perform cross-breedings with the genotypes highest in the content capsaicin located in groups E (RNJ-04) and F (RES-05).

CAPÍTULO IV

SELECCIÓN DE HÍBRIDOS F1 A PARTIR DE CRUZAMIENTOS ENTRE PROGENITORES ÉLITES DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq).

4.1 INTRODUCCIÓN

Los chiles (*Capsicum* spp.) son de las especies hortícolas más demandadas en el mercado internacional, por sus múltiples usos en los hogares y en diferentes industrias. Son altamente valorados por sus atributos sensoriales de olor, sabor, picor y color. La industria alimentaria es el mayor usuario de los chiles donde es utilizado como materia prima, como colorante y como saborizante en salsas, sopas, carnes procesadas, aperitivos y dulces (Purkayastha *et al.*, 2012). El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es un cultivo diverso que ofrece una variación fenotípica considerable; su diversidad genética sigue siendo poco estudiada, la explotación del germoplasma y su uso en programas de mejoramiento representan tareas difíciles; a pesar de los continuos descubrimientos científicos, todavía hay una necesidad de desarrollar nuevos cultivares más rendidores, resistentes a plagas y adaptados a diversas condiciones edafoclimáticas (Di Dato *et al.*, 2015). La hibridación es una herramienta del mejoramiento genético que permite obtener genotipos de altos rendimientos, gracias a la heterosis que se manifiesta cuando se realizan cruzamientos manuales entre progenitores (líneas y/o variedades) debidamente depurados y genéticamente estabilizados. (Hernández y Martínez, 2014). Si bien *C. chinense* Jacq. se considera una especie autógama, se han registrado porcentajes de alogamia que varían entre el 7 % y 91 %, lo cual influye en la estrategia de mejoramiento a emplear y en las precauciones a tomar para la futura producción de semillas (Galmarini, 2000).

La heterosis se define como la superioridad de los híbridos F1 sobre sus progenitores en términos de productividad y calidad de fruto; la heterosis ha sido ampliamente utilizada en la agricultura para aumentar el rendimiento y ampliar la adaptabilidad de líneas mejoradas en cultivo de interés agronómico (Shrestha *et al.*, 2011). La heterosis se debe principalmente a efectos de interacción entre alelos y/o a la dominancia de caracteres, por otro lado la habilidad combinatoria general (*hcg*) y habilidad combinatoria específica (*hce*) son las que permiten definir el método de mejora genética más apropiado ya que a través de estas es posible predecir las cruzas promisorias, al combinar las mejores características

de los progenitores seleccionados. Entre los métodos para evaluar las cualidades de un conjunto de progenitores se encuentran los diseños dialélicos propuestos por Griffing (1956), el cual identifica los mejores progenitores y las mejores combinaciones entre ellos (Cervantes-Ortiz *et al.*, 2016), también está el método de análisis de línea x probador introducido por Kempthorne en 1957, el cual constituye una poderosa herramienta para estimar los efectos de la habilidad combinatoria en la selección de los progenitores más adecuados (Fellahi *et al.*, 2013). La *hcg* permite además, evaluar los efectos aditivos y estimar el comportamiento promedio de una línea y/o variedad, mientras que la *hce* permite evaluar los efectos dominantes e identificar combinaciones híbridas sobresalientes.

El objetivo de este trabajo fue obtener híbridos F1 verde oscuro-rojo, superiores en rendimiento y/o picor a sus progenitores, a través de cruzamientos entre líneas mejoradas de *C. chinense Jacq.*

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Cruzamientos

Se evaluaron 12 genotipos de *C. chinense* Jacq. del banco de germoplasma ubicado en el laboratorio N° 9 de la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular (UBBM) del CICY; cinco de fruto maduro color rojo, dos de color naranja, tres amarillos y dos morados (Cuadro 4.1). Los cuales fueron seleccionados como líneas progenitoras, por su buen comportamiento en las siembras anteriores en cuanto a homogeneidad, estabilidad y rendimiento (Santana-Buzzy *et al.* 2016). Las semillas se desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial durante 10 min y se germinaron en charolas de poliestireno de 200 cavidades. Se usó sustrato comercial PEAT MOSS®. Durante el desarrollo de las plántulas, se aplicó una vez por semana el fertilizante comercial Hakaphos® 13-40-13; 1 g·L⁻¹. El trasplante se realizó en bolsas negras (40 x 40 cm) con sustrato de tierra roja y PEAT MOSS® en una proporción 3:1. Durante el crecimiento de las plantas se aplicó el fertilizante Triple 18 (1 g·L⁻¹).

Cuadro 4. 1 Características de las líneas progenitoras de *C. chinense* Jacq. para los cruzamientos.

Genotipos	Color	Color fruto Inmaduro	Forma del fruto	Peso fruto (g)	Rendimiento (kg·planta ⁻¹)
RKI-01	ROJO	Verde claro	Triangular	13.8	3.67
RHC-02	ROJO	Verde claro	Acampanulado	12.8	4.90
RHN-03	ROJO	Verde oscuro	Acampanulado	8.6	4.66
RNJ-04	ROJO	Verde oscuro	Triangular arrugado	4.8	1.08
RES-05	ROJO	Verde claro	Acampanulado arrugado	6.9	0.47
NBA-06	NARANJA	Verde oscuro	Triangular	10.1	4.43
NKA-07	NARANJA	Verde oscuro	Triangular	13.8	5.14
AKN-08	AMARILLO	Verde oscuro	Acampanulado y en bloque	17.7	5.73
ASBC-09	AMARILLO	Verde oscuro	De sombrero aplanado	13.5	1.39
ASBG-10	AMARILLO	Verde oscuro	De sombrero	9.4	1.2
MBI-11	MORADO	Verde oscuro	Acampanulado y en bloque	10.4	2.5
MSB-12	MORADO	Verde oscuro	De sombrero aplanado	9.8	1.26

Una vez que las plantas presentaron la primera floración se procedió a realizar los cruzamientos; para esto se colectaron flores en antesis a las 8:00 am , posteriormente se

procedió a la extracción del polen con ayuda de un pinza en pequeños reservorios seguidamente en un horario entre 8:00 y 10:00 am se realizó la emasculación en botones florales seleccionados de las plantas más vigorosas y con buena floración, seguidamente se polinizaron de forma manual y a cada cruzamiento realizado se le colocó una etiqueta que contenía la fecha del cruzamiento, la clave de la línea progenitora femenina y masculina. Al final fueron protegidos con una bolsa de *glassine* para evitar la contaminación con polen de las otras líneas progenitoras. Se colectó polen fresco diariamente para realizar los cruzamientos. Se realizó un registro del número de cruzamientos logrados, cuatro días después de la polinización.

La estrategia de cruzamientos fue en base a un diseño genético del tipo Top Cross, el cual consiste en elegir un progenitor élite masculino o femenino para ser cruzado con el resto de los progenitores, este progenitor élite se elige por tener la mayoría de las características agronómicas y biológicas que se requieren para su explotación comercial, pero que carezca o se requiera mejorar un carácter de interés, sea este relativo a la calidad de los frutos o rendimiento. En este caso, se eligió la línea RKI-01 como progenitor masculino, por su elevada productividad y pungencia, fruto grande, de color rojo al madurar, vistoso y aromático. El carácter a mejorar es el color de los frutos en estadio inmaduro, pues la línea RKI-01 tiene color verde claro y se quiere obtener un cultivar semejante a la línea RKI-01 con frutos de color verde oscuro, lo que lo haría al fruto más atractivo en verde para los consumidores. Se escogieron líneas progenitoras femeninas que tienen los frutos de color verde oscuro en estadio inmaduro para ser cruzados con la línea RKI-01 como progenitor masculino, se evaluó también la línea MBI-11 como progenitor femenino (Cuadro 4.2). Se evaluaron además, 10 cruzamientos libres, diferentes al Top Cross (Cuadro 4.3).

Cuadro 4. 2 Cruzamientos Top Cross para obtener híbridos de chile habanero.

♀	♂
TOP CROSS CON RKI-01	
RHC-02	RKI-01
RHN-03	
RNJ-04	
RES-05	
NBA-06	
NKA-07	
AKN-08	
ASBC-09	
ASBG-10	
MBI-11	
MSB-12	
RECIPROCOS CON RKI-01	
RKI-01	RES-05
	RHC-02
	RHN-03
TOP CROSS CON MBI-11	
MBI-11	RKI-01
	RHC-02
	RHN-03
	RNJ-04
	RES-05
	NBA-06
	NKA-07
	AKN-08
	ASBC-09
	ASBG-10
	MBI-11
	MSB-12

Cuadro 4. 3 Cruzamientos libres con frutos de color rojo y naranjas para obtener híbridos de chile habanero.

♀	♂
ROJOS	
MSB-12	RES-05
RHN-03	RHC-02
RHC-02	RNJ-04
	RHN-03
NARANJAS	
AKN-08	NBA-06
ASBC-09	
MSB-11	
KA-07	
AKN-08	MBI-11
	NKA-07

4.2.2 Evaluación agronómica

Se llevó a cabo en los invernaderos ubicados la Unidad Productora de Semillas (UPS) del Parque Científico y Tecnológico de Yucatán ubicado en Sierra Papacal, Mérida, Yucatán a 21° 07' 20" N, 89° 43' 41" O y una altitud de 9 msnm. Las semillas de las Líneas F1 obtenidas del programa cruzamientos y sus progenitores se desinfectaron con hipoclorito de sodio comercial durante 10 min y se germinaron en charolas de poliestireno de 200 cavidades. Se usó sustrato comercial PEAT MOSS®, las charolas se mantuvieron cubiertas con plástico negro para mantener la temperatura y humedad hasta que estas germinaron y emergieron. Durante el desarrollo de las plántulas, se aplicó una vez por semana el fertilizante comercial Hakaphos® 13-40-13; 1 g L⁻¹. El trasplante se realizó en contenedores de un metro de largo con sustrato de fibra de coco 70/30. A una distancia entre plantas de 20 cm y 160 cm de separación entre filas. El cultivo fue en invernadero con una malla 70/30, en condiciones de hidroponía. Como variables de respuesta se evaluó; días a inicio de floración, días a fructificación, días a inicio de cosecha, color en estado inmaduro y maduro, peso, largo, ancho, número de lóculos del fruto, producción y rendimiento según los descriptores para *Capsicum* del IPGRI (1995) y el SNICS (2015), el contenido de capsaicina en el fruto se determinó con el método de Collins *et al.* (1995), y se cuantificó por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). La evaluación fue en base a un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones, con una unidad experimental de ocho plantas; con el propósito de controlar la variación debido a la heterogeneidad ambiental del sitio de ensayo. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias (Tukey, $p < 0.05$), utilizando el programa SAS versión 9.1 para Windows.

4.2.3 Heterosis

En este estudio la heterosis se estimó como la diferencia entre el promedio de una cruce en relación con el promedio de sus progenitores, expresada en términos porcentuales según May *et al.* (2010).

$$H = \frac{\bar{F}_{1ij} - \bar{P}_{1ij}}{\bar{P}_{1ij}} \times 100$$

Donde:

\bar{F}_{1ij} : Es la media del híbrido entre los padres P_i y P_j .

\bar{P}_{1ij} : Es la media de los padres P_i y P_j para la ij -ésima cruce.

4.2.4 Habilidad combinatoria

La habilidad combinatoria general (*hcg*) y habilidad combinatoria específica (*hce*) se determinó en siete líneas femeninas (RHC-02, RHN-03, RNJ-04, NBA-06, NKA-07, AKN-08, ASBC-09) y dos probadores (RKI-01, MBI-11) según lo reportado por Kahriman *et al.*, 2016:

$$hcg \text{ líneas } (l) = X_i - Y$$

$$hcg \text{ probador } (p) = X_j - Y$$

$$hce (l \times p) = X_{ij} - X_i - X_j - Y$$

Donde:

X_i es la media de un cruzamiento con una línea dada (hembra) promediado en todas las réplicas y probadores (machos),

X_j es la media de un cruzamiento con un probador dado (hombre) promediado sobre todas las réplicas y líneas (hembras),

X_{ij} es la media de un cruzamiento dado ($l \times p$) promediada sobre las repeticiones,

Y es la media experimental.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Cruzamientos

Se obtuvieron 219 frutos a partir de 29 cruzamientos diferentes. Con el progenitor masculino élite RKI-01, se realizó un total de 332 cruzamientos de los cuales se obtuvieron 88 frutos a partir de 11 cruzamientos diferentes (Cuadro 4. 4), resultando que con tres progenitores no se obtuvo ningún cruzamiento (MSB-12, ASBG-10, RES-05). El cruzamiento con el mayor número de “cuaje” de fruto fue el 8 (MBI-11 x RKI-01) con 22 frutos. Con los progenitores RNJ-04, RHN-03, RHC-02 solamente cuajaron tres frutos por progenitor. Por otra parte con el progenitor femenino élite MBI-11 cruzado con el progenitor NKA-07 se logró el mayor porcentaje de “cuaje” de fruto 65 % (Cuadro 4. 5). También se realizaron cruzamientos libres, con el objetivo de obtener frutos de color naranja y frutos de color rojo (Cuadro 4. 6).

Cuadro 4. 4 Cruzamientos obtenidos del Top Cross con RKI-01 como progenitor masculino élite.

	RKI-01	REALIZADOS	“CUAJE” DE FRUTO	%CF	No. SEMILLAS*
1	RHC-02 x RKI-01	30	3	10	45
2	RHN-03 x RKI-01	17	3	18	30
3	RNJ-04 x RKI-01	17	3	18	37
4	NBA-06 x RKI-01	51	6	12	27
5	NKA-07 x RKI-01	26	7	27	22
6	AKN-08 x RKI-01	37	9	24	56
7	ASBC-09 x RKI-01	23	8	35	45
8	MBI-11 x RKI-01	53	22	42	34
RECIPROCOS					
9	RKI-01 x RES-05	10	4	40	38
10	RKI-01 x RHC-02	48	19	40	40
11	RKI-01 x RHN-03	20	4	20	26
Total		332	88	26.5	36.4

% CF: Porcentaje de “cuaje” de fruto, *Promedio de semillas por fruto.

Cuadro 4. 5 Cruzamientos obtenidos del Top Cross con MBI-11 como progenitor femenino élite.

MBI-11	REALIZADOS	"CUAJE" DE FRUTO	%CF	N_o SEMILLAS*
12 MBI-11 x RHC-02	40	20	50.0	39
13 MBI-11 x RHN-03	30	6	20.0	37
14 MBI-11 x RNJ-04	30	14	46.7	27
15 MBI-11 x RES-05	30	18	60.0	36
16 MBI-11 x NBA-06	10	4	40.0	33
17 MBI-11 x NKA-07	20	13	65.0	49
18 MBI-11 x AKN-08	25	8	32.0	33
19 MBI-11 x ASBC-09	35	16	45.7	27
Total	220	99	45.0	35.1

%CF: Porcentaje de "cuaje" de fruto, *Promedio de semillas por fruto.

Cuadro 4. 6 Cruzamientos libres obtenidos a partir de frutos de color rojo y naranjas.

ROJOS	REALIZADOS	"CUAJE" DE FRUTO	%CF	N_o SEMILLAS*
20 MSB-12 x RES-05	10	1	10.0	3
21 RHN-03 x RHC-02	5	1	20.0	23
22 RHC-02 x RNJ-04	10	1	10.0	19
23 RHC-02 x RHN-03	105	8	7.6	40
Total	130	11	8.5	21.3

NARANJAS

24 AKN-08 x NBA-06	16	3	18.8	49
25 ASBC-09 x NBA-06	30	3	10.0	10
26 MSB-11 x NBA-06	16	1	6.3	3
27 NKA-07 x NBA-06	5	2	40.0	28
28 AKN-08- x MBI-11	10	4	40.0	60
29 AKN-08 X NKA-07	30	8	26.7	59
Total	107	21	19.6	35

%CF: Porcentaje de "cuaje" de fruto, *Promedio de semillas por fruto.

4.3.2 Evaluación Agronómica

Los cruzamientos con las plántulas más vigorosas fueron el 15 (MBI-11 x RES-05) con una altura de 20 cm y un diámetro de tallo de 3.31 mm y el 27 (NKA-07 x NBA-06) el cual presentó el mayor diámetro de tallo 4.03 mm, aunque su altura fue de 8.14 cm (Cuadro 4.7).

Cuadro 4. 7 Vigor de plántulas de las líneas F1 y sus progenitores de *Capsicum chinense* Jacq.

No	Línea	Altura (cm)	Diámetro tallo (mm)
1	RHC-02 x RKI-01	14.685 efg	2.870 bcd
2	RHN-03 x RKI-01	14.180 efg	2.850 bcd
3	RNJ-04 x RKI-01	19.740 ab	3.550 bc
4	NBA-06 x RKI-01	14.330 efg	2.940 bcd
5	NKA-07 x RKI-01	12.350 fgh	2.940 bcd
6	AKN-08 x RKI-01	14.800 efg	2.920 bcd
7	ASBC-09 x RKI-01	14.900 defg	2.900 bcd
8	MBI-11 x RKI-01	15.250 cdefg	2.650 bcd
9	RKI-01 x RES-05	17.050 abcde	3.56 bc
10	RKI-01 x RHC-02	17.700 abcde	3.200 bcd
11	RKI-01 x RHN-03	17.140 abcde	3.300 bcd
12	MBI-11 x RHC-02	15.650 bcdef	3.050 bcd
13	MBI-11 x RHN-03	14.550 efg	2.140 bcd
14	MBI-11 x RNJ-04	16.100 abcdef	3.072 bc
15	MBI-11 x RES-05	20.050 a	3.310 bcd
16	MBI-11 x NBA-06	19.110 abcd	3.360 bcd
17	MBI-11 x NKA-07	15.850 abcdefg	2.700 bcd
18	MBI-11 x AKN-08	14.150 efg	3.150 bcd
19	MBI-11 x ASBC-09	15.650 bcdef	2.800 bcd
20	MSB-12 x RES-05	7.250 i	0.4500 d
21	RHN-03 x RHC-02	19.450 abc	3.600 b
22	RHC-02 x RNJ-04	18.300 abcde	3.350 bcd
23	RHC-02 x RHN-03	19.600 ab	3.150 bcd
24	AKN-08 x NBA-06	16.650 abcde	2.980 bcd
25	ASBC-09 x NBA-06	9.140 hi	2.710 bcd
26	MSB-11 x NBA-06	6.35 i	0.650 cd
27	NKA-07 x NBA-06	8.140 hi	4.030 a
28	AKN-08 x MBI-11	11.650 gh	2.930 bcd
29	AKN-08 x NKA-07	15.160 defg	3.370 bc

Evaluación de 10 plántulas a los 35 días de germinación.

La germinación osciló entre 60 - 100 % (Cuadro 4. 8), los cruzamientos que presentaron un 100 % de germinación fueron el 8 (MBI-11 x RKI-01) y el 22 (RHC-02 x RNJ-04), superando a sus progenitores que oscilaron entre 62 - 94 %, evaluación realizada a los siete, 10, 15, 18 y 21 días.

Cuadro 4. 8 Porcentaje de germinación, días a floración, fructificación y primera cosecha de las líneas F1 y sus progenitores de *Capsicum chinense* Jacq.

No	Línea	% Germinación	Días a floración	Días a fructificación	Día primera cosecha
1	RHC-02 x RKI-01	75	26	70	83
2	RHN-03 x RKI-01	87.5	33	77	83
3	RNJ-04 x RKI-01	85	33	63	70
4	NBA-06 x RKI-01	60	33	70	77
5	NKA-07 x RKI-01	67.5	26	70	77
6	AKN-08 x RKI-01	82.5	33	63	70
7	ASBC-09 x RKI-01	80	33	63	70
8	MBI-11 x RKI-01	100	33	63	70
9	RKI-01 x RES-05	77.5	33	63	70
10	RKI-01 x RHC-02	82.5	33	77	83
11	RKI-01 x RHN-03	75	26	70	77
12	MBI-11 x RHC-02	72.5	42	70	77
13	MBI-11 x RHN-03	82.5	33	63	70
14	MBI-11 x RNJ-04	72.5	33	63	70
15	MBI-11 x RES-05	92.5	33	63	70
16	MBI-11 x NBA-06	80	26	63	70
17	MBI-11 x NKA-07	90	33	77	83
18	MBI-11 x AKN-08	80	42	70	83
19	MBI-11 x ASBC-09	95	42	63	70
20	MSB-12 x RES-05	66.7	42	63	70
21	RHN-03 x RHC-02	69.6	26	70	77
22	RHC-02 x RNJ-04	100	33	63	70
23	RHC-02 x RHN-03	90	26	77	83
24	AKN-08 x NBA-06	97.5	33	63	70
25	ASBC-09 x NBA-06	70	26	63	70
26	MSB-11 x NBA-06	66.7	42	77	83
27	NKA-07 x NBA-06	60	33	77	83
28	AKN-08 x MBI-11	90	33	70	83
29	AKN-08 x NKA-07	82.5	26	70	77
PROGENITORES					
30	RKI-01	88	26	70	77
31	RHC-02	72	33	63	70
32	RHN-03	74	26	70	77
33	RNJ-04	94	33	70	77
34	RES-05	94	33	77	83
35	NBA-06	88	26	77	83
36	NKA-07	72	26	70	77
37	AKN-08	100	33	70	77
38	ASBC-09	82	42	70	77
40	MBI-11	62	33	77	83
41	MSB-12	90	48	77	83

Los días a floración se evaluó como el número de días desde el trasplante hasta que el 50 % de las plantas tenía al menos una flor abierta; ocho cruzamientos y cuatro progenitores florecieron a los 26 días, 16 cruzamientos y cinco progenitores florecieron a los 33 días, cinco cruzamientos y un progenitor florecieron a los 42 días y un progenitor floreció hasta a los 48 días (Cuadro 4. 8). Los días a fructificación se evaluó como el número de días desde el trasplante hasta que el 50 % de las plantas tenían frutos maduros en la primera y segunda bifurcación; 14 cruzamientos y un progenitor fructificaron a los 63 días, nueve cruzamientos y seis progenitores fructificaron a los 70 días, seis cruzamientos y cuatro progenitores fructificaron a los 77 días (Cuadro 4. 8). La primera cosecha se realizó una semana después del registro de los días a fructificación; en conclusión se puede decir que los cruzamientos fueron un poco más precoces que sus progenitores.

En la caracterización del fruto de los cruzamientos el 96.5 % presentó fruto de color rojo, en estado maduro solamente un cruzamiento resultó de fruto color naranja; el 27 (NKA-07 x NBA-06), esto significa que, el color rojo es un carácter dominante; la forma del fruto varió entre cuadrados, triangulares, rectangulares (en forma de bloque) y acampanulados (Cuadro 4. 9 y Figura 4. 1). El tipo de epidermis fue entre rugosos, semirugosos y lisos; la mayoría de los frutos resultaron trilobulados, los colores del fruto en estado inmaduro vario; dos cruzamientos fueron verde tenue, 14 verde intermedio que en su mayoría fueron con el progenitor masculino élite RKI-01 (cruzamientos del uno al 11) y 13 verde oscuro la mayoría resultado del cruzamiento con el progenitor femenino élite MBI-11 (cruzamientos del 12 al 19) (Cuadro 4. 9).

Cuadro 4. 9 Características cualitativas de fruto en las líneas F1 y sus progenitores.

No	Línea	Color inmaduro	Color	Forma	Tipo de epidermis	# Lóculos
1	RHC-02 x RKI-01	Verde claro	Rojo	Rectangular	Liso	3
2	RHN-03 x RKI-01	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Liso	3
3	RNJ-04 x RKI-01	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Semirugoso	3
4	NBA-06 x RKI-01	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Liso	3
5	NKA-07 x RKI-01	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Liso	3
6	AKN-08 x RKI-01	Verde intermedio	Rojo	Rectangular	Liso	3--4
7	ASBC-09 x RKI-01	Verde intermedio	Rojo	Acampanulado	Semirugoso	3
8	MBI-11 x RKI-01	Verde intermedio	Rojo	Rectangular	Liso	3--4
9	RKI-01 x RES-05	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Semirugoso	3
10	RKI-01 x RHC-02	Verde claro	Rojo	Rectangular	Liso	3--4
11	RKI-01 x RHN-03	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Liso	3--4
12	MBI-11 x RHC-02	Verde oscuro	Rojo	Rectangular	Liso	3--4
13	MBI-11 x RHN-03	Verde oscuro	Rojo	Triangular	Liso	3
14	MBI-11 x RNJ-04	Verde oscuro	Rojo	Triangular	Semirugoso	2--3
15	MBI-11 x RES-05	Verde oscuro	Rojo	Rectangular	Rugoso	3
16	MBI-11 x NBA-06	Verde oscuro	Rojo	Rectangular	Liso	3
17	MBI-11 x NKA-07	Verde oscuro	Rojo	Rectangular	Liso	3
18	MBI-11 x AKN-08	Verde oscuro	Rojo	Cuadrado	Liso	3
19	MBI-11 x ASBC-09	Verde oscuro	Rojo	Cuadrado	Semirugoso	2--3
20	MSB-12 x RES-05	Verde oscuro	Rojo	Cuadrado	Semirugoso	2
21	RHN-03 x RHC-02	Verde oscuro	Rojo	Triangular	Liso	3
22	RHC-02 x RNJ-04	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Semirugoso	3
23	RHC-02 x RHN-03	Verde intermedio	Rojo	Cuadrado	Liso	3--4
24	AKN-08 x NBA-06	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Liso	2--3
25	ASBC-09 x NBA-06	Verde intermedio	Rojo	Acampanulado	Liso	3
26	MSB-11 x NBA-06	Verde oscuro	Rojo	Acampanulado	Semirugoso	3--4
27	NKA-07 x NBA-06	Verde oscuro	Naranja	Triangular	Liso	3--4
28	AKN-08 x MBI-11	Verde oscuro	Rojo	Rectangular	Liso	2--3
29	AKN-08 x NKA-07	Verde intermedio	Rojo	Cuadrado	Liso	2--3--4
PROGENITORES						
30	RKI-01	Verde claro	Rojo	Triangular	Liso	3--4
31	RHC-02	Verde claro	Rojo	Rectangular	Liso	3--4
32	RHN-03	Verde oscuro	Rojo	Triangular	Liso	3--4
33	RNJ-04	Verde intermedio	Rojo	Triangular	Rugoso	3
34	RES-05	Verde intermedio	Rojo	Cuadrado	Rugoso	3--4
35	NBA-06	Verde oscuro	Naranja	Triangular	Liso	4
36	NKA-07	Verde oscuro	Naranja	Triangular	Liso	3--4
37	AKN-08	Verde intermedio	Amarillo	Cuadrado	Liso	3
38	ASBC-09	Verde intermedio	Amarillo	Acampanulado	Semirugoso	2--3
40	MBI-11	Verde oscuro	Morado	Rectangular	Liso	2--3
41	MSB-12	Verde oscuro	Morado	Acampanulado	Semirugoso	3--4

(Evaluación de 10 frutos por cada bloque)

El cruzamiento 20 (MSB-12 x RES-05) presentó el mayor peso de fruto con 15.58 g, el 19 (MBI-11 x ASBC-09) el mayor espesor de pericarpio con 0.276 cm. El fruto más largo lo presentó el 22 (RHC-02 x RNJ-04) con 5.52 cm y el más ancho el 25 (ASBC-09 x NBA-06) con 3.97 cm (Cuadro 4.10). Los cruzamientos 20 (MSB-12 x RES-05) resultó el más productivos con 39.81 kg y con mayor rendimiento con 9952.5, entre los cruzamientos el 14

(MBI-11 x RNJ-04) presentó el mayor contenido de capsaicina en fruto $85.05 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ PS, superando a uno de sus progenitores (MBI-11). (Cuadro 4.10).

Cuadro 4. 10 Características cuantitativas del fruto en las líneas F1 y sus progenitores.

No	Línea	Peso fruto (g)	Espesor pericarpio (cm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)
1	RHC-02 x RKI-01	13.61 ef	0.242 cde	4.46 jkl	3.20 fghijk
2	RHN-03 x RKI-01	12.04 j	0.255 bc	4.76 gh	3.14 ghijkl
3	RNJ-04 x RKI-01	11.55 k	0.182 qr	5.37 ab	2.98 nopq
4	NBA-06 x RKI-01	13.40 efg	0.247 bcde	5.03 de	3.01 lmnop
5	NKA-07 x RKI-01	12.71 i	0.237 efgh	5.12 cd	3.13 ghijklm
6	AKN-08 x RKI-01	12.88 hi	0.240 defg	4.89 efg	3.30 ef
7	ASBC-09 x RKI-01	15.12 c	0.247 bcde	3.91 pq	3.87 b
8	MBI-11 x RKI-01	10.90 l	0.237 efgh	4.81 g	2.96 opq
9	RKI-01 x RES-05	11.95 j	0.232 fghij	4.63 hi	3.08 jklmno
10	RKI-01 x RHC-02	13.33 fg	0.225 hijk	4.89 efg	3.21 fghi
11	RKI-01 x RHN-03	13.34 fg	0.235 efghi	4.84 fg	3.05 lmnop
12	MBI-11 x RHC-02	12.52 i	0.217 klm	4.83 fg	3.21 fghij
13	MBI-11 x RHN-03	9.83 o	0.217 klm	4.19 mn	2.97 nopq
14	MBI-11 x RNJ-04	9.47 op	0.192 pq	4.98 def	2.87 qr
15	MBI-11 x RES-05	12.02 j	0.222 ijkl	4.06 nop	3.23 fg
16	MBI-11 x NBA-06	9.18 pq	0.202 nop	4.40 kl	2.96 opq
17	MBI-11 x NKA-07	8.91 q	0.207 mno	4.45 jkl	3.11 ghijklm
18	MBI-11 x AKN-08	12.74 hi	0.207 mno	4.75 gh	3.50 d
19	MBI-11 x ASBC-09	13.11 gh	0.277 a	4.13 no	3.28 ef
20	MSB-12 x RES-05	15.58 b	0.260 b	4.86 fg	3.28 ef
21	RHN-03 x RHC-02	12.58 i	0.217 klm	4.54 ijk	3.22 fgh
22	RHC-02 x RNJ-04	10.25 n	0.170 rs	5.52 a	2.87 qr
23	RHC-02 x RHN-03	12.78 hi	0.230 fghijk	4.62 hij	3.08 ijklmno
24	AKN-08 x NBA-06	12.58 i	0.210 lmn	4.85 fg	3.20 fghijk
25	ASBC-09 x NBA-06	13.74 de	0.257 b	4.20 mn	3.97 b
26	MSB-11 x NBA-06	10.82 lm	0.260 b	3.83 q	3.44 d
27	NKA-07 x NBA-06	11.48 k	0.257 b	4.88 efg	3.08 klmno
28	AKN-08 x MBI-11	13.69 ef	0.197 nop	4.80 g	3.40 de
29	AKN-08 x NKA-07	11.51 k	0.210 lmn	4.52 ijk	3.09 hijklmn
PROGENITORES					
30	RKI-01	14.10 d	0.220 jklm	4.90 efg	3.01 mnop
31	RHC-02	12.72 i	0.195 opq	4.31 lm	3.13 ghijklm
32	RHN-03	9.75 o	0.240 defg	4.02 op	2.81 r
33	RNJ-04	6.75 s	0.147 t	5.28 bc	2.42 s
34	RES-05	7.77 r	0.165 s	3.63 r	2.97 nopq
35	NBA-06	12.70 i	0.252 bcd	4.81 g	2.94 pq
36	NKA-07	10.46 mn	0.227 ghijk	5.03 de	3.01 lmnop
37	AKN-08	16.67 a	0.235 efghi	4.48 ijkl	3.67 c
38	ASBC-09	16.82 a	0.277 a	3.62 r	4.32 a
40	MBI-11	13.52 ef	0.197 nop	4.23 mn	2.95 pq
41	MSB-12	9.55 op	0.282 a	3.41 s	3.65 c

*Medias con la misma letra no difieren significativamente (Tukey, 0.05). Medias de la tercera y sexta cosecha.

Cuadro 4.10 Continuación...

No	Línea	Producción (kg)	Frutos/planta	Rendimiento (g·planta ⁻¹)	CC (mg·g ⁻¹ PS)
1	RHC-02 x RKI-01	20.91 i	205.7 hi	2803.38 h	53.38 h
2	RHN-03 x RKI-01	16.81 r	232.5 efg	2802.46 h	30.30 v
3	RNJ-04 x RKI-01	25.7 cd	278.0 b	3213.19 e	71.85 e
4	NBA-06 x RKI-01	17.95 pq	227.2 fg	2990.92 f	45.12 k
5	NKA-07 x RKI-01	21.42 h	233.5 efg	2964.19 fg	33.61 t
6	AKN-08 x RKI-01	23.54 f	228.5 fg	2943.13 fgh	39.53 p
7	ASBC-09 x RKI-01	26.09 c	223.5 g	3375.54 cd	48.17 i
8	MBI-11 x RKI-01	22.5 g	258.0 cd	2813.07 gh	41.99 m
9	RKI-01 x RES-05	25.04 e	271.70 bc	3242.48 de	55.85 g
10	RKI-01 x RHC-02	20.96 hi	196.2 ijk	2619.78 i	30.16 v
11	RKI-01 x RHN-03	25.52 d	256.2 d	3416.95 c	31.73 u
12	MBI-11 x RHC-02	20.99 hi	232.7 efg	2905.59 fgh	44.02 l
13	MBI-11 x RHN-03	14.92 t	189.7 jk	1865.47 pq	32.30 u
14	MBI-11 x RNJ-04	13.51 u	220.7 g	2090.69 o	85.05 c
15	MBI-11 x RES-05	12.40 v	129.0 p	1550.25 r	73.54 d
16	MBI-11 x NBA-06	13.81 u	188.2 jk	1726.72 q	40.78 o
17	MBI-11 x NKA-07	17.12 r	240.2 ef	2139.69 no	38.81 q
18	MBI-11 x AKN-08	16.80 r	165.0 mn	2100.85 o	41.70 mn
19	MBI-11 x ASBC-09	15.97 s	152.2 no	1996.91 op	33.33 t
20	MSB-12 x RES-05	39.81 a	638.5 a	9952.50 a	48.22 i
21	RHN-03 x RHC-02	16.71 r	166.0 mn	2089.06 o	35.32 s
22	RHC-02 x RNJ-04	17.69 q	274.0 b	2808.57 gh	58.36 f
23	RHC-02 x RHN-03	19.25 lm	188.2 jk	2407.16 jklm	35.41 s
24	AKN-08 x NBA-06	19.09 mn	189.7 jk	2386.57 jklm	37.18 r
25	ASBC-09 x NBA-06	17.66 q	246.2 de	3385.87 cd	34.91 s
26	MSB-11 x NBA-06	27.76 b	641.0 a	6940.00 b	29.76 v
27	NKA-07 x NBA-06	16.93 r	245.7 o	2821.75 gh	27.33 x
28	AKN-08- x MBI-11	20.30 j	185.2 jk	2538.07 ij	41.40 n
29	AKN-08 X NKA-07	18.29 op	198.5 ij	2286.72 mn	46.17 j
PROGENITORES					
30	RKI-01	19.15 lmn	169.7 lm	2393.75 jklm	23.68 z
31	RHC-02	18.74 no	184.0 jkl	2342.32 klm	15.71 z
32	RHN-03	13.65 u	239.7 ef	2276.00 mn	20.34 z
33	RNJ-04	11.85 w	219.7 gh	1482.29 r	120.38 b
34	RES-05	6.77 y	108.7 q	846.78 s	147.11 a
35	NBA-06	18.52 o	182.5 kl	2315.25 lm	28.95 w
36	NKA-07	20.01 jk	239.2 ef	2501.32 ij	29.09 w
37	AKN-08	19.88 jl	149.0 qr	2485.28 ijk	26.52 y
38	ASBC-09	20.88 i	155.0 mno	2610.28 i	23.82 z
40	MBI-11	11.35 x	105.0 q	1418.63 r	44.54 l
41	MSB-12	19.58 kl	256.2 d	2448.00 jkl	21.62 z

*Medias con la misma letra no difieren significativamente (Tukey, 0.05). Datos séptima cosecha.

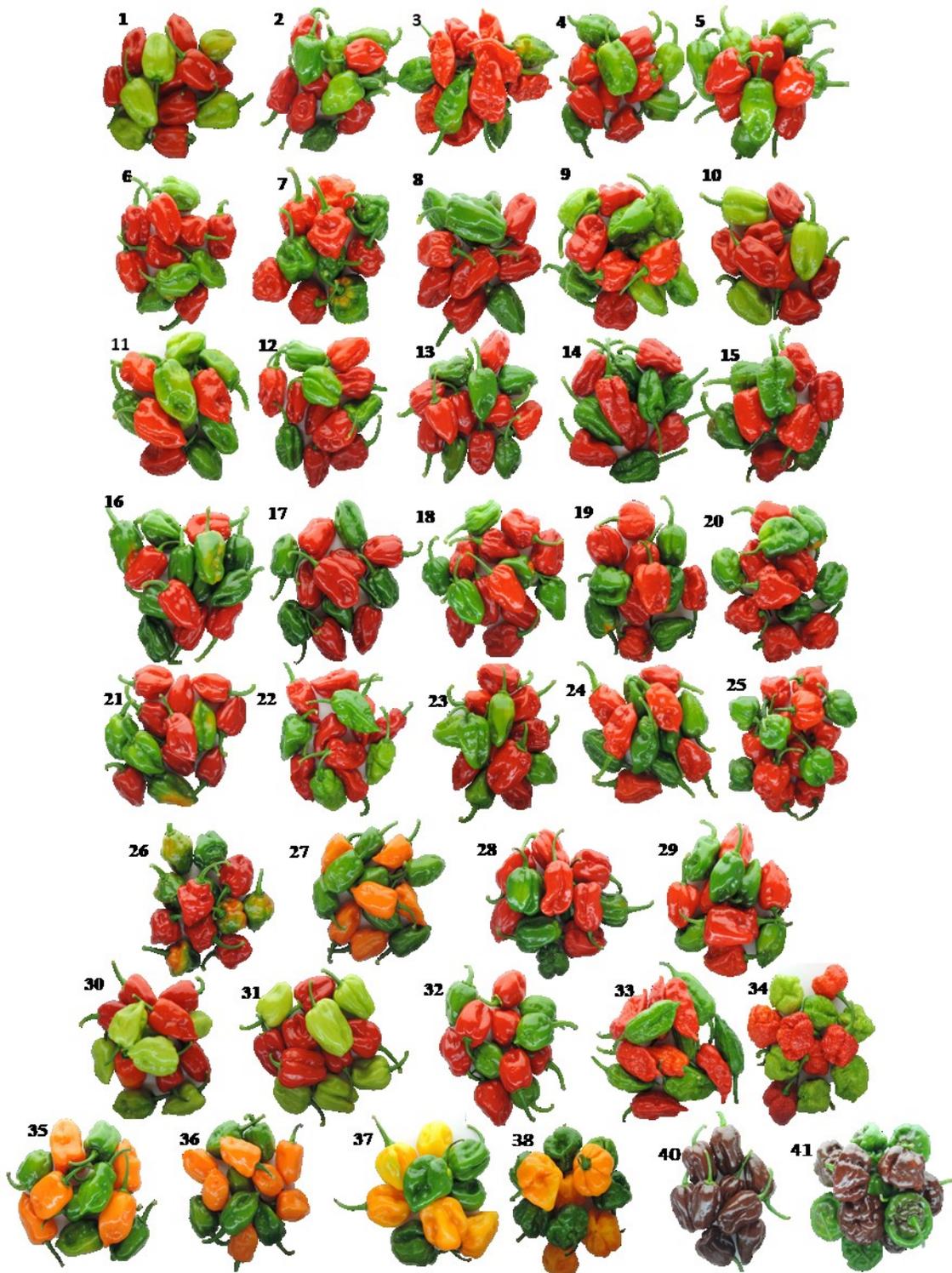


Figura 4. 1 Variabilidad en el color y la forma de frutos de híbridos F1 (1-29) y progenitores (30-41).

4.3.3 Heterosis

La determinación del porcentaje de heterosis permitió identificar las líneas F1 con características superiores a sus progenitores, particularmente caracteres de interés agronómico, como el rendimiento. El cruzamiento 20 (MSB-12 x RES-05) destacó con un 504.14 % de heterosis en rendimiento, en peso de fruto (79.87 %), longitud de fruto (38.14 %), y número de frutos por planta (249.66). En espesor de pericarpio, el cruzamiento de mayor porcentaje de heterosis fue el 15 (MBI-11 x RES-05) con 21.90 %, y el cruzamiento 7 (ASBC-09 x RKI-01) fue el mayor en ancho de fruto con 29.92 %, y para contenido de capsaicina destacó el cruzamiento 1 (RHC-02 x RKI-01) con 171.01 % (Cuadro 4. 11).

Cuadro 4. 11 Porcentaje de Heterosis en caracteres agronómicos de interés en líneas F1 y sus progenitores de *Capsicum chinense* Jacq.

No	Líneas	Peso fruto	Espesor pericarpio	Longitud fruto	Ancho fruto	Frutos/planta	Rendimiento	Contenido capsaicina
1	RHC-02 x RKI-01	1.48	16.59	-3.08	4.26	16.31	18.38	171.01
2	RHN-03 x RKI-01	0.98	1.15	0.69	0.79	1.36	2.00	37.65
3	RNJ-04 x RKI-01	10.83	0.17	5.51	9.65	42.74	65.80	-0.25
4	NBA-06 x RKI-01	0.03	5.52	3.71	1.44	29.08	27.03	71.45
5	NKA-07 x RKI-01	3.45	6.65	3.26	3.93	14.11	21.11	27.39
6	AKN-08 x RKI-01	-16.30	6.21	4.32	-1.27	43.29	20.64	57.50
7	ASBC-09 x RKI-01	9.46	17.72	-14.47	29.92	62.72	77.08	41.23
8	MBI-11 x RKI-01	-7.82	-6.33	15.77	-11.09	21.14	16.20	85.38
9	RKI-01 x RES-05	9.23	20.50	8.61	2.88	94.97	100.12	-34.60
10	RKI-01 x RHC-02	-0.62	7.87	6.08	4.49	11.02	10.63	53.14
11	RKI-01 x RHN-03	11.82	2.55	8.69	4.73	25.06	46.34	44.14
12	MBI-11 x RHC-02	-4.63	10.37	13.10	5.44	60.82	54.51	46.12
13	MBI-11 x RHN-03	-6.85	0.11	1.59	3.21	10.11	0.98	-0.42
14	MBI-11 x RNJ-04	-6.56	12.50	4.59	6.91	35.94	44.14	3.15
15	MBI-11 x RES-05	12.86	21.90	3.40	9.09	20.66	36.86	-23.26
16	MBI-11 x NBA-06	-30.00	-9.20	-2.60	0.39	31.03	-7.51	11.00
17	MBI-11 x NKA-07	-28.27	-3.31	-3.93	4.39	39.68	9.17	5.42
18	MBI-11 x AKN-08	-15.66	-4.22	9.03	5.86	29.89	7.63	17.37
19	MBI-11 x ASBC-09	-13.57	15.84	5.13	-9.67	17.18	-0.87	-2.49
20	MSB-12 x RES-05	79.87	16.56	38.14	-1.03	249.66	504.14	-42.85
21	RHN-03 x RHC-02	11.97	0.91	9.06	8.32	-21.69	-9.53	95.92
22	RHC-02 x RNJ-04	5.34	-0.52	15.09	3.45	35.65	46.87	-14.23
23	RHC-02 x RHN-03	13.73	6.41	10.84	3.77	-11.16	4.24	96.41
24	AKN-08 x NBA-06	-7.28	-8.45	2.19	-4.17	-2.28	-4.28	33.74
25	ASBC-09 x NBA-06	-6.92	-3.83	-0.42	9.57	45.97	37.48	32.32
26	MSB-11 x NBA-06	-2.72	-2.70	-6.83	4.22	192.23	191.40	17.71
27	NKA-07 x NBA-06	3.28	-4.24	18.85	-6.69	12.00	18.48	8.07
28	AKN-08 x MBI-11	-9.32	-9.08	10.27	2.75	45.95	30.03	16.52
29	AKN-08 X NKA-07	-15.13	-7.98	-4.81	-7.32	2.29	-8.29	66.08

4.3.4 Habilidad combinatoria.

La habilidad combinatoria general (*hcg*) muestra el comportamiento de un progenitor dado ante los cruzamientos en los que participó, reflejando la acción de los efectos genéticos aditivos (Figueiredo *et al.* 2015). En este estudio, algunos progenitores presentaron buena habilidad combinatoria general para el rendimiento y calidad de fruto (Cuadro 4.12). Las estimaciones del valor de la habilidad combinatoria general para las siete líneas progenitoras mostraron que los mejores, para cada carácter son las siguientes: ASBC-09 para peso de fruto, espesor de pericarpio y ancho de fruto, RNJ-04 para largo de fruto, número de semillas por fruto y contenido de capsaicina, y el probador masculino RKI-01 para rendimiento por planta.

Cuadro 4. 12 Efectos de habilidad combinatoria general para los caracteres evaluados en progenitores de *C. chinense* Jacq.

	Progenitores	Peso fruto (g)	Espesor pared (mm)	Longitud fruto (cm)	Ancho fruto (cm)	Frutos/planta	Rendimiento (g·planta ⁻¹)	Contenido capsaicina (mg·g ⁻¹ PS)
	Línea							
31	RHC-02	1.13	0.02	-0.01	0.02	3.54	0.29	3.13
32	RHN-03	-1.00	0.10	-0.19	-0.13	-4.36	-0.23	-14.27
33	RNJ-04	-1.42	-0.38	0.51	-0.26	33.82	0.09	32.88
35	NBA-06	-0.64	0.00	0.06	-0.19	-7.79	-0.21	-2.62
36	NKA-07	-1.13	-0.05	0.12	-0.06	21.29	-0.01	-9.36
37	AKN-08	0.87	-0.03	0.16	0.22	-18.88	-0.04	-4.95
38	ASBC-09	2.18	0.34	-0.65	0.40	-27.62	0.12	-4.82
	ES (<i>hcg_l</i>) líneas	1.32	0.21	0.33	0.22	20.78	0.17	14.86
	Probador							
30	RKI-01	1.11	0.10	0.13	0.05	17.18	0.45	0.43
40	MBI-11	-1.11	-0.10	-0.13	-0.05	-17.18	-0.45	-0.43
	ES (<i>hcg_p</i>) probador	0.63	0.054	0.07	0.026	9.91	0.25	0.24

ES (*hcg_l*): error estándar para efectos *hcg* para líneas. ES (*hcg_p*): error estándar para efectos de probadores.

Las estimaciones de los efectos de habilidad combinatoria específica (*hce*) en los 14 cruzamientos se presentan en el Cuadro 4. 13. Los mejores para cada carácter fueron los siguientes: 3 (RNJ-04 x RKI-01) para peso de fruto, 19 (MBI-11 x ASBC-09) para espesor de pericarpio, 12 (MBI-11 x RHC-02) para largo de fruto y número de semillas por fruto, 7 (ASBC-09 x RKI-01) para ancho de fruto y rendimiento por planta, 14 (MBI-11 x RNJ-04)

para contenido de capsaicina. Destacó el probador femenino MB1-11 con mejor habilidad combinatoria específica.

Cuadro 4. 13 Efectos de habilidad combinatoria específica para los caracteres evaluados en 14 Líneas F1 de *C. chinense* Jacq.

Cruzamientos		Peso fruto (g)	Espesor pericarpio (mm)	Longitud (cm)	Ancho (cm)	Frutos/planta	Rendimiento (g·plant ⁻¹)	Contenido capsaicina (mg·g ⁻¹ PS)
1	RHC-02 x RKI-01	6.74	0.03	-0.32	-0.05	-30.46	-0.50	4.25
2	RHN-03 x RKI-01	4.76	0.09	0.16	0.03	4.24	0.02	-1.43
3	RNJ-04 x RKI-01	14.08	-0.15	0.07	0.00	11.51	0.11	-7.03
4	NBA-06 x RKI-01	5.54	0.13	0.19	-0.02	2.37	0.18	1.74
5	NKA-07 x RKI-01	9.50	0.07	0.21	-0.04	-20.66	-0.04	-3.03
6	AKN-08 x RKI-01	9.62	0.08	-0.06	-0.16	14.59	-0.03	-1.51
7	ASBC-09 x RKI-01	10.85	-0.25	-0.24	0.24	18.40	0.24	7.00
12	MBI-11 x RHC-02	-2.82	-0.03	0.32	0.05	30.46	0.50	-4.25
13	MBI-11 x RHN-03	-1.19	-0.09	-0.16	-0.03	-4.24	-0.02	1.43
14	MBI-11 x RNJ-04	3.37	0.15	-0.07	0.00	-11.51	-0.11	7.03
16	MBI-11 x NBA-06	3.63	-0.13	-0.19	0.02	-2.37	-0.18	-1.74
17	MBI-11 x NKA-07	7.42	-0.07	-0.21	0.04	20.66	0.04	3.03
18	MBI-11 x AKN-08	5.11	-0.08	0.06	0.16	-14.59	0.03	1.51
19	MBI-11 x ASBC-09	2.97	0.25	0.24	-0.24	-18.40	-0.24	-7.00
	ES ($hce_{l \times p}$) cruces	0.84	0.024	0.03	0.02	3.30	4.83	0.83

ES ($hce_{l \times p}$): error estándar para efectos hce para los cruces.

Con base a los resultados de este capítulo se seleccionaron 10 Líneas F1 (cruzamientos), por destacar en la mayoría de los caracteres evaluados: 3 (RNJ-04 x RKI-01), 7 (ASBC-09 x RKI-01), 11 (RKI-01 x RHN-03), 14 (MBI-11 x RNJ-04), 15 (MBI-11 x RES-05), 19 (MBI-11 x ASBC-09), 20 (MSB-12 x RES-05), 25 (ASB-09 x NBA-06), 26 (MSB-12 x NBA-06), 27 (NKA-07 x NBA-06), Figura 4.2.

Líneas F1	3	7	11	14	15	19	20	25	26	27
	RNJ-04 x RKI-01	ASBC-09 x RKI-01	RKI-01 x RHN-03	MBI-11 x RNJ-04	MBI-11 x RES-05	MBI-11 x ASBC-09	MSB-12 x RES-05	ASBC-09xNBA-06	MSB-11 x NBA-06	NKA-07 x NBA-06
Color del fruto maduro:	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo	Naranja
Color del fruto inmaduro:	Verde intermedio	Verde intermedio	Verde intermedio	Verde oscuro	Verde oscuro	Verde oscuro	Verde oscuro	Verde oscuro	Verde oscuro	Verde oscuro
Forma:	Triangular	Acampanulado	Triangular	Triangular	Rectangular	Cuadrado	Cuadrado	Acampanulado	Acampanulado	Triangular
N° de lóculos:	3	3	3-4	2-3	3	2-4	2	3	3-4	3-4
Tipo de epidermis:	Semirugoso	Semirugoso	Liso	Rugoso	Semirugoso	Semirugoso	Semirugoso	Liso	Semirugoso	Liso
Tamaño:	5.37 x 2.98 cm	3.91 x 3.87†cm	4.85 x 3.05 cm	4.98 x 2.87 cm	4.06 x 3.23 cm	4.13 x 3.28 cm	4.86* x 3.28 cm	4.20 x 3.98 cm	3.83 x 3.44 cm	4.88 x 3.08 cm
Esesor de pericarpio:	1.84 mm	2.46 mm	2.35 mm	1.93 mm	2.22 mm *	2.76 mm	2.61 mm	2.55 mm	2.61 mm	2.57 mm
Peso:	11.56 g †	15.12 g	13.34 g	9.47	12.02	13.12 g	15.58 g *	13.74 g	10.82 g	11.49 g
N° de frutos por planta:	278	223	256	220.7	129.0	152	639 *	246	641	246
Rendimiento planta:	3.21 kg	3.38 kg †	3.42 kg	2.09 kg	1.55kg	2.00 kg	9.95 kg *	3.39 kg	6.94 kg	2.82 kg
* Heterosis										
† Habilidad combinatoria específica										
Días a floración:	33	33	26	33	33	42	42	26	42	33
Pungencia (SHU):	624,599	452,075	437,648	1,369,359 †	1,183,914	503,212	735,924	469,015	350,452	430,218
Preferible para:										

Figura 4. 2 Líneas F1 (cruzamientos), seleccionados por destacar en la mayoría de los caracteres evaluados* Mayor porcentaje heterosis para ese carácter. † Mayor habilidad combinatoria específica para ese carácter

4.4 DISCUSIÓN

Se obtuvieron 29 cruzamientos, entre los cuales los cruzamientos 8 (MBI-11 x RKI-01) y 22 (RHC-02 x RNJ-04) presentaron un 100 % de germinación, por otra parte con el progenitor femenino elite MBI-11 cruzado con el progenitor NKA-07 se logró el mayor porcentaje de “cuaje” de fruto 65 %. En este contexto Costa *et al.* (2009) evaluaron la compatibilidad de cruces entre *C. chinense* y *C. annuum* para el vigor y germinación de semillas de híbridos interespecíficos resultando en todos los cruzamientos interespecíficos produjeron frutos, con un porcentaje de fruto establecido entre 8.9 % y 40 %. La germinación varió de 0 a 45.3 % y en una segunda evaluación la germinación varió de 0 a 87.5 %; ellos concluyeron que es posible obtener frutos y semillas viables en cruces interespecíficos de *C. chinense* con *C. annuum*. En este estudio los cruzamientos que se realizaron fueron intraespecíficos entre *C. chinense*, resultando que el porcentaje de “cuaje” de fruto o frutos establecidos es más alto que en el trabajo de Costa *et al.* (2009), se puede concluir que se obtienen más frutos en cruzamientos entre la misma especie, sean o no líneas puras.

El cruzamiento que presentó las plántulas con mayor vigor fue el 15 (MBI-11 x RES-05) con una altura de 20 cm y un diámetro de tallo de 3.31 mm. Los cruzamientos 8 (MBI-11 x RKI-01) y el 22 (RHC-02 x RNJ-04), presentaron un 100 % de germinación, superando a sus progenitores que oscilaron entre 62 y 94 %. Kivadasannavar *et al.* (2009) determinaron un 88.20 % de germinación en semillas híbridas de chile híbrido HCH-9646 de *Capsicum annuum* L.

La primera cosecha se realizó una semana después del registro de los días a fructificación, los cruzamientos fueron un poco más precoces que sus progenitores, en un estudio Martínez-Martínez *et al.* (2014) determinaron diferencias significativas ($p < 0.01$) entre progenitores e híbridos para días a floración y fructificación en tomate. El color rojo en los frutos en estado maduro resultó ser un carácter dominante en los cruzamientos, la mayor parte de los frutos resultaron trilobulados, los colores del fruto en estado inmaduro varió; dos cruzamientos fueron verde tenue, 14 fueron verde intermedio que en su mayoría son con el progenitor elite RKI-01 y 13 de color verde oscuro; la mayoría resultado del cruzamiento con el progenitor femenino elite MBI-11.

El cruzamiento 20 (MSB-12 x RES-05) presentó el mayor peso de fruto con 15.58 g, el cruzamiento con el fruto más largo es el 22 (RHC-02 x RNJ-04) con 5.52 cm y el más ancho el 25 (ASBC-09 x NBA-06) con 3.97 cm, lo supera en ancho el progenitor 38 (ASBC-09) con 4.32 cm, debido a que el fruto tiene una forma acampanulada. En un estudio Tembhone y Rao, en el 2012, observaron en *Capsicum annuum* L. un máximo de espesor del fruto en el híbrido Indra (1.05 cm) y en la variedad Royal Wonder (1.01 cm), ellos indican que por esta cualidad son adecuados para el transporte a largas distancias. En nuestro estudio el mayor espesor de pericarpio lo presentó el cruzamiento 19 (MBI-11 x ASBC-09) con 0.276 cm, por lo tanto también podrá ser adecuado para el transporte.

En cuanto a producción, los cruzamientos 20 (MSB-12 x RES-05) y 26 (MSB-11 x NBA-06) fueron los más productivos con 39.81 y 27.76 kg, respectivamente; también presentaron el mayor número de frutos por planta 638 y 641 respectivamente; al mismo tiempo fueron los de mayor rendimiento 9952.5 y 6940 g·planta⁻¹, respectivamente. Un estudio realizado por Pérez *et al.* (2011) en el cual, evaluaron el rendimiento de fruto de trece híbridos de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) destacó el híbrido Orión, el cual tuvo buena calidad de fruto con un peso promedio individual de 178.7 g, así como mayor anchura (9.2 cm) y longitud (7 cm), comportándose como frutos de primera calidad dentro del mercado nacional, consecuentemente, presentó el mayor rendimiento por planta (1.9 kg) y por parcela (11.5 kg·m⁻²); el híbrido de menor rendimiento fue Magno (5.7 kg·m⁻²). La extrapolación del rendimiento máximo obtenido, en una hectárea es factible obtener 20 t·ha⁻¹, en un ciclo no mayor a seis meses de duración, desde la siembra hasta el fin de la cosecha. Por lo que, se podrían lograr hasta 199.1 t·ha⁻¹, lo cual es un rendimiento mayor de lo reportado por el SIAP 2017, para el estado con mayor rendimiento que fue San Luis Potosí con 85.5 t·ha⁻¹. May *et al.* (2010) recomiendan la hibridación como el método de mejoramiento genético más adecuado para incrementar rendimiento de fruto y número de frutos por planta en *Capsicum annuum* L. En cambio, para mejorar altura de planta, peso individual de fruto, días a inicio de cosecha, longitud y diámetro de fruto, el método de mejoramiento por endogamia y selección sería el más indicado para formar variedades. Como podemos notar en el presente estudio se logró incrementar la producción y el rendimiento por el método de mejoramiento genético por hibridación, pero no existieron diferencias significativas entre los diversos cruzamientos para las características del fruto como largo, ancho, espesor de pericarpio y peso de fruto.

El estudio de la heterosis permitió identificar híbridos que muestran un mejor comportamiento que los cultivares que le dieron origen, existen diferentes informes que indican la explotación de la heterosis en el desarrollo de variedades híbridas en especies de *Capsicum* entre ellos Tembhurne y Rao (2012) identificaron híbridos de *Capsicum annuum* L. con mayor heterosis; uno de ellos fue el cruzamiento ACA1/LCA334 que exhibió una heterosis de 493.4 % con respecto a los padres. En este estudio el cruzamiento con mayor heterosis para la mayoría de los caracteres evaluados como lo es el rendimiento fue el 20 (MSB-12 x RES-05) con 504.14 %, si el porcentaje de Heterosis (H) es > 100 % se dice que los dos progenitores que se cruzaron son genéticamente diferentes (Cabrera y Salazar, 2002). Por otro lado, Martínez-Martínez *et al.* (2014) evaluaron el comportamiento heterótico de 40 cruzas formadas entre 10 líneas S5 derivadas de colectas de jitomate nativo mexicano y cuatro líneas S5 derivadas de híbridos comerciales de jitomate tipo “Saladette”, en el cual la crusa de mayor rendimiento fue LOR111R, con 3,624 g·planta⁻¹, seguida del testigo El Cid con 3,452 g·planta⁻¹. En las variables peso promedio del fruto, número total de frutos y número de racimos por planta las cruzas al menos igualaron y en algunos casos superaron al híbrido testigo. En el presente estudio, el alto valor de heterosis manifestado en los cruzamientos (híbridos F1) para la mayoría de los rasgos, indicó la prevalencia de la acción génica dominante en el control de estos rasgos y la utilidad de las variedades híbridas para mejorar el cultivo.

También Marame *et al.* (2009) evaluaron doce genotipos de *Capsicum annuum* L. (nueve de Asia y tres de Etiopía), los cuales se cruzaron en la temporada de cultivo del 2003, el experimento se llevó en campo abierto en 2004/2005 para investigar la heterosis de catorce rasgos en 66 híbridos F1 cultivados junto con sus 12 progenitores. Obteniendo un máximo de heterosis sobre la media de sus progenitores, con respecto al mejor progenitor y la superioridad de los híbridos sobre los controles estándar, respectivamente para el rendimiento de frutos secos por planta (163.8, 161.8 y 92.1 %), número de frutos por planta (104.4, 79.6 y 136.4 %) y días a maduración (-29.8, -3.5 y -23.6 %); sus observaciones sugirieron la posibilidad de utilizar la potencialidad genética de dominancia disponible en diversos genotipos mediante la determinación heterosis para mejorar el pimiento.

Las estimaciones de habilidad combinatoria general (*hcg*) para las líneas parentales mostraron que los mejores genotipos para cada carácter son las siguientes: ASBC-09 para peso de fruto, espesor de pericarpio y ancho de fruto, RNJ-04 para largo de fruto, número de semillas por fruto y contenido de capsaicina, el tester RKI-01 para rendimiento por planta.

Resultados similares fueron reportados por Rohini *et al.* (2017); en el cual los mejores progenitores fueron: K1 (P2) para el número de fruta, K1 (P2), PKM1 (P5) para la forma del fruto, Arka Lohit (P1) y Pusa Jwala (P6) para capsaicina.

Las estimaciones de los efectos de habilidad combinatoria específica (*hce*) indicaron que las mejores cruzas para cada carácter fueron: RNJ-04 x RKI-01 para peso de fruto, MBI-11 x ASBC-09 para espesor de pericarpio, MBI-11 x RHC-02 para largo de fruto y número de semillas por fruto, ASBC-09 x RKI-01 para ancho de fruto y rendimiento por planta, MBI-11 x RNJ-04 para contenido de capsaicina. Resultados similares fueron reportados Rashid *et al.* (2007) en arroz, en el cual los cruzamientos con los genotipos Basmati-370 / DM-25, Super Basmati / DM-107-4 y Basmati-370 / EL-30-2-1, revelaron efectos de habilidad combinatoria específica positivos y altamente significativos para el rendimiento por planta. Por otra parte, Rodríguez *et al.* (2012) en su estudio con *Capsicum baccatum* indica que debido a los efectos positivos de *hcg* y *hce*, los híbridos UENF 1629 x UENF 1732, UENF 1616 x UENF 1732 y UENF 1624 x UENF 1639 se consideraron superiores por tener características agronómicas favorables. En conclusión en el presente estudio se obtuvieron híbridos F1, que resultaron superiores en la mayoría de los rasgos evaluados en comparación con sus progenitores, estos híbridos podrían estar indicados con potencial para su uso en diversos sectores de producción.

CAPÍTULO V

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS F1 Y PROGENITORES DE CHILE HABANERO (*Capsicum chinense* Jacq.) CULTIVADOS EN INVERNADERO.

5.1 INTRODUCCIÓN

Las especies de *Capsicum* son muy importantes en México debido a factores económicos y culturales, el país es un centro de diversidad para este género. La identificación de especies, la caracterización y evaluación de las accesiones mantenidas en los bancos de germoplasma son de fundamental importancia, además, la correcta clasificación de especies botánicas es esencial, una identificación errónea de las especies mantenidas en un banco de germoplasma generaría pérdidas al entregar un material genético mal identificado a otras instituciones (Fonseca *et al.*, 2008; Bonilla-Barrientos *et al.*, 2013; Branca *et al.*, 2018). La identificación de especies en *Capsicum* se ha llevado a cabo tradicionalmente utilizando los descriptores morfológicos; sin embargo, otros descriptores se consideran esenciales para una caracterización precisa del germoplasma, como las indicadas por el IPGRI (1995) para *Capsicum* y por el SNICS (2015), en particular para *Capsicum chinense* Jacq. (chile habanero). En el proceso de caracterización, los métodos multivariados se han convertido en una herramienta importante en la clasificación de genotipos conservados en bancos de germoplasma, en este contexto se han realizado diversos trabajos: Bozokalfa *et al.* (2009), Ortiz *et al.* (2010), Bharath *et al.* (2013), Orobiyi *et al.* (2018), Branca *et al.* (2018). El objetivo de este estudio fue caracterizar y evaluar 29 híbridos F1 y sus once progenitores, provenientes de la colección de *C. chinense* Jacq. del Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), para detectar posibles usos en diferentes sectores de producción.

5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Una colección de 29 híbridos F1 obtenidos a partir del cruzamiento entre once genotipos provenientes del banco de germoplasma de *C. chinense* Jacq., todos conservados en el Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) (Cuadro 5.1) se caracterizaron y evaluaron con base en descriptores morfológicos, considerando 40 descriptores, 22 cualitativos y 18 cuantitativos propuestos para *Capsicum* por el IPGRI (1995) y por el SNICS (2015) (Cuadro 5.2).

Cuadro 5. 1 Número y Clave de los híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. que fueron caracterizados en base a descriptores morfológicos.

HIBRIDOS F1				PROGENITORES	
No	CLAVE	No	CLAVE	No	CLAVE
1	P2 x P1	16	P11 x P6	30	P1
2	P3 x P1	17	P11 x P7	31	P2
3	P4 x P1	18	P11 x P8	32	P3
4	P6 x P1	19	P11 x P9	33	P4
5	P7 x P1	20	P12 x P5	34	P5
6	P8 x P1	21	P3 x P2	35	P6
7	P9 x P1	22	P2 x P4	36	P7
8	P11 x P1	23	P2 x P3	37	P8
9	P1 x P5	24	P8 x P6	38	P9
10	P1 x P2	25	P9 x P6	40	P11
11	P1 x P3	26	P12 x P6	41	P12
12	P11 x P2	27	P7 x P6		
13	P11 x P3	28	P8 x P11		
14	P11 x P4	29	P8 x P7		
15	P11 x P5				

Cuadro 5. 2 Descriptores evaluados y su clasificación observada en híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. según el IPGRI (1995) y el SNICS (2015).

Clave	Descriptores Morfológicos	Clasificación según los descriptores para <i>Capsicum</i>
Descriptores cualitativos		
NFA	Número de flores por axila (IPGRI)	1: uno, 2: dos, 3: tres o más, 4: muchas en racimo
PF	Posición de la flor (IPGRI)	3: pendiente, 5: intermedia, 7: erecta
CCO	Color de la corola (IPGRI)	1: blanco, 2: amarillo claro, 3: amarillo, 4: amarillo verdoso, 5: morado con la base blanca, 6: blanco con la base púrpura, 7: blanco con el margen púrpura, 8: morado, 9: otro
CA	Color de las anteras (SNICS)	3: violeta, 5: azul violáceo, 7: azul
CF	Color del filamento (SNICS)	1: verde claro, 2: verde amarillento, 3: violeta azulado claro, 4: violeta, 5: azul
EXE	Exersion del estigma (IPGRI)	3: inserto, 5: al nivel de las anteras, 7: exserto
CAN	Coloración antocianina del nudo (SNICS)	1: ausente 3: débil, 5: media, 7: fuerte
FT	Forma del tallo (SNICS)	1: cilíndrico, 2: angular

IVH	Intensidad del color verde hoja (SNICS)	3: débil, 5: medio, 7: fuerte
FH	Forma de la hoja (SNICS)	1: lanceolada, 5: oval, 7: deltoide
TH	Textura de la superficie hoja (SNICS)	3: ligeramente rugosa, 5: moderadamente, 9: rugosa
PH	Posición de la hoja (SNICS)	1: erecta, 2: horizontal
MLF	Margen de la lámina foliar (IPGRI)	1: entera, 2: ondulada, 3: ciliada
CFI	Color del fruto inmaduro (SNICS)	3: verde claro, 5: verde, 7: verde oscuro
CFM	Color del fruto maduro (SNICS)	2: amarillo, 4: naranja, 5: rojo, 6: púrpura amarronado
FF	Forma del fruto (SNICS)	1: triangular, 2: acampanulado, 3: cuadrado, 4: rectangular
TF	Textura de la superficie del fruto (SNICS)	1: liso, 2: semirrugoso, 3: rugoso
FAF	Forma del ápice del fruto (SNICS)	1: puntiagudo, 3: redondeado, 5: hundido, 7: hundido y puntiagudo
MCF	Margen del cáliz del fruto (SNICS)	1: entero, 2: medio, 3: dentado
OTF	Ondulación transversal del fruto (SNICS)	3: débil, 5: medio, 7: fuerte
DPF	Densidad de la placenta fruto (SNICS)	3: laxa, 5: semi-distribuida, 7: compacta
NLF	Número de lóculos fruto (SNICS)	2, 3, 4, 5
<u>Descriptores cuantitativos</u>		
G	Germinación IPGRI	Registrado los días 7, 10, 15, 18 y 21
AP	Altura de la planta (cm) IPGRI	Registrada cuando comienza a madurar el primer fruto en el % 50 de las plantas
LT	Longitud del tallo (cm) SNICS	Se midió la altura desde la base del tallo hasta la primera bifurcación, después de la primer cosecha
DT	Diámetro del tallo (cm) SNICS	Se midió en la parte del medio entre la base y la primera bifurcación, después de la primer cosecha
LLH	Longitud limbo hoja (cm) SNICS	Se midió en hojas de la parte media de la planta, después de la primera cosecha
ALH	Ancho del limbo hoja (cm) IPGRI, SNICS	Se midió en la parte más ancha de las hojas de la parte media de la planta, después de la primera cosecha
LPH	Longitud del pecíolo hoja (cm) SNICS	Se midió en hojas de la parte media de la planta, después de la primera cosecha
DFL	Días a la Floración (IPGRI)	Número de días desde el trasplante hasta que el 50 % de las plantas tenga al menos una flor abierta
DFR	Días a la Fructificación (IPGRI)	Número de días desde el trasplante hasta que el 50 % de las plantas tienen frutos en la primera y segunda bifurcaciones
LF	Longitud del fruto (cm) IPGRI	Medido en el punto más largo; promedio de 10 frutos maduros en la segunda cosecha
AF	Ancho del fruto (cm) IPGRI	Medido en el punto más ancho, promedio de 10 frutos maduros en la segunda cosecha
PF	Peso del fruto (g) IPGRI	Promedio del peso de 10 frutos maduros de la segunda cosecha
EPF	Espesor de pericarpio fruto (cm) IPGRI	Promedio del espesor de 10 frutos maduros de la segunda cosecha
LPF	Longitud del pedicelo del fruto (cm) IPGRI	Promedio de la longitud de 10 pedicelos de la segunda cosecha
GPF	Grosor del pedicelo del fruto (mm) SNICS	Promedio de la diámetro de 10 pedicelos de la segunda cosecha
NSF	Número de Semillas fruto (IPGRI)	Promedio de 10 frutos por accesión escogidos al azar
RP	Rendimiento (g·plant ⁻¹)	Promedio del rendimiento del fruto en 10 plantas
CC	Contenido de capsaicina (mg·g ⁻¹ PS)	Promedio de 10 frutos por accesión escogidos al azar, con el método de Collins <i>et al.</i> (1995), y cuantificado por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

Para evaluar las características morfológicas de los híbridos y sus progenitores se cultivaron en un invernadero en la unidad productora de semillas (UPS), del Parque Científico y Tecnológico de Yucatán, ubicado en Sierra Papacal, Mérida, Yucatán (21° 07' 20" N, 89° 43' 41" O) a una altitud de 9 msnm. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones, evaluando diez frutos por replica. En el manejo agronómico el trasplante se realizó en una bolsa de cultivo (Pelemix Guadalajara Jalisco 44680, México), con una longitud de un metro, con sustrato de fibra de coco (espesa y fina) en una proporción de 70:30; la distancia entre plantas e hileras fue de 20 y 160 cm, respectivamente. Ocho plantas de cada genotipo por bloque fueron evaluadas en la séptima cosecha. Se aplicó un análisis de correspondencia múltiple (ACM) para analizar los descriptores cualitativos. La importancia de los descriptores cuantitativos se probó a través del análisis de varianza, con una $p < 0.05$. Se determinó la asociación entre descriptores cuantitativos usando la correlación de Pearson. Los valores medios de los descriptores cuantitativos fueron sometidos a un análisis de componentes principales (ACP), utilizando solo los descriptores cuantitativos significativos según el análisis de varianza y un análisis clasificación jerárquico, incluyendo las variables de mayor contribución según el análisis de ACP, usando como índice de disimilitud, la distancia euclidiana al cuadrado y el algoritmo de ligamiento por el Método de Ward (método de varianza mínima). Todos los análisis se realizaron mediante el programa estadístico IBM *SPSS Statistics versión 22* (IBM Corp. Release, 2013).

5.3 RESULTADOS

*Descriptor*es cualitativos. Solamente el 7.5 % de los híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. no presentaron coloración antocianina del nudo (CAN). El 42.5 % presentó una intensidad media en el color verde hoja (IVH). El 55 % presentó una posición horizontal de la hoja (PH). El 45 % presentó una forma de fruto (FF) triangular. 80 % de los frutos presentaron el margen del cáliz entero (MCF). El 60 % presentó una ondulación transversal media del fruto (OTF). El 100 % de los frutos presentó un margen de la lámina foliar (MLF) ciliado. El 67.5 % de los frutos presento una textura de la superficie lisa (TF). El 42.5 % de los frutos presentaron una forma de ápice puntiagudo (FAF) (Cuadro 5.3. Anexo 1).

El ACM para las 22 variables cualitativas permitió identificar dos dimensiones que explican el 38.2 % de la variabilidad total (Cuadro 5.4, Figura 5.1). La primera dimensión está definida por las variables; Color de Antocianinas en el Nudo (CAN), Margen del Cáliz del Fruto (MCF), Posición de la Hoja (PH), Forma del Fruto (FF), Ondulación Transversal del Fruto (OTF), Intensidad del Verde de la Hoja (IVH) con una contribución de 22.1 %. La segunda dimensión se encontró definida en los descriptores cualitativos: Margen de la Lamina Foliar (MLF), Forma del Ápice del Tallo (FAF), Textura del Fruto (TF) con una contribución del 16.1 %.

Cuadro 5. 3 Porcentaje de distribución de 22 descriptores cualitativos y sus índices de diversidad en híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. Caracterizados en invernadero.

Descriptor	Frecuencia (%)			
NFA	Tres o más = 82.5	Muchas en racimo = 17.5		
PF	Intermedia = 55	Erecta = 45		
CCO	Amarillo claro = 15	Amarillo = 82.5	Amarillo verdoso = 2.5	
CA	Violeta = 85	Azul violáceo = 2.5	Azul = 12.5	
CF	Verde claro = 77.5	Verde amarillento = 12.5	Violeta = 10	
EXE	Al mismo nivel = 25	Exserto = 75		
CAN	Ausente = 7.5	Débil = 37.5	Media = 32.5	Fuerte = 22.5
FT	Cilíndrico = 80	Angular = 20		
IVH	Débil = 7.5	Medio = 42.5	Fuerte = 50	
FH	Lanceolada = 20	Oval = 80		
TH	Ligeramente rugosa = 62.5	Moderadamente rugosa = 37.5		
PH	Erecta = 45	Horizontal = 55		
MLF	Ciliada = 100			
CFI	Verde claro = 10	Verde = 45	Verde Oscuro= 45	

CFM	Amarillo = 5	Naranja = 7.5	Rojo = 82.5	Morado = 5
FF	Triangular = 45	Acampanulado = 10	Cuadrado = 17.5	Rectangular = 27.5
TF	Liso = 67.5	Semirrugoso = 25	Rugoso = 7.5	
FAF	Puntiagudo = 42.5	Redondeado = 22.5	Hundido = 35	
MCF	Entero = 80	Medio = 20		
OTF	Débil = 20	Medio = 60	Fuerte = 20	
DPF	Laxa = 17.5	Semidistribuida = 80	Compacta = 2.5	
NLF	2 = 2.5	3 = 82.5	4 = 15	

NFA: Número de flores por axila, PF: Posición de la flor, CCO: Color de la corola, CA: Color de las anteras, CF: Color del filamento, EXE: Exersión del estigma, CAN: Color de antocianinas en el nudo, FT: Forma del tallo, IVH: Intensidad de verde de la hoja, FH: Forma de la hoja, TH: Textura de la hoja, PH: Posición de la hoja, MLF: Margen de la lámina foliar, CFI: Color del fruto inmaduro, CFM: Color del fruto maduro, FF: Forma del fruto, TEF: Tipo de epidermis del fruto, FAF: Forma del ápice del fruto, MCF: Margen del cáliz del fruto, OTF: Ondulación transversal fruto, DPF: Densidad de la placenta fruto, NLF: Número de lóculos fruto.

Cuadro 5. 4 Análisis de correspondencia múltiple para 22 descriptores cualitativos en híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq.

Descriptor	Dimensión	
	1	2
NFA	0.026	0.002
PF	0.059	0.229
CCO	0.103	0.112
CA	0.043	0.142
CF	0.199	0.202
EXE	0.23	0.04
CAN	.758 ^z	0.319
FT	0.09	0.124
IVH	0.303	0.0
FH	0.165	0.2
TH	0.089	0.001
PH	0.406	0.003
MLF	0.08	0.426
CFI	0.116	0.145
CFM	0.17	0.167
FF	0.397	0.314
TF	0.215	0.36
FAF	0.297	0.42
MCF	0.498	0.084
OTF	0.334	0.057
DPF	0.184	0.194
NL	0.102	0.007
Total activo	4.864	3.548
% de varianza	22.109	16.126
Total	38.235	

NFA: Número de flores por axila, PF: Posición de la flor, CCO: Color de la corola, CA: Color de las anteras, CF: Color del filamento, EXE: Exersión del estigma, CAN: Color de antocianinas en el nudo, FT: Forma del tallo, IVH: Intensidad de verde de la hoja,

FH: Forma de la hoja, TH: Textura de la hoja, PH: Posición de la hoja, MLF: Margen de la lámina foliar, CFI: Color del fruto inmaduro, CFM: Color del fruto maduro, FF: Forma del fruto, TEF: Tipo de epidermis del fruto, FAF: Forma del ápice del fruto, MCF: Margen del cáliz del fruto, OTF: Ondulación transversal fruto, DPF: Densidad de la placenta fruto, NLF: Número de lóculos fruto.

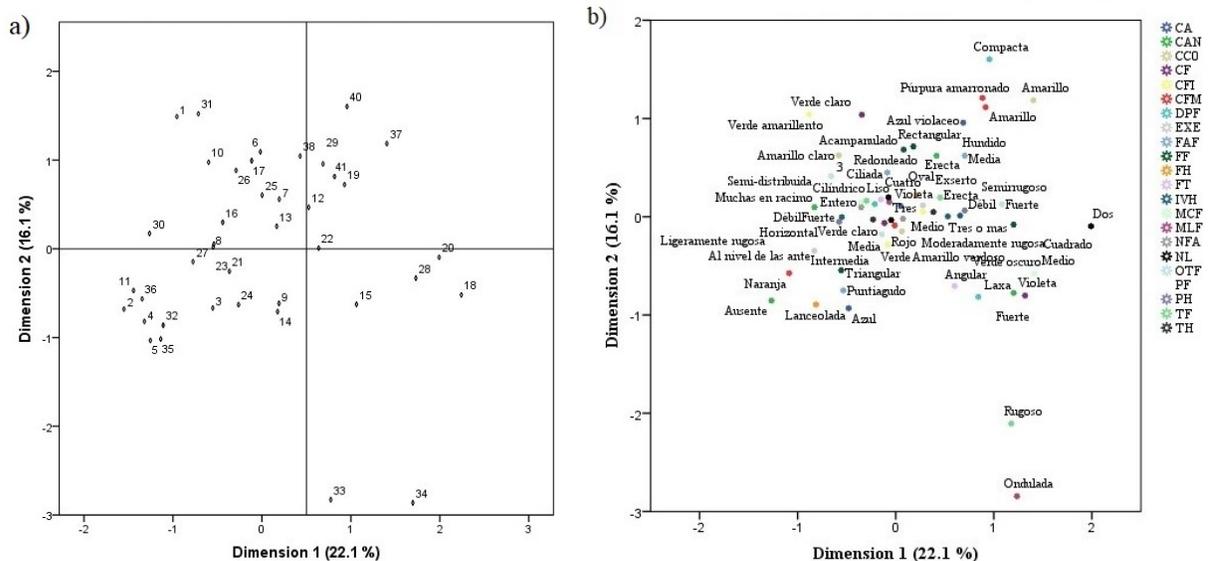


Figura 5. 1 Análisis de correspondencia múltiple que muestra la distribución de los híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. (a) Distribución de los genotipos en base a los descriptores cualitativos (b) Distribución en base a la clasificación de los descriptores cualitativos.

Descriptores cuantitativos. Entre los 18 descriptores cuantitativos, solamente el descriptor grosor de pericarpio del fruto (GPF) no mostró diferencias significativas para un nivel de $P < 0.05$ (Cuadro 5. 5) por lo cual no se incluyó en el ACP. Un resultado similar fue reportado por Castellón *et al.* (2003) en su estudio de variación fenotípica de morfotipos de Chile (*C. annum* L.) nativo de Oaxaca, México, en el cual obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$) entre y dentro de los morfotipos evaluados en todas las variables, excepto dentro de colectas para el número de frutos por planta. En nuestro estudio con base en los datos de las media de los descriptores cuantitativos, se pueden

indicar genotipos con potencial para su uso en diversos sectores de producción, por ejemplo, en la elaboración de salsas, alimentos enlatados y crudos, así como su incursión en programas de mejoramiento de *Capsicum*. En la Figura 5. 2 y 5. 3 se observa algunos de los descriptores cualitativos y cuantitativos evaluados en híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. cultivadas en invernadero y en la Figura 5. 4 se observa la diversidad de los frutos.

Cuadro 5. 5 Análisis de varianza de 29 híbridos F1 y sus once progenitores de *C. chinense* Jacq. cultivadas en invernadero para 18 descriptores cuantitativos.

Descriptor	Cuadrados medios				P valor
	Replica	Genotipo	Error		
	3	39	120		
G %	18.23	514.75*	11.45	0	
AP (cm)	47.19	900.77*	55.5	0	
LT (cm)	12.78	103.96*	7.03	0	
DT (cm)	0.014	0.115*	0.008	0	
LLH (cm)	2.05	4.45*	0.512	0	
ALH (cm)	0.874	1.55*	0.120	0	
LPH (cm)	0.951	0.621*	0.09	0	
DFL	60.91	132.65*	1.97	0	
DFR	8.75	122.5*	0.67	0	
LF (cm)	1.34	2.39*	0.67	0	
AF (cm)	0.868	1.20*	0.34	0	
PF (g)	9.66	28.20*	5.05	0	
EPF (cm)	0.031	0.007*	0.002	0	
LPF (cm)	0.097	0.111*	0.066	0.019	
GPF (cm)	0.073	0.004	0.004	0.634	
NSF	156.75	101.8*	42.53	0	
RP (g·planta ⁻¹)	7519	199983866.76*	13185.38	0	
CC (mg·g ⁻¹ PS)	0.0116	2608.631*	0.161	0	

*Diferencia significativa ($p < 0.05$), gl: grados de libertad, G: Germinación, AP: Altura de la planta, LT: Longitud del tallo, DT: Diámetro del tallo, LLH: Longitud limbo hoja, ALH: Ancho del limbo hoja, LPH: Longitud del pedicelo de la hoja, DFL: Días a la floración, DFR: Días a la fructificación, LF: Longitud del fruto, AF: Ancho del fruto, PF: Peso del fruto, EPF: Espesor de pericarpio fruto, LPF: Longitud del pedicelo del fruto, GPF: Grosor del pedicelo del fruto, NSF: Número de semillas por fruto, RP: Rendimiento, CC: Contenido de capsaicina.

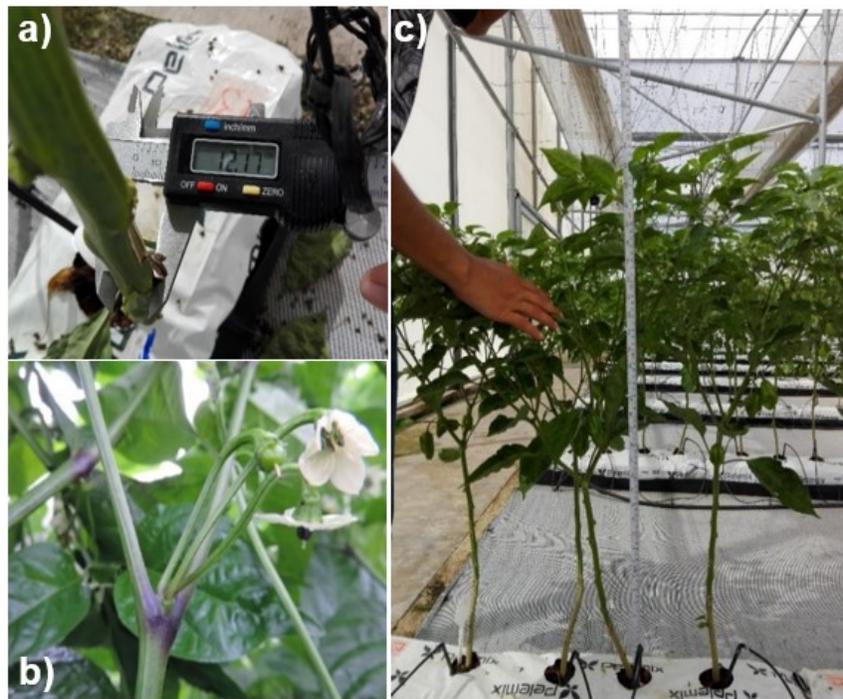


Figura 5. 2 Caracterización de planta de progenitores e híbridos F1; a) Grosor de tallo, b) Color de antocianinas en el nudo, c) Altura de la planta.

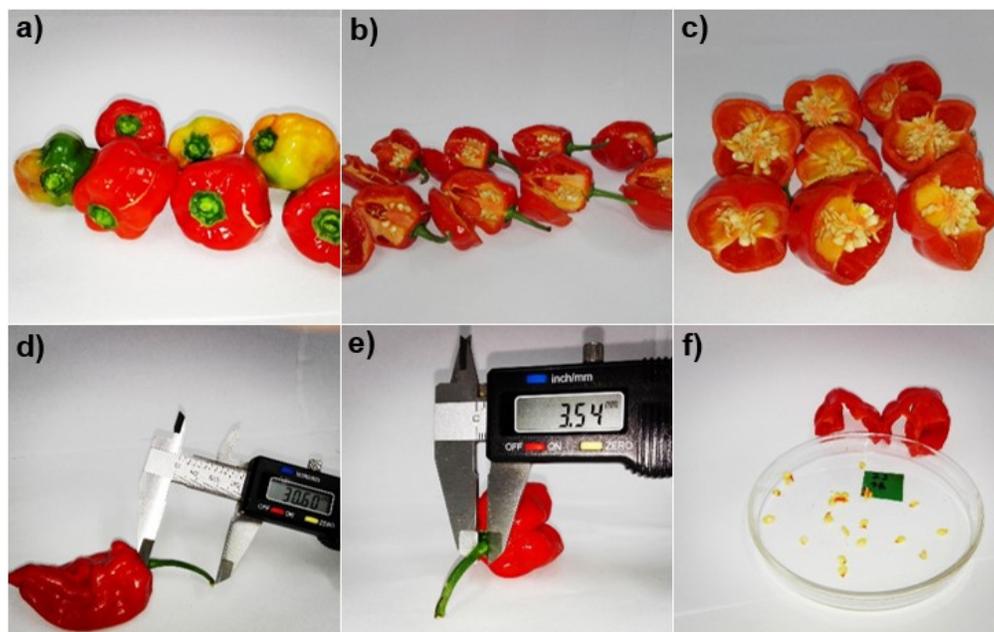


Figura 5. 3 Caracterización de fruto de progenitores e híbridos F1: a) Margen del cáliz del fruto, b) Densidad de la placenta, c) Número de lóculos, d) Longitud del pedicelo, e) Grosor del pedicelo, f) Número de semillas.

Los valores medios de los descriptores cuantitativos se desglosan en el Cuadro 5.6. La germinación de los híbridos F1 osciló entre el 60 % - 100 %, superando a sus progenitores que oscilaron entre 62 % - 94 %; los híbridos F1 que presentaron un 100 % de germinación fueron el No. 8 (P11 x P1) y el No. 22 (P2 x P4), difiriendo estadísticamente del resto de los híbridos F1 y de sus progenitores. El progenitor No. 34 (P5) presentó la mayor altura de planta (AP) con 155.3 cm, y la menor altura fue para el híbrido F1 No.11 (P1 x P3) con 87.2 cm. El mayor diámetro de tallo (DT), longitud del limbo de la hoja (LLH), ancho del limbo de la hoja (ALH) y rendimiento por planta (RP) lo presentó el híbrido F1 No. 20 (P12 x P5) con 1.9 cm, 15 cm, 8 cm y 9952.50 g·planta⁻¹, respectivamente. El mayor contenido de capsaicina (CC) lo presentó el progenitor No. 34 (P5) con 147.11 mg·g⁻¹ PS.

El peso de fruto (PF) varió significativamente entre los híbridos F1 y progenitores; el mayor valor en peso de fruto (PF) y ancho de fruto (AF) fue para el progenitor No. 38 (P9) con 4.32 y 16.82 cm, respectivamente, por otro lado el progenitor No. 33 (P4) fue el de menor valor para estos descriptores. El progenitor No. 30 (P1) presentó el mayor número de semillas por fruto (NSF) con 53.7.

Cuadro 5. 6 Descriptores cuantitativos evaluados en híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. cultivadas en invernadero.

HÍBRIDOS F1			PLANTA		
No	CLAVE	% G	AP (cm)	LT (cm)	DT (cm)
1	P2 x P1	75 jk	104.8 lmnopq	45.4 klmno	1.31 defgh
2	P3 x P1	88 ef	142.7 bc	52.7 bcd	1.09 lmn
3	P4 x P1	85 fg	111.9 hijklmn	55.5 b	1.16 ijklm
4	P6 x P1	60 o	97 pqrs	46.6 ijklmn	1.16 ijklm
5	P7 x P1	68 mn	121.1 efgh	50.6 cdefgh	1.14 ijklm
6	P8 x P1	83 gh	113.5 ghijklmn	51.5 cde	1.15 ijklm
7	P9 x P1	80 hi	123.2 defg	47.8 fghijkl	1.19 hijklm
8	P11 x P1	100 a	104.2 mnoopq	49.2 defghij	1.25 efghi
9	P1 x P5	78 ij	122.4 efgh	62.4 a	1.16 ijklm
10	P1 x P2	83 gh	93.5 rs	39.2 qrs	1.2 hijklm
11	P1 x P3	75 jk	87.2 s	45 lmno	1.12 ijklm
12	P11 x P2	73 kl	126.7def	46.1 ijklmn	1.35 cdef
13	P11 x P3	83 gh	106.9 jklmnop	42.4 opq	1.22 ghij
14	P11 x P4	73 kl	115.1 ghijkl	44.5 lmno	1.37 cde
15	P11 x P5	93 cd	148.5 ab	54.2 bc	1.37 cde
16	P11 x P6	80 hi	123 defg	51.2 cdefg	1.41 cd
17	P11 x P7	90 de	120.3 efghi	49 efghijk	1.35 cdef
18	P11 x P8	80 hi	133.4 cd	45.7 jklmno	1.47 c
19	P11 x P9	95 bc	122.6 efg	45.3 klmno	1.39 cd
20	P12 x P5	67 n	138 jklmno	44 mno	1.9 a
21	P3 x P2	70 lmn	116.9 fghij	51.5cdef	1.21 hijklm
22	P2 x P4	100 a	120.8 efgh	52.3 bcde	1.22 ghij
23	P2 x P3	90 de	107.2 jklmnop	46.9 ijklm	1.11 jklmn
24	P8 x P6	98 ab	108.5 jklmno	47.8 ghijkl	1.17 ijklm
25	P9 x P6	70 lmn	104.4 mnoopq	42 opqr	1.19 hijklm
26	P12 x P6	67 n	128.5 de	42 opqr	1.7 b
27	P7 x P6	60 o	106.5 klmnop	45.5 klmno	1.16 ijklm
28	P8 x P11	90 de	115.8 ghijk	40.1 pqrs	1.38 cd
29	P8 x P7	83 gh	114.2 ghijklm	46.75 ijklmn	1.21 ghijkl
PROGENITORES					
30	P1	88 ef	95.9 qrs	47 hijklm	1.23 fghi
31	P2	72 klm	109.9 ijklmn	46.7 ijklmn	1.23 fghij
32	P3	74 jkl	115.3 ghijk	51.9 bcde	1.1 klmn
33	P4	94 bcd	130.6 de	49.7 defghi	1.17 ijklm
34	P5	94 bcd	155.3 a	55.5 b	1.39 cd
35	P6	88 ef	95.3 qrs	45.6 jklmno	0.995 n
36	P7	72 klm	97.3 pqrs	43.2 nop	1.09 nm
37	P8	100 a	98.2 opqr	38.6 rs	1.34 defg
38	P9	82 ghi	105.7 klmnopq	42.1 opqr	1.31 ijklm
40	P11	62 o	130.3 de	37.7 s	1.43 cd
41	P12	90 de	103.2 nopqr	49.3 defghi	1.17 ijklm
LSD (0.05)		4.70	10.45	3.67	0.12

G: Germinación, AP: Altura de la planta (cm), LT: Longitud del tallo (cm), DT: Diámetro del tallo (cm). Los promedios dentro de cada columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí en función del nivel de probabilidad $p < 0.05$ del LSD.

Cuadro 5. 6 Continuación...

No	HÍBRIDOS F1 CLAVE	HOJA		
		LLH (cm)	ALH (cm)	LPH (cm)
1	P2 x P1	12.5 ghijklm	6.15 ijklm	3.15 lmn
2	P3 x P1	13.7 bcd	6.3 ghijklm	3.5 efghijk
3	P4 x P1	13.05 cdefg	6.15 jklm	3.45 fghijk
4	P6 x P1	13.1 cdefg	6.8 defgh	3.35 ghijkl
5	P7 x P1	12.35 hijklm	6.3 ghijklm	3.85 cde
6	P8 x P1	13.9 bc	6.55 defghijk	3.2 jklm
7	P9 x P1	12.2 hijklmn	6.25 hijklm	3.6 defghi
8	P11 x P1	12.35 hijklm	6.9 cdef	3.25 hijkl
9	P1 x P5	13.65 bcdef	7.1 bcd	3.55 defghij
10	P1 x P2	14.25 ab	7.45 abc	3.6 defghi
11	P1 x P3	12.25 hijklmn	6.15 ijklm	2.9 mn
12	P11 x P2	14.15 ab	6.7 defghij	3.65 defgh
13	P11 x P3	11.5 o	5.95 lmn	3.75 cdef
14	P11 x P4	13.15 cdefg	6.85 defg	3.55 defghij
15	P11 x P5	12.4 ghijklm	6.85 defg	3.35 ghijkl
16	P11 x P6	11.7 klmno	6.4 fghijkl	3.2 jklm
17	P11 x P7	12 ijklmno	6.45 fghijkl	3.7 defg
18	P11 x P8	12.05 ijklmno	6 klm	3.2 jklm
19	P11 x P9	11.75 jklmno	6.05 klm	3.5 efghijk
20	P12 x P5	15 a	8 a	3.5 efghijk
21	P3 x P2	12.8 defghi	6.05 klm	3.15 klmn
22	P2 x P4	11.75 jklmno	6.45 fghijkl	3.75 cdef
23	P2 x P3	11.65 lmno	5.2 p	3.15 klmn
24	P8 x P6	12.6 ghijkl	6.05 klm	3.45 fghijk
25	P9 x P6	11.3 no	5.95 lmn	3.5 efghijk
26	P12 x P6	14 bc	7.5 ab	4.25 ab
27	P7 x P6	12.1 ijklmno	6.25 hijklm	3 lmn
28	P8 x P11	14.25 ab	7.45 abc	4.1 abc
29	P8 x P7	13.65 bcde	6.75 defghi	4.25 ab
PROGENITORES				
30	P1	11.95 ijklmno	6.1 klm	3.6 defghi
31	P2	13.05 cdefg	6.45 fghijkl	2.9 mn
32	P3	11.7 klmno	5.35 op	3.2 jklm
33	P4	12.25 hijklmn	6.2 ijklm	3.3 hijkl
34	P5	12.6 ghijkl	6.85 defg	4.35 a
35	P6	13.35 bcdefg	6.5efghijkl	3.4 fghijk
36	P7	11.6 mno	5.4 nop	2.8 no
37	P8	12.65 efghij	7.1bcd	3.3 hijkl
38	P9	9.45 p	5.3 op	2.5 o
40	P11	11.8 jklmno	5.8 mno	3.9 bcd
41	P12	12.7 fghijk	7.05 bcde	3.65 defgh
LSD (0.05)		0.96	0.59	0.36

LLH: Longitud limbo hoja (cm), ALH: Ancho del limbo hoja (cm), LPH: Longitud del pedicelo de la hoja (cm). Los promedios dentro de cada columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí en función del nivel de probabilidad $p < 0.05$ del LSD.

Cuadro 5. 6 Continuación...

HÍBRIDOS F1		FRUTO					
No	CLAVE	DFL	DFR	LF (cm)	AF (cm)	PF (g)	EPF (cm)
1	P2 x P1	26 d	70 b	4.46 jkl	3.20 fghijk	13.61 ef	0.242 cde
2	P3 x P1	33 c	77 a	4.76 gh	3.14 ghijkl	12.04 j	0.255 bc
3	P4 x P1	33 c	63 c	5.37 ab	2.98 nopq	11.55 k	0.182 qr
4	P6 x P1	33 c	70 b	5.03 de	3.01 lmnop	13.40 efg	0.247 bcde
5	P7 x P1	26 d	70 b	5.12 cd	3.13 ghijklm	12.71 i	0.237 efgh
6	P8 x P1	33 c	63 c	4.89 efg	3.30 ef	12.88 hi	0.240 defg
7	P9 x P1	33 c	63 c	3.91 pq	3.87 b	15.12 c	0.247 bcde
8	P11 x P1	33 c	63 c	4.81 g	2.96 opq	10.90 l	0.237 efgh
9	P1 x P5	33 c	63 c	4.63 hi	3.08 jklmno	11.95 j	0.232 fghij
10	P1 x P2	33 c	77 a	4.89 efg	3.21 fghi	13.33 fg	0.225 hijk
11	P1 x P3	26 d	70 b	4.84 fg	3.05 lmnop	13.34 fg	0.235 efghi
12	P11 x P2	42 b	70 b	4.83 fg	3.21 fghij	12.52 i	0.217 klm
13	P11 x P3	33 c	63 c	4.19 mn	2.97 nopq	9.83 o	0.217 klm
14	P11 x P4	33 c	63 c	4.98 def	2.87 qr	9.47 op	0.192 pq
15	P11 x P5	33 c	63 c	4.06 nop	3.23 fg	12.02 j	0.222 ijkl
16	P11 x P6	26 d	63 c	4.40 kl	2.96 opq	9.18 pq	0.202 nop
17	P11 x P7	33 c	77 a	4.45 jkl	3.11 ghijklm	8.91 q	0.207 mno
18	P11 x P8	42 b	70 b	4.75 gh	3.50 d	12.74 hi	0.207 mno
19	P11 x P9	42 b	63 a	4.13 no	3.28 ef	13.11 gh	0.277 a
20	P12 x P5	42 b	63 a	4.86 fg	3.28 ef	15.58 b	0.260 b
21	P3 x P2	26 d	70 b	4.54 ijk	3.22 fgh	12.58 i	0.217 klm
22	P2 x P4	33 c	63 c	5.52 a	2.87 qr	10.25 n	0.170 rs
23	P2 x P3	26 d	77 a	4.62 hij	3.08 ijklmno	12.78 hi	0.230 fghijk
24	P8 x P6	33 c	63 c	4.85 fg	3.20 fghijk	12.58 i	0.210 lmn
25	P9 x P6	26 d	63 c	4.20 mn	3.97 b	13.74 de	0.257 b
26	P12 x P6	42 b	77 a	3.83 q	3.44 d	10.82 lm	0.260 b
27	P7 x P6	33 c	77 a	4.88 efg	3.08 klmno	11.48 k	0.257 b
28	P8 x P11	33 c	70 b	4.80 g	3.40 de	13.69 ef	0.197 nop
29	P8 x P7	26 d	70 b	4.52 ijk	3.09 hijklmn	11.51 k	0.210 lmn
PROGENITORES							
30	P1	26 d	70 b	4.90 efg	3.01 mnop	14.10 d	0.220 jklm
31	P2	33 c	63 c	4.31 lm	3.13 ghijklm	12.72 i	0.195 opq
32	P3	26 d	70 b	4.02 op	2.81 r	9.75 o	0.240 defg
33	P4	33 c	70 b	5.28 bc	2.42 s	6.75 s	0.147 t
34	P5	33 c	77 a	3.63 r	2.97 nopq	7.77 r	0.165 s
35	P6	26 d	77 a	4.81 g	2.94 pq	12.70 i	0.252 bcd
36	P7	26 d	70 b	5.03 de	3.01 lmnop	10.46 mn	0.227 ghijk
37	P8	33 c	70 b	4.48 ijkl	3.67 c	16.67 a	0.235 efghi
38	P9	42 b	70 b	3.62 r	4.32 a	16.82 a	0.277 a
40	P11	33 c	77 a	4.23 mn	2.95 pq	13.52 ef	0.197 nop
41	P12	48 a	77 a	3.41 s	3.65 c	9.55 op	0.282 a
LSD (0.05)		0.94	0.94	0.17	0.13	0.38	0.012

DFL: Días a la floración, DFR: Días a la fructificación, LF: Longitud del fruto (cm), AF: Ancho del fruto (cm), PF: Peso del fruto (g). EPF: Espesor de pericarpio fruto (cm). Los promedios dentro de cada columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí en función del nivel de probabilidad $p < 0.05$ del LSD.

Cuadro 5. 6 Continuación...

HIBRIDOS F1			FRUTO			
No	CLAVE	LPF (cm)	GPF (cm)	NSF	RP (g-planta ⁻¹)	CC (mg·g ⁻¹ PS)
1	P2 x P1	3.08 abcde	0.47 abc	48.9 abcde	2803.38 h	53.38 h
2	P3 x P1	2.75 degf	0.41 cdefg	41.9 defghijk	2802.46 h	30.30 v
3	P4 x P1	3.02 abcdef	0.38 fg	50 abcd	3213.19 e	71.85 e
4	P6 x P1	2.7 gf	0.4 defg	41.6 defghijk	2990.92 f	45.12 k
5	P7 x P1	3.18 abc	0.42 bcdefg	45.5 abcdefg	2964.19 fg	33.61 t
6	P8 x P1	3.01 abcdefg	0.43 abcdef	50 abcd	2943.13 fgh	39.53 p
7	P9 x P1	2.72 egf	0.49 a	49.3 abcde	3375.54 cd	48.17 i
8	P11 x P1	2.69 gf	0.43 abcdef	40.3 fghijk	2813.07 gh	41.99 m
9	P1 x P5	3.28 ab	0.39 efg	45.5 abcdefg	3242.48 de	55.85 g
10	P1 x P2	3.16 bcdegf	0.46 abcd	39.1 ghijk	2619.78 i	30.16 v
11	P1 x P3	2.71 cdegf	0.44 abcdef	49.3 abcde	3416.95 c	31.73 u
12	P11 x P2	3.33 abcde	0.42 bcdefg	47.9 abcdef	2905.59 fgh	44.02 l
13	P11 x P3	2.79 abcd	0.42 bcdefg	39.6 fghijk	1865.47 pq	32.30 u
14	P11 x P4	3.3 cdegf	0.4 defg	36.9 hijk	2090.69 o	85.05 c
15	P11 x P5	3.02 abcdefg	0.45 abcde	40.1 fghijk	1550.25 r	73.54 d
16	P11 x P6	3.56 degf	0.44 abcdef	37.5 ghijk	1726.72 q	40.78 o
17	P11 x P7	2.83 cdegf	0.41 cdefg	40 fghijk	2139.69 no	38.81 q
18	P11 x P8	3.22 a	0.39 efg	40.6 efghijk	2100.85 o	41.70 mn
19	P11 x P9	3.3 abcd	0.44 abcdef	52.1 ab	1996.91 op	33.33 t
20	P12 x P5	2.93 gf	0.46 abcd	38.8 ghijk	9952.50 a	48.22 i
21	P3 x P2	2.84 abcdegf	0.43 abcdefg	38.8 ghijk	2089.06 o	35.32 s
22	P2 x P4	3.08 abcd	0.4 defg	35.7 ijk	2808.57 gh	58.36 f
23	P2 x P3	3.09 cdegf	0.41 cdefg	40.4 fghijk	2407.16 jklm	35.41 s
24	P8 x P6	2.87 abcdegf	0.42 bcdefg	41.7 defghijk	2386.57 jklm	37.18 r
25	P9 x P6	2.98 bcdegf	0.43 abcdefg	48 abcdef	3385.87 cd	34.91 s
26	P12 x P6	2.81 degf	0.44 abcdef	42.9 cdefghij	6940.00 b	29.76 v
27	P7 x P6	2.88 abc	0.43 abcdefg	34.1 k	2821.75 gh	27.33 x
28	P8 x P11	3.31 abcdegf	0.46 abcd	43.7 bcdefghi	2538.07 ij	41.40 n
29	P8 x P7	3.09 abcde	0.47 abc	51.3 abc	2286.72 mn	46.17 j
PROGENITORES						
30	P1	2.66 gf	0.44 abcdef	52.7 a	2393.75 jklm	23.68 z
31	P2	2.96 abcdegf	0.39 efg	42.5 cdefghij	2342.32 klm	15.71 z
32	P3	3.08 abcde	0.4 defg	41.8 defghijk	2276.00 mn	20.34 z
33	P4	2.86 cdegf	0.44 abcdef	35.1 jk	1482.29 r	120.38 b
34	P5	3 abcdefg	0.45 abcde	42.9 cdefghij	846.78 s	147.11 a
35	P6	2.95 bcdegf	0.44 abcdef	44.2 bcdefghi	2315.25 lm	28.95 w
36	P7	2.76 degf	0.36 g	45.3 abcdefgh	2501.32 ij	29.09 w
37	P8	3.19 abc	0.46 abcd	49.3 abcde	2485.28 ijk	26.52 y
38	P9	2.98 abcdegf	0.48 ab	50.5 abc	2610.28 i	23.82 z
40	P11	3.08 abcde	0.45 abcde	43.5 bcdefghi	1418.63 r	44.54 l
41	P12	2.97 abcdegf	0.49 a	49.1 abcde	2448.00 jkl	21.62 z
LSD (0.05)		0.35	0.06	8.81	161.69	0.568

LPF: Longitud del pedicelo del fruto (cm), GPF: Grosor del pedicelo del fruto (cm), NSF: Número de semillas por fruto, RP: Rendimiento, CC: Contenido de capsaicina. Los promedios dentro de cada columna seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes entre sí en función del nivel de probabilidad $p < 0.05$ del LSD.

El análisis de correlaciones indicó que el descriptor ancho del limbo de la hoja (ALH) presentó una correlación positiva y significativa con el descriptor longitud del limbo de la hoja (LLH), demostrando así la relación que existe entre el ancho y largo de la hoja (Figura 5.4). Al igual el ancho de fruto (AF) se correlacionó negativamente con largo de fruto (LF). Por otra parte, el descriptor ancho de fruto (AF) presentó una correlación positiva con el peso del fruto (PF) con 0.642. El descriptor espesor de pericarpio del fruto (EPF) presentó una asociación con ancho de fruto (AF) con 0.580, los días a floración (DFL) correlacionó positivamente con diámetro de tallo (DT) con 0.523 y grosor de pedicelo de fruto (GPF) correlacionó negativamente con largo de fruto (LF) -0.508. El rendimiento por planta (RP) indicó una asociación con diámetro de tallo (DT) y longitud del limbo de la hoja (LLH), lo que denota una influencia directa del porte de la planta con el rendimiento, por último el contenido de capsaicina correlacionó positiva y significativamente con altura de planta (AP) 0.557 y negativamente con espesor de pericarpio de fruto (EPF) -0.620 (Anexo 2).

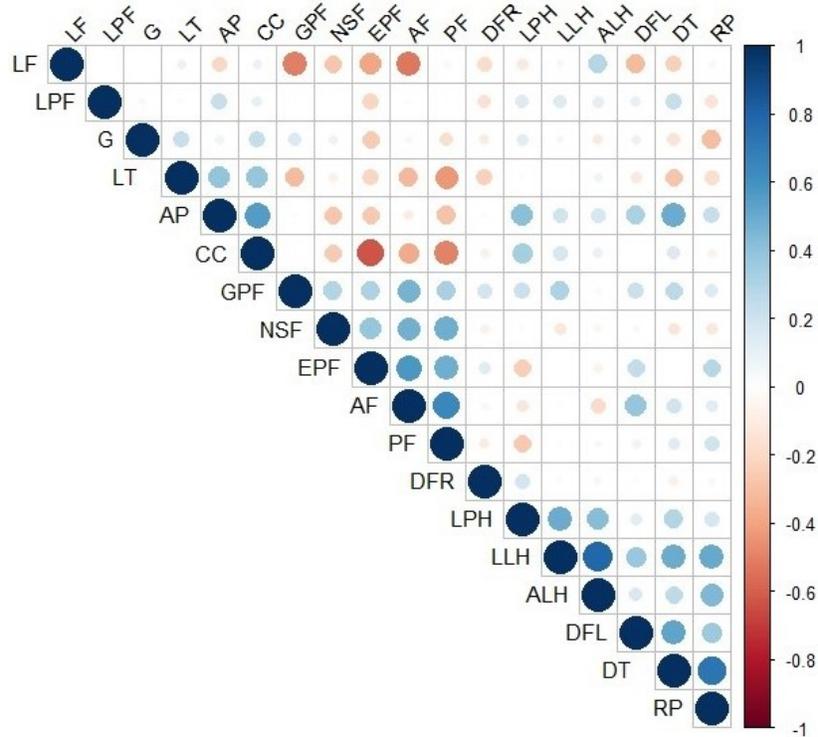


Figura 5. 4 Matriz de correlación Pearson para 18 descriptores cuantitativos de 29 híbridos F1 y once progenitores de *C. chinense* Jacq. cultivadas en invernadero. G: Germinación, AP: Altura de la planta , LT: Longitud del tallo, DT: Diámetro del tallo, LLH: Longitud limbo hoja , ALH: Ancho del limbo hoja, LPH: Longitud del pedicelo de la hoja, DFL: Días a la floración, DFR: Días a la fructificación, LF: Longitud del fruto, AF: Ancho del fruto, PF: Peso del fruto, EPF: Espesor de pericarpio fruto, LPF: Longitud del pedicelo del fruto, GPF: Grosor del pedicelo del fruto, NSF: Número de semillas por fruto, RP: Rendimiento, CC: Contenido de capsaicina.

Se utilizó ACP para examinar la variación de 29 híbridos F1 y once progenitores de *C. chinense* Jacq. Los primeros seis ejes representaron el 85.1 % de la variabilidad (Cuadro 5.7). El primer componente estuvo relacionado principalmente con el contenido de capsaicina (CC) y espesor del pericarpio del fruto (EPF) (Cuadro 5.7 y Figura 5.5). El segundo componente se relacionó con diámetro de tallo (DT) y rendimiento por planta (RP), el tercer componente se relacionó con longitud del fruto (LF), el cuarto componente con número de semillas por fruto (NSF), el quinto componente con longitud de pedicelo de fruto (LPF) y el sexto componente con longitud del tallo (LT).

Cuadro 5. 7 Análisis de componentes principales señalando valores y vectores propios de 17 descriptores cuantitativos en híbridos F1 y sus progenitores de *C. chinense* Jacq.

CP						
Autovalores	1	2	3	4	5	6
Valores propios	1.942	1.762	1.328	1.163	1.057	0.938
% Varianza explicada	0.251	0.207	0.118	0.090	0.074	0.059
% Varianza acumulada	0.251	0.458	0.576	0.666	0.799	0.851
Vectores						
G %	0.118	-0.149	-0.285	0.417	-0.047	0.364
AP (cm)	0.315	0.182	-0.36	-0.236	-0.05	-0.254
LT (cm)	0.249	-0.178	-0.165	0.084	-0.445	-0.602
DT (cm)	0.1	0.46	-0.118	-0.271	0.23	0.106
LLH (cm)	0.19	0.415	0.136	0.298	-0.095	0.052
ALH (cm)	0.194	0.335	0.319	0.36	-0.148	-0.188
LPH (cm)	0.26	0.243	-0.164	0.273	-0.083	0.32
DFL	0.057	0.245	0.015	-0.02	-0.142	0.065
DFR	-0.039	0.261	0.066	-0.241	-0.313	0.051
LF (cm)	0.153	-0.139	0.563	0.18	0.164	-0.117
AF (cm)	-0.352	0.216	-0.325	0.065	0.043	-0.03
PF (g)	-0.363	0.205	0.065	0.187	0.173	-0.135
EPF (cm)	-0.383	0.177	-0.031	-0.056	-0.33	-0.202
LPF (cm)	0.112	0.079	-0.186	0.198	0.697	-0.451
NSF	-0.279	0.042	-0.242	0.463	-0.128	-0.081
RP (g·planta ⁻¹)	0.02	0.458	0.18	-0.261	-0.191	0.008
CC (mg·g ⁻¹ PS)	0.395	-0.039	-0.216	-0.031	-0.014	0.072

CP: Componente principal 1-6, G: Germinación, AP: Altura de la planta, LT: Longitud del tallo, DT: Diámetro del tallo, LLH: Longitud limbo hoja, ALH: Ancho del limbo hoja, LPH: Longitud del pedicelo de la hoja, DFL: Días a la floración, DFR: Días a la fructificación, LF: Longitud del fruto, AF: Ancho del fruto, PF: Peso del fruto, EPF: Espesor de pericarpio fruto, LPF: Longitud del pedicelo del fruto, NSF: Número de semillas por fruto, RP: Rendimiento, CC: Contenido de capsaicina.

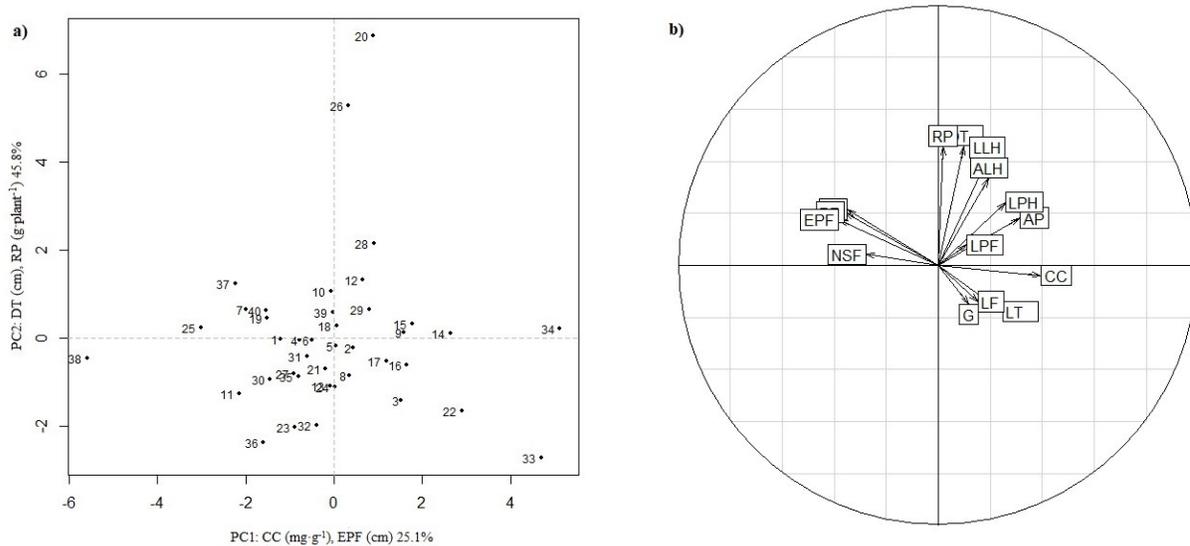


Figura 5. 5 Análisis de componentes principales que muestra la distribución de los híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. (a) Distribución de los genotipos en base a los descriptores cuantitativos. (b) Distribución con base en la clasificación de los descriptores cuantitativos. G: Germinación, AP: Altura de la planta, LT: Longitud del tallo, DT: Diámetro del tallo, LLH: Longitud limbo hoja, ALH: Ancho del limbo hoja, LPH: Longitud del pedicelo de la hoja, DFL: Días a la floración, DFR: Días a la fructificación, LF: Longitud del fruto, AF: Ancho del fruto, PF: Peso del fruto, EPF: Espesor de pericarpio fruto, LPH: Longitud del pedicelo del fruto, NSF: Número de semillas por fruto, RP: Rendimiento, CC: Contenido de capsaicina. PC1: componente principal 1, PC2: componente principal 2. Números del 1 – 41 (híbridos F1 y progenitores).

Para determinar la similitud jerárquica entre los 29 híbridos F1 y los once progenitores de *C. chinense* Jacq., se realizó un dendrograma de distancia genética utilizando los datos de PCA utilizando el criterio de Ward (Figura 5.6). Se obtuvieron cinco grupos, principalmente a base de descriptores de planta y fruto. Los datos medios de cada grupo se encuentran en la Cuadro 5.8. El grupo 1 conformado por dos híbridos F1, los cuales presentaron los valores medios más altos en rendimiento por planta (RP). En el grupo 2 se ubicaron cinco híbridos F1 y dos progenitores presentando los valores medios más altos en longitud de tallo (LT), longitud de pedicelo de fruto (LPH) y en contenido de capsaicina (CC), en el grupo 3 se agruparon; tres híbridos F1 y dos progenitores con los valores medios más altos en

espesor de pericarpio de fruto (EPF) y número de semillas de fruto (NSF), en el grupo 4 se agruparon cuatro híbridos F1 y dos progenitores presentando el valor medio más bajo en largo de tallo y el Agrupamiento 5 se conformó por el mayor número de híbridos F1 y progenitores: 15 y 5 respectivamente siendo el grupo con el mayor largo de fruto (LF). La diversidad entre híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. en rasgos tanto cualitativos como cuantitativos se puede usar para mejorar los rasgos mediante la selección y la introgresión de genes.

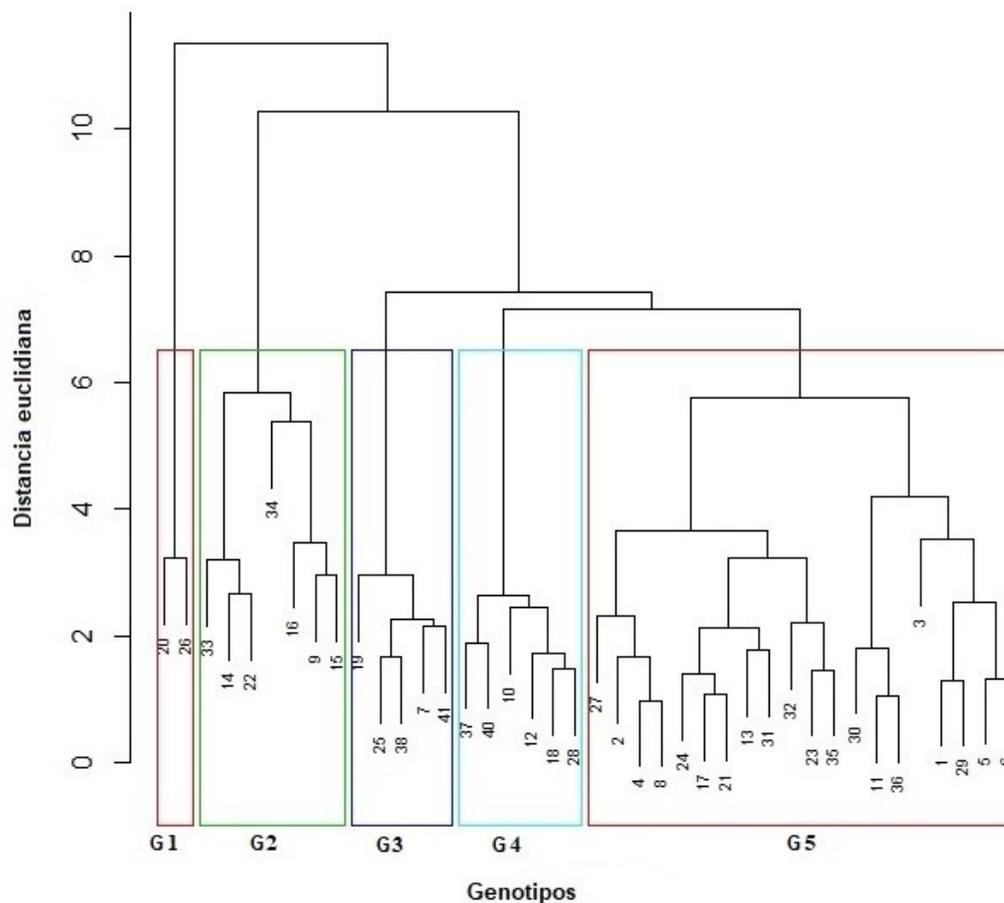


Figura 5. 6 Dendrograma del análisis de clasificación jerárquico de 29 híbridos F1 y 11 progenitores de *C. chinense* Jacq. obtenido en base al análisis de componentes principales (ACP). Grupos: G1, G2, G3, G4, G5. Números del 1 – 41 (híbridos F1 y progenitores).

Cuadro 5. 8 Medias de los descriptores cuantitativos para cada uno de los cinco grupos (1-5) formados por el análisis de clasificación jerárquico.

Descriptores	LT (cm)	DT (cm)	LF (cm)	EPF (cm)	LPH (cm)	NSF	RP (g·planta ⁻¹)	CC (mg·g ⁻¹ PS)
GRUPO 1	43.00	1.80*	4.35	0.26	2.87	40.85	33785.00*	38.99
GRUPO 2	52.83*	1.30	4.65	0.19	3.16*	39.10	1963.97	83.01*
GRUPO 3	45.30	1.25	3.85	0.27*	2.99	49.80*	2763.32	32.37
GRUPO 4	41.23	1.36	4.67	0.21	3.22	44.02	2344.70	38.06
GRUPO 5	47.79	1.18	4.77*	0.23	2.88	44.54	2594.50	36.06

*Valor más alto entre grupos. LT: Longitud del tallo, DT: Diámetro del tallo, LPH: Longitud del pedicelo de la hoja, LF: Longitud del fruto, EPF: Espesor de pericarpio fruto, LPH: Longitud del pedicelo del fruto, NSF: Número de semillas por fruto, RP: Rendimiento, CC: Contenido de capsaicina.

5.4 DISCUSIÓN

Un 7.5 % de los híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. no presentaron coloración antocianina del nudo (CAN), situación contraria se reporta en el trabajo realizado por Bozokalfa *et al.*, 2009 en el cual determinaron para todos los genotipos de *Capsicum annuum* L. evaluados, la ausencia de antocianina en los entrenudos, excepto en el genotipo TR 69723. En nuestro estudio el 45 % presentó una forma de fruto (FF) triangular, el 60 % presentó una ondulación transversal media del fruto (OTF). El 100 % de los frutos presentó un margen de la lámina foliar (MLF) ciliado. El 67.5 % de los frutos presentó una textura de la superficie lisa (TF). Fonseca *et al.* (2009) en su estudio de caracterización morfológica y diversidad genética de accesiones *C. chinense* Jacq. en el amazonas, como resultado de la evaluación de las accesiones para los rasgos fruto, se observó el predominio de ciertas clases o valores, como el color rojo oscuro del fruto maduro (42 %), frutos triangulares (42.1 %) y superficie del fruto arrugado (42.1 %).

El ACM explicó el 38.2 % de la variabilidad total. La primera dimensión abarcó las variables; Color de Antocianinas en el Nudo (CAN), Margen del Cáliz del Fruto (MCF), Posición de la Hoja (PH), Forma del Fruto (FF), Ondulación Transversal del Fruto (OTF), Intensidad del Verde de la Hoja (IVH) con una contribución de 22.1 %. La segunda dimensión por: Margen de la Lámina Foliar (MLF), Forma del Ápice del Tallo (FAF), Textura del Fruto (TF) con una contribución del 16.1 %. Castellón *et al.* (2003) en su estudio de variación fenotípica de morfotipos de Chile (*C. annuum* L.) nativo de Oaxaca, México, resultó que el ACM para las variables cualitativas; las dos primeras dimensiones explicaron el 88.5 % de la variabilidad total; la dimensión (63.6 %) que estuvo determinada por la forma del fruto, pubescencia de tallo y hojas, la dimensión 2 (24.9 %) determinada por la variable amacollamiento o brotes basales. Porcentajes más elevados que en el presente estudio. Silva *et al.* (2013) en su estudio de identificación de descriptores mínimos para caracterización de germoplasma de *Capsicum* spp. Indican que los primeros tres ejes en el ACM mostró el 50 % de los descriptores con las mayores contribuciones explicaron el 90 % de la variabilidad total asociada a cada eje; esto solo es posible debido a la considerable cantidad de redundancia o asociación entre las variables. Por este aspecto es importante reducir el número de descriptores empleados para la caracterización del género *Capsicum*.

De los 18 descriptores cuantitativos evaluados, solamente el descriptor grosor de pericarpio del fruto (GPF) no mostró diferencias significativas para un nivel de $p < 0.05$ por lo cual no se incluyó en el ACP. Un resultado similar fue reportado por Castellón *et al.* (2003) en su estudio de variación fenotípica de morfotipos de chile (*C. annuum* L.) nativo de Oaxaca, México, en el cual obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$ y $p \leq 0.01$) entre y dentro de los morfotipos evaluados en todas las variables, excepto dentro de colectas para el número de frutos por planta. En nuestro estudio, con base en los datos de las media de los descriptores cuantitativos, se indicó genotipos con potencial para su uso en diversos sectores de producción, por ejemplo, en la elaboración de salsas, alimentos enlatados y crudos, así como su incursión en programas de mejoramiento de *Capsicum*.

El progenitor No. 34 (P5) presentó la mayor altura de planta (AP) con 155.3 cm. El mayor diámetro de tallo (DT), longitud del limbo de la hoja (LLH), ancho del limbo de la hoja (ALH) y rendimiento por planta (RP) lo presentó el híbrido F1 No. 20 (P12 x P5) con 1.9 cm, 15 cm, 8 cm y 9952.50 g·plant⁻¹, respectivamente. El mayor contenido de capsaicina (CC) lo presentó el progenitor No. 34 (P5) con 147.11 mg·g⁻¹ PS.

Cruz *et al.* (2016) en su estudio de parámetros genéticos, adaptabilidad y estabilidad a la selección de híbridos de maracuyá, entre sus resultados destacaron cinco híbridos para los rasgos longitud y el diámetro de fruto, y en otros dos híbridos para los rasgos de grosor de la cáscara y masa de cáscara. En nuestro estudio el peso de fruto (PF) varió significativamente entre los híbridos F1 y progenitores; el mayor valor en peso de fruto (PF) y ancho de fruto (AF) fue para el progenitor No. 38 (P9) con 4.32 y 16.82 cm respectivamente, comportándose de esta manera como frutos de primera calidad dentro del mercado nacional. El progenitor No. 30 (P1) presentó el mayor número de semillas por fruto (NSF) con 53.7. Bento *et al.* (2016) en su estudio de determinación de la herencia de rasgos agronómicos en *Capsicum baccatum*, entre los resultados para el rasgo número de frutos por planta se observó que las plantas de la generación F1 presentaron los datos medios más altos que los de sus padres.

El ancho de fruto (AF) se correlacionó pero negativamente con largo de fruto (LF). Por otra parte, el descriptor ancho de fruto (AF) presentó una correlación positiva con el peso del fruto (PF) con 0.642. Un resultado similar fue reportado por Bharath *et al.* (2013) en su

estudio de variación del rasgo de la fruta en una colección de germoplasma del Caribe de pimientos picantes aromáticos (*C. chinense* Jacq.), el mayor coeficiente de correlación se encontró entre el ancho y el peso del fruto ($r = 0.80$; $p < 0.05$). Moreira *et al.* (2018) en *C. chinense* se observó una correlación positiva de espesor del pericarpio con peso del fruto y materia seca del fruto (0.75 y 0.71, respectivamente). En nuestro estudio el descriptor espesor de pericarpio del fruto (EPF) presentó una asociación de 0.58 con ancho de fruto (AF). El rendimiento por planta (RP) indicó una asociación con diámetro de tallo (DT) y longitud del limbo de la hoja (LLH), lo que denota una influencia directa del porte de la planta con el rendimiento, por último, el contenido de capsaicina se correlacionó positiva y significativamente con altura de planta (AP) con 0.557 y negativamente con espesor de pericarpio de fruto (EPF) con -0.620. Butcher *et al.* 2013 en su trabajo identificaron una asociación entre capsaicina y espesor de pericarpio de -0.083 valor menor que en el presente estudio.

En el PCA los primeros seis ejes representaron el 85.1 % de la variabilidad. Bozokalfa *et al.* (2009) realizaron un análisis de PCA para examinar la variación de genotipos de *C. annuum* L. resultando que los primeros seis ejes representaron el 54.29 % de la variabilidad entre las 48 accesiones y líneas evaluadas, menor variación que el revelado en el presente estudio. El primer componente estuvo relacionado principalmente con el contenido de capsaicina (CC) y espesor del pericarpio del fruto (EPF). El segundo componente con diámetro de tallo (DT) y rendimiento por planta (RP), el tercer componente con longitud del fruto (LF), el cuarto componente con número de semillas por fruto (NSF), el quinto componente con longitud de pedicelo de fruto (LPF) y el sexto componente con longitud del tallo (LT), Narez-Jiménez *et al.* (2014) en su estudio de la diversidad morfológica *in situ* de chiles silvestres (*Capsicum* spp.) de Tabasco, México, el resultado del ACP con 12 variables seleccionadas, indicó que los tres primeros CP explicaron 73.27 % de la variabilidad total; el CP1 explicó 43.61 % de la variación; las variables de mayor contribución fueron: ancho de fruto, forma de fruto, el CP2 explicó el 18.50 % de la variación, siendo las variables largo de hoja, ancho de hoja las de mayor proporción y el CP3 contribuyó con el 11.16 % de la variación y se relacionan de forma positiva con las variables número de semillas por fruto y diámetro de tallo.

Del dendograma se obtuvieron cinco grupos, principalmente con base en descriptores de planta y fruto. El grupo 1 conformado por dos híbridos F1, los cuales presentaron los valores medios más altos en rendimiento por planta (RP). En el grupo 2 se ubicaron cinco híbridos F1 y dos progenitores presentando los valores medios más altos en longitud de tallo (LT), longitud de pedicelo del fruto (LPF) y contenido de capsaicina (CC), en el grupo 3 se agruparon; tres híbridos F1 y dos progenitores con los valores medios más altos en espesor de pericarpio de fruto (EPF) y número de semillas de fruto (NSF), en el grupo 4 se agruparon cuatro híbridos F1 y dos progenitores, presentando el valor medio más bajo en largo de tallo, y el grupo 5 se conformó por el mayor número de híbridos F1 y progenitores: 15 y 5 respectivamente, siendo el grupo con el mayor largo de fruto (LF). La diversidad entre híbridos F1 y progenitores de *C. chinense* Jacq. en rasgos tanto cualitativos como cuantitativos se puede usar para mejorar los rasgos mediante la selección y la introgresión de genes. Resultados similares han sido reportados por Bonilla-Barrieltos *et al.* (2014) en su estudio sobre la diversidad agronómica y morfológica de tomates arriñonados y tipo pimiento de uso local en Puebla y Oaxaca, México, el análisis de conglomerados formó cuatro grupos; en el Grupo A se ubicaron las colectas de mayor altura, en el Grupo B incluyó a las colectas con frutos pequeños y precoces, en el Grupo C se encontraron las colectas sobresalientes en tamaño del fruto, en el Grupo D se ubicaron las colectas con frutos con mayor número de lóculos y en el Grupo E estuvo constituido únicamente por un híbrido, el cual sobresalió en la mayoría de las variables relacionadas con componentes de rendimiento y las variables del fruto. Orobiji *et al.* (2018) en su estudio de caracterización agro-morfológica variedades locales *C. annum* L. cultivadas en el norte de Benin, entre sus resultados indica que las variables cuantitativas permitieron la clasificación de 148 razas en nueve grupos, concluyendo que la caracterización agro-morfológica es ambigua, además de que los caracteres fenotípicos están influenciados por factores ambientales de tal manera que el mismo genotipo puede presentar diferentes caracteres fenotípicos dependiendo de su entorno.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

6.1 CONCLUSIONES

Los estudios que se realizaron en este proyecto de tesis, constituyen la base metodológica del mejoramiento genético de chile habanero a través de hibridación para la obtención de híbridos F1 y/o variedades mejoradas, según sea el propósito del trabajo.

En particular, determinar los parámetros relacionados con la biología reproductiva de una especie, facilita y permite identificar los genotipos que deben ser utilizados como progenitores, incluso, cuál como progenitor masculino y cuál como progenitor femenino dentro de un programa de mejoramiento genético para la obtención de híbridos y/o variedades mejoradas.

En este estudio se determinó por primera vez en chile habanero que, previo a la antesis (botón floral), el estigma ya se encuentra receptivo mientras que las anteras se encuentran aún cerradas, esta diferencia entre los tiempos de la *receptividad del estigma* y la *apertura de las anteras*, asegura que no ocurre la autofecundación y que este es el momento adecuado para realizar la polinización artificial (manual), en un programa de cruzamientos.

Otra conclusión muy importante de este trabajo está relacionada con la viabilidad del polen. Se determinó que en los cruzamientos en chile habanero, lo más recomendable es usar polen fresco (el mismo día de su extracción). Esto fue determinante para obtener mayor número de semillas por fruto en las líneas F1, objetivo fundamental en la producción de semilla híbrida.

En este estudio además, se demostró que la mayoría de los genotipos de chile habanero presentan el estigma exserto, lo que permite inferir que es una especie eminentemente alógama aunque está clasificada como autógama, o como se describen por algunos autores, es alógama facultativa; con nuestros resultados confirmamos esta clasificación.

El color rojo del fruto y la textura rugosa de la superficie del fruto (pericarpio) resultaron caracteres dominantes, con independencia de la posición ocupada por los progenitores en la cruce (masculino o femenino).

RKI-01 resultó el progenitor masculino más eficiente para la obtención de líneas F1, cuando se cruzó con el resto de los genotipos evaluados, sobresaliendo el 11 (RKI-01 x RHN-03) y 7 (ASBC-09 x RKI-01) en rendimiento 3.42 y 3.38 kg·planta⁻¹ respectivamente.

Las cruces en las que se utilizó MBI-11 como progenitor femenino, generaron las líneas F1 más pungentes, superando el millón de SHU: 14 (MBI-11 x RNJ-04) con 1, 369,359.0 SHU (85.05 mg·g⁻¹ PS) y 15 (NKA-07 x RKI-01) con 1, 183,914 SHU (73.54 mg·g⁻¹ PS).

Las líneas F1 de mayor rendimiento fueron la 20 (MSB-12 x RES-05) y la 26 (MSB-12 x NBA-06), con 9.95 y 6.94 kg·planta⁻¹ respectivamente, ambos obtenidos por los cruzamientos libres.

La línea F1 20 (MSB-12 x RES-05) resultó la de mayor porcentaje de heterosis (504.14 %) para rendimiento. En conclusión 83 % de los genotipos evaluados (RKI-01, RHN-03, RNJ-04, RES-05, NBA-06, NKA-07, AKN-08, ASBC-09, MBI-11, MSB-12) como progenitores, resultaron aptos para integrar un programa de cruzamientos para la obtención de Híbridos de chile habanero.

6.2 PERSPECTIVAS

A partir de los resultados presentados en este trabajo de tesis doctoral, las perspectivas de transferencia se orientan en dos direcciones:

En primer plano, evaluar las 10 mejores líneas F1, en diferentes ambientes con la finalidad de incorporar al mercado un híbrido F1 con características sobresalientes, y adaptable a diferentes regiones o a diferentes condiciones.

En un segundo plano, estandarizar y validar esta tecnología en condiciones de producción para su posterior transferencia a alguna empresa que esté interesada en producir semilla híbrida F1 de chile habanero.

BIBLIOGRAFÍA

- Abdelgadir, H. A., Johnson, S. D., & Van Staden, J. (2012). Pollen viability, pollen germination and pollen tube growth in the biofuel seed crop *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). *South African Journal of Botany*, 79, 132-139.
- Acquaah, G. (2009). Principles of plant genetics and breeding. John Wiley and Sons. Second edition. p. 75-77.
- Aleemullah, M., Haigh, A. M., & Holford, P. (2000). Anthesis, anther dehiscence, pistil receptivity and fruit development in the Longum group of *Capsicum annuum*. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 40(5), 755-762.
- Ángel-Coca, C., Nates-Parra, G., Ospina-Torres, R., Melo Ortiz, C. D., & Amaya-Márquez, M. (2011). Floral and reproductive biology of the "gulupa" *Passiflora edulis* Sims f. *edulis*. *Caldasia*, 33(2), 433-451.
- Baba, V. Y., Rocha, K. R., Gomes, G. P., de Fátima Ruas, C., Ruas, P. M., Rodrigues, R., and Gonçalves, L. S. A. (2016). Genetic diversity of *Capsicum chinense* accessions based on fruit morphological characterization and AFLP markers. *Genetic resources and crop evolution*, 63(8), 1371-1381. DOI 10.1007/s10722-015-0325-4
- Bento, C. S., Rodrigues, R., Sudré, C. P., Medeiros, A. M., Mathias, V. A., & Gonçalves, L. S. (2016). Determining the inheritance of agronomic traits in chili pepper. *Horticultura Brasileira*, 34(3), 367-373.
- Berke, T. G. (2000). Hybrid seed production in *Capsicum*. *Journal of New Seeds*, 1(3-4), 49-67. DOI: 10.1300/J153v01n03_02.
- Bharath, S. M., Cilas, C., & Umaharan, P. (2013). Fruit trait variation in a caribbean germplasm collection of aromatic hot peppers (*Capsicum chinense* Jacq.). *Hortscience*, 48(5), 531-538.
- Bhatia, R., Dey, S. S., and Kumar, R. (2017). Genetic divergence studies in tulip (*Tulipa gesneriana* L.). *The Horticultural Society of India (Regd.)*, 74(4), 562-567.
- Bonilla-Barrientos, O., Lobato-Ortiz, R., García-Zavala, J. J., Cruz-Izquierdo, S., Reyes-López, D., Hernández-Leal, E., & Hernández-Bautista, A. (2014). Diversidad agronómica y morfológica de tomates arriñonados y tipo pimiento de uso local en Puebla y Oaxaca, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(2), 129-139.
- Borges-Gómez, L., Cervantes Cárdenas, L., Ruiz Novelo, J., Soria Fregoso, M., Reyes Oregel, V., & Villanueva Couoh, E. (2010). Capsaicinoides en chile habanero

- (*Capsicum chinense* Jacq.) bajo diferentes condiciones de humedad y nutrición. *Terra Latinoamericana*, 28(1), 35-41.
- Bozokalfa, M. K., Esiyok, D., & Turhan, K. (2009). Patterns of phenotypic variation in a germplasm collection of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Turkey. *Spanish Journal of Agricultural Research*, (1), 83-95.
- Branca, F., Chiarenza, G. L., Cavallaro, C., Gu, H., Zhao, Z., & Tribulato, A. (2018). Diversity of Sicilian broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) and cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) landraces and their distinctive bio-morphological, antioxidant, and genetic traits. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65(2), 485-502.
- Butcher, J. D., Crosby, K. M., Yoo, K. S., Patil, B., Jifon, J. L., & Rooney, W. L. (2013). Heterosis in different F1 *Capsicum annuum* genotypes for fruit traits, ascorbic acid, capsaicin, and flavonoids. *Scientia Horticulturae*, 159, 72-79.
- Caraballo, B. (2001). Biología floral del guayabo (*Psidium guajava* L.) en la Planicie de Maracaibo, Zulia, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*, 18(1).
- Castañón-Nájera, G., Latourerie-Moreno, L., Mendoza-Elos, M., Vargas-López, A., and Cárdenas-Morales, H. (2008). Colección y caracterización de Chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Phyton* 77, 189-202. Available at: www.revistaphyton.fundromuloraggio.org.ar
- Castellón Martínez, E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chavez-Servia, J. L., & Vera-Guzmán, A. M. (2014). Variación fenotípica de morfotipos de chile (*Capsicum annuum* L.) nativo de Oaxaca, México. *Phyton (Buenos Aires)*, 83(2), 225-236.
- Cervantes-Ortiz, F., Hernández-Esparza, J., Rangel-Lucio, J. A., Enrique Andrio-Enríquez, M. E., Rodríguez-Pérez, G., & Guevara-Acevedo, L. P. (2016). Aptitud combinatoria general y específica en la calidad de semilla de líneas S3 de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(3), 259-268.
- Choudhary, B. S., and Samadia, D. K. 2004. Variability and character association in chilli landraces and genotypes under arid environment. *Indian Journal of Horticulture*, 61(2), 132-136.
- Collins, M. D., Wasmund, L. M., and Bosland, P. W. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high-performance liquid chromatography. *HortScience* 30(1), 137-139. DOI: <http://dx.doi.org/10.3329/sja.v11i1.18387>

- Costa, L. V., Lopes, R., Lopes, M. T. G., de Figueiredo, A. F., Barros, W. S., & Alves, S. R. M. (2009). Cross compatibility of domesticated hot pepper and cultivated sweet pepper. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 9(1), 37-44.
- Crispim, J. G., Rêgo, E. R., Rêgo, M. M., Nascimento, N. F. F., & Barroso, P. A. (2017). Stigma receptivity and anther dehiscence in ornamental pepper. *Horticultura Brasileira*, 35(4), 609-612.
- Cruz Neto, A. J. D., Rosa, R. C. C., Oliveira, E. J. D., Sampaio, S. R., Santos, I. S. D., Souza, P. U., & Jesus, O. N. D. (2016). Genetic parameters, adaptability and stability to selection of yellow passion fruit hybrids. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16(4), 321-329.
- Dhall, R. D., Hundal, J. S., & Saxena, A. (2011). Floral biology studies in Chilli (*Capsicum annum* L.). *Vegetable Science*, 38(2), 221-224.
- Di Dato, F., Parisi, M., Cardi, T., & Tripodi, P. (2015). Genetic diversity and assessment of markers linked to resistance and pungency genes in *Capsicum* germplasm. *Euphytica*, 204(1), 103-119.
- Do Rêgo, E. R., Do Rêgo, M. M., Cruz, C. D., Finger, F. L., and Casali, V. W. D. 2011. Phenotypic diversity, correlation and importance of variables for fruit quality and yield traits in Brazilian peppers (*Capsicum baccatum*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58(6), 909-918.
- DOF. Diario Oficial de la Federación (2010). Declaratoria General de Protección de la Denominación de Origen Chile Habanero de la Península de Yucatán. Disponible en:http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5145315&fecha=04/06/2010 (Acceso 5 Julio 2017).
- DOF. Diario Oficial de la Federación (2012). Norma Oficial Mexicana NOM-189-SCFI-2012, Chile Habanero de la Península de Yucatán (*Capsicum chinense* Jacq.). Especificaciones y métodos de prueba. Available at: <http://www.dof.gob.mx> (Acceso 5 Julio 2017).
- Douglas, A. C., & Freyre, R. (2010). Floral development, stigma receptivity and pollen viability in eight *Nolana* (Solanaceae) species. *Euphytica*, 174(1), 105-117.
- Echenique, V., Rubinstein, C., & Mroginski, L. (2004). Biotecnología y mejoramiento vegetal II. Ediciones INTA (instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), Argentina.
- Eshbaugh WH. (2012). The taxonomy of the genus *Capsicum*. In: Russo VM, editor. Peppers, botany production and uses, CABI. p. 14-28

- Falconer D S (1996). Introducción a la Genética Cuantitativa. 4a ed. Ed. ACRIBIA. Zaragoza, España. 469 p.
- FAO. Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (2016). Disponible en: <http://www.fao.org/statistics/es/>
- Fellahi, Z. E. A., Hannachi, A., Bouzerzour, H., & Boutekrabt, A. (2013). Line \times tester mating design analysis for grain yield and yield related traits in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). International Journal of Agronomy.
- Figueiredo, A. S. T., Resende, J. T. V. D., Faria, M. V., Paula, J. T. D., Schwarz, K., & Zanin, D. S. (2015). Combining ability and heterosis of relevant fruit traits of tomato genotypes for industrial processing. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 15(3), 154-161.
- Fonseca, R. M., Lopes, R., Barros, W. S., Lopes, M. T. G., & Ferreira, F. M. (2008). Morphologic characterization and genetic diversity of *Capsicum chinense* Jacq. accessions along the upper Rio Negro-Amazonas. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 8(3).
- Gahungu, A., Ruganintwali, E., Karangwa, E., Zhang, X., & Mukunzi, D. (2011). Volatile compounds and capsaicinoid content of fresh hot peppers (*Capsicum chinense*) scotch bonnet variety at red stage. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(3), 211-218.
- Galmarini, C. R. (2000). El género *Capsicum* y las perspectivas del mejoramiento genético de pimiento en Argentina. *Avances en Horticultura*, 4(1), 31-39.
- García, C. C. (2011). Fruit characteristics, seed production and pollen tube growth in the wild chilli pepper *Capsicum flexuosum*. *Flora-Morphology, distribution, functional ecology of plants*, 206(4), 334-340.
- Gehrke-Vélez, M. R., Castillo-Vera, A., Ruiz Bello, C., & Moreno-Martínez, J. L. (2011). Viabilidad y germinación del polen en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataúlfo. *Interciencia*, 36(5).
- Geleta, L. F., & Labuschagne, M. T. (2004). Hybrid performance for yield and other characteristics in peppers (*Capsicum annum* L.). *The Journal of Agricultural Science*, 142(04), 411-419.
- Gomes, J. E., Pavani, M. D. C., Perecin, D., & Martins, A. B. G. (2001). Morfología floral e biología reproductiva de genotipos de Aceroleira. *Scientia Agricola*, 519-523.

- Griffing B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian journal of Biological Sciences* 9:463-493.
- Hernández Ríos, J. J., & Martínez Zambrano, G. A. (2014). Técnicas de cruzamiento y polinización en chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.). (No. SB351. P4. H472 2003.)
- Hundal, J. S., & Dhall, R. K. (2005). Breeding for hybrid hot pepper. *Journal of New Seeds*, 6(2-3), 31-50.
- IBM Corp. (2013). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0, Release 2013. Armonk, NY: IBM Corp.
- IPGRI, AVRDC and CATIE. (1995). Descriptors for *Capsicum* (*Capsicum* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy; the Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan, and the Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. 28-38p
- James, E. A., & Knox, R. B. (1993). Reproductive-biology of the Australian species of the genus *Pandorea* (Bignoniaceae). *Australian Journal of Botany*, 41(5), 611-626.
- Kahriman, F., Egesel, C. Ö., Orhun, G. E., Alaca, B., & Avci, F. (2016). Comparison of graphical analyse for maize genetic experiments: Application of biplots and polar plot to line x tester design. *Chilean journal of agricultural research*, 76(3), 285-293.
- Kemphorne, O. (1957). An introduction to genetic statistics. John Wiley & Sons, Inc.; New York.
- Khanduri, V. P., Sukumaran, A., & Sharma, C. M. (2017). Reproductive biology of *Cornus capitata* Wall. ex Roxb.: a native species in East Asia. *Journal of Forestry Research*, 1-12.
- Kivadasannavar, P., Deshpande, V. K., Vyakaranahal, B. S., Mohankumar, H. D., Biradar, D. P., & Nadaf, H. L. (2009). Studies on emasculation and pollination in hybrid seed production of chilli (*Capsicum annuum* L.). *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 22(2), 301-305.
- Larrinaga, A. R., Guitián, P., Garrido, J. L., & Guitián, J. (2009). Floral morphology and reproductive success in herkogamous *Narcissus cyclamineus* (Amaryllidaceae). *Plant systematics and evolution*, 278(3-4), 149-157.
- Latournerie-Moreno, L., Lopez-Vázquez, J. S., Castañón-Nájera, G., Mijangos-Cortes, J. O., Espadas-Villamil, G., Pérez-Gutiérrez, A., & Ruiz-Sánchez, E. (2015). Evaluación agronómica de germoplasma de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agroproductividad*, 8(1).

- Maramba, F., Dessalegne, L., Fininsa, C., & Sigvald, R. (2009). Heterosis and heritability in crosses among Asian and Ethiopian parents of hot pepper genotypes. *Euphytica*, 168(2), 235-247.
- Martínez-Martínez, R., Méndez-Infante, I., Castañeda-Aldaz, H. M., Vera-Guzmán, A. M., Chávez-Servia, J. L., & Carrillo-Rodríguez, J. C. (2014). Heterosis interpoblacional en agromorfología y capsaicinoides de chiles nativos de Oaxaca. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37(3), 199-207.
- Martins, K. C., Pereira, T. N. S., Souza, S. A. M., Rodrigues, R., & Amaral Junior, A. T. D. (2015). Crossability and evaluation of incompatibility barriers in crosses between *Capsicum* species. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 15(3), 139-145.
- May, P., Anastácio, M., Castañón Nájera, G., Tun Suárez, J. M., Mendoza Elos, M., Mijangos Cortés, J. O., & Latournerie Moreno, L. (2010). Efectos heteróticos y aptitud combinatoria en poblaciones de chile dulce (*Capsicum annuum* L.). *Revista fitotecnia mexicana*, 33(4), 353-360.
- Mercado, J. A., Fernández-Muñoz, R., & Quesada, M. A. (1994). In vitro germination of pepper pollen in liquid medium. *Scientia Horticulturae*, 57(4), 273-281.
- Mir, B. A., Koul, S., & Soodan, A. S. (2013). Reproductive biology of *Withania ashwagandha* sp. novo (Solanaceae). *Industrial crops and products*, 45, 442-446.
- Mishra, R., Gupta, A. K., Lal, R. K., Jhang, T. and Banerjee, N. (2015). Genetic variability, analysis of genetic parameters, character associations and contribution for agronomical traits in turmeric (*Curcuma longa* L.). *Industrial Crops and Products*, 76, 204-208. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.06.049>
- Moreira, A. F. P., Ruas, P. M., de Fátima Ruas, C., Baba, V. Y., Giordani, W., Arruda, I. M., & Gonçalves, L. S. A. (2018). Genetic diversity, population structure and genetic parameters of fruit traits in *Capsicum chinense*. *Scientia Horticulturae*, 236, 1-9.
- Narez-Jiménez, C. A., de-la-Cruz-Lázaro, E., Gómez-Vázquez, A., Castañón-Nájera, G., Cruz-Hernández, A., & Márquez-Quiroz, C. (2014). La diversidad morfológica in situ de chiles silvestres (*Capsicum* spp.) de Tabasco, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 37(3), 209-215.
- Ofosu-Anim, J., Offei, S. K., & Yamaki, S. (2006). Pistil receptivity, pollen tube growth and gene expression during early fruit development in sweet pepper (*Capsicum annuum*). *Int J Agric Biol*, 8, 576-579.

- Omolo, M. A., Wong, Z. Z., Mergen, A. K., Hastings, J. C., Le, N. C., Reiland, H. A., & Baumler, D. J. (2014). Antimicrobial properties of Chili peppers. *Journal of Infectious Diseases and Therapy*, 2014.
- Onus, A. N. (2000). Structure of the Stigma and Style in *Capsicum eximium* and the Effects of Pollination. *Turkish Journal of Botany*, 24(6), 337-346.
- Opedal, Ø. H. (2018). Herkogamy, a Principal Functional Trait of Plant Reproductive Biology. *International Journal of Plant Sciences*, 179(9), 000-000.
- Orobiyi, A., Loko, L. Y., Sanoussi, F., Agré, A. P., Korie, N., Gbaguidi, A., & Dansi, A. (2018). Agro-morphological characterization of chili pepper landraces (*Capsicum annum* L.) cultivated in Northern Benin. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65(2), 555-569.
- Ortiz, R., de la Flor, F. D., Alvarado, G., & Crossa, J. (2010). Classifying vegetable genetic resources A case study with domesticated *Capsicum* spp. *Scientia Horticulturae*, 126(2), 186-191.
- Pan, C., Ye, L., Zheng, Y., Wang, Y., Yang, D., Liu, X., & Lu, G. (2017). Identification and expression profiling of microRNAs involved in the stigma exertion under high-temperature stress in tomato. *BMC genomics*, 18(1), 843.
- Pérez, M., Mora Aguilar, R., Sánchez del Castillo, F., & García-Pérez, V. (2011). Phenology and yield of bell pepper (*Capsicum annum* L.) hybrids grown hydroponically. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 17(Special Edition), 5-18.
- Pistorale, S. M., Abbott, L. A., and Andrés, A. (2008). Diversidad genética y heredabilidad en sentido amplio en agropiro alargado, *Thinopyrum ponticum*. *Ciencia e investigación agraria* 35(3), 259-264. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202008000300003>.
- Purkayastha, J., Alam, S. I., Gogoi, H. K., Singh, L., & Veer, V. (2012). Molecular characterization of 'Bhut Jolokia' the hottest chilli. *Journal of biosciences*, 37(4), 757-768.
- Rashid, M., Cheema, A. A., & Ashraf, M. (2007). Line x tester analysis in basmati rice. *Pakistan Journal of Botany*, 39(6), 2035-2042.
- Riggs T. J. (1988) Breeding F1 hybrid varieties of vegetables, *Journal of Horticultural Science*, 63:3, 369-382, DOI: 10.1080/14620316.1988.11515871.
- Rincón-Rabanales, M., Vargas-López, L. I., Adriano-Anaya, L., Vázquez-Ovando, A., Salvador-Figueroa, M., & Ovando-Medina, I. (2016). Reproductive biology of the biofuel plant *Jatropha curcas* in its center of origin. *PeerJ*, 4, e1819

- Rodrigues, R., Gonçalves, L. S., Bento, C. D. S., Sudré, C. P., Robaina, R. R., & do Amaral Júnior, A. T. (2012). Combining ability and heterosis for agronomic traits in chili pepper. *Horticultura Brasileira*, 30(2), 226-233.
- Rodríguez, Y., Depestre, T., and Gómez, O. (2008). Eficiencia de la selección en líneas de pimiento (*Capsicum annuum*), provenientes de cuatro sub-poblaciones, en caracteres de interés productivo. *Ciencia e investigación agraria* 35(1), 37-49. DOI: <http://dx.doi.org/10.7764/rcia.v35i1.370>
- Rohini, N., Lakshmanan, V., Saraladevi, D., Amalraj, J. J., & Govindaraju, P. (2017). Assessment of combining ability for yield and quality components in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Spanish journal of agricultural research*, 15(2), 16.
- Rohlf FJ. (2005). Numerical taxonomy and multivariate analysis system (NTSYS-pc) version 2.2. User guide. Exeter Software, New York, USA: 31.
- Ruiz-Lau, N., Lara, F. M., & Estévez, M. M. (2011). El chile Habanero: su origen y usos. *Revista ciencia*.
- Santana-Buzzy, N., Canto-Flick, A., Balam-Uc, E., and Gil, M. A. (2016). 'Mayan Kisin', a High-yielding, Red-fruited, Habanero-type Hot Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) Cultivar. *HortScience* 51(5), 604-605.
- Saoudi, W., Badri, M., Gandour, M., Smaoui, A., Abdelly, C., and Taamalli, W. (2017). Assessment of genetic variability among Tunisian populations of *Hordeum marinum* using morpho-agronomic traits. *Crop Science*, 57(1), 302-309.
- SAS Inst., Inc. (2003). SAS software release 9.1 for Windows. SAS Institute, Cary, NC 27513, USA.
- Shrestha, S. L., Luitel, B. P., & Kang, W. H. (2011). Heterosis and heterobeltiosis studies in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52(3), 278-283.
- SIAP. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera, 2018 (Online). Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/> (Acceso 10 enero 2019).
- Sieczko, L., Masny, A., Pruski, K., Żurawicz, E., & Mądry, W. (2015). Multivariate assessment of cultivars' biodiversity among the Polish strawberry core collection. *Horticultural Science*, 42(2), 83-93.
- Silva Cifuentes, E., Castillo González, F., Molina Galán, J. D., Benítez Riquelme, I., Santacruz Varela, A., and Castillo Torres, R. (2011). Selección de progenitores,

- varianzas genéticas y heredabilidad para acumulación temprana de sacarosa en caña de azúcar. *Revista fitotecnia mexicana*, 34(2), 107-114.
- Silva, W. C., de Carvalho, S. I. C., & Duarte, J. B. (2013). Identification of minimum descriptors for characterization of *Capsicum* spp. germplasm. *Horticultura Brasileira*, 31(2), 190-202.
- SMN. Servicio meteorológico nacional (2015). Disponible en smn.cna.gob.mx
- SNICS. Manual grafico para la descripción varietal de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq. (2015). Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS).
- Sudré, C. P., Gonçalves, L. S. A., Rodrigues, R., Amaral Júnior, A. D., Riva-Souza, E. M., & Bento, C. D. S. (2010). Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. *Genetics and molecular research*, 9(1), 283-294.
- Swamy NG, Srinivasulu B, Madhumathi C, Tirupal D (2015). Evaluation of Certain Varieties and Hybrids of *Capsicum* for Quality Attributes under Shade Net. *J Horticulture* 2: 124.
- Tembhurne, B. V., & Rao, S. K. (2012). Heterosis and combining ability in CMS based hybrid chilli (*Capsicum annum* L.). *Journal of Agricultural Science*, 4(10), 89.
- Thul, S. T., Lal, R. K., Shasany, A. K., Darokar, M. P., Gupta, A. K., Gupta, M. M., and Khanuja, S. P. S. (2009). Estimation of phenotypic divergence in a collection of *Capsicum* species for yield-related traits. *Euphytica*, 168(2), 189-196.
- Tripathi, A., Mishra, D. K., and Shukla, J. K. (2013). Genetic variability, heritability and genetic advance of growth and yield components of *Jatropha* (*Jatropha curcas* Linn.) genotypes. *Trees*, 27(4), 1049-1060. DOI 10.1007/s00468-013-0856-2.
- Tripathi, S., Sridhar, V., Jukanti, A. K., Suresh, K., Rao, B. V., Gowda, C. L. L., and Gaur, P. M. (2012). Genetic variability and interrelationships of phenological, physicochemical and cooking quality traits in chickpea. *Plant Genetic Resources*, 10(3), 194-201.
- USDA. Natural resources service, 2016 (Online). Plans profile. Disponible en: <http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=CAPSI>. (Acceso 29 abril 2016).
- Verdugo, S. H., España, R. G. L., Peña, P. S., Romero, M. V., Terraza, S. P., Porras, F., and Madrid, J. L. C. (2008). Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de chile del noroeste de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(4), 323-330.

- Zhang, J., Lin, M., Chen, H., Zhu, Q., & Chen, X. (2018). Floral biology and pistil receptivity of the drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.). *ARCHIVES OF BIOLOGICAL SCIENCES*, 70(2), 299-305.
- Jacq. (2015). Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS).

ANEXOS

ANEXO 1. Descriptores cualitativos evaluados en híbridos F1 y sus progenitores de *C. chinense* Jacq. cultivadas en invernadero.

No	HÍBRIDOS F1 CLAVE	NFA	PF	FLOR			EXE	PLANTA		HOJA				
				CC0	CA	CF		CAN	FT	IVH	FH	TH	PH	MLF
1	P2 x P1	3	5	2	3	2	7	3	1	7	5	3	2	3
2	P3 x P1	3	5	2	7	1	5	1	1	7	5	3	2	3
3	P4 x P1	3	5	4	7	1	5	3	1	7	5	3	1	3
4	P6 x P1	3	5	4	3	1	5	3	1	7	1	3	2	3
5	P7 x P1	4	5	4	3	1	5	3	2	7	1	3	2	3
6	P8 x P1	3	7	2	3	1	7	5	1	7	5	3	1	3
7	P9 x P1	3	5	4	3	1	7	5	1	7	5	3	1	3
8	P11 x P1	3	5	4	7	1	7	3	1	5	5	3	2	3
9	P1 x P5	3	5	4	3	1	5	7	2	5	5	3	1	3
10	P1 x P2	3	7	4	3	1	7	3	1	7	5	5	2	3
11	P1 x P3	4	5	4	7	2	7	3	1	7	1	3	2	3
12	P11 x P2	3	5	2	3	4	7	5	2	7	5	5	2	3
13	P11 x P3	3	7	4	3	1	7	5	2	3	5	5	2	3
14	P11 x P4	4	5	4	3	1	7	7	2	5	5	5	2	3
15	P11 x P5	3	5	4	3	1	7	7	2	5	5	5	1	3
16	P11 x P6	3	5	4	3	1	5	3	1	3	5	5	2	3
17	P11 x P7	3	7	4	3	1	7	5	1	5	5	3	2	3
18	P11 x P8	3	7	4	3	4	7	7	2	3	5	5	1	3
19	P11 x P9	3	7	4	3	1	7	5	1	5	5	5	1	3
20	P12 x P5	3	7	4	3	1	7	7	1	7	5	3	1	3
21	P3 x P2	3	7	4	3	1	7	3	1	7	5	5	2	3
22	P2 x P4	4	7	4	3	1	7	5	1	5	5	3	1	3
23	P2 x P3	3	7	4	3	1	7	3	1	7	1	3	2	3
24	P8 x P6	3	7	4	3	1	5	5	1	5	1	3	1	3
25	P9 x P6	3	7	4	3	1	7	5	1	5	5	3	1	3
26	P12 x P6	3	7	4	3	1	7	3	1	7	5	5	2	3
27	P7 x P6	3	5	2	3	1	7	3	1	7	5	5	1	3
28	P8 x P11	3	5	4	3	4	7	7	1	5	5	5	1	3
29	P8 x P7	3	7	4	5	1	7	5	1	5	5	3	2	3
PROGENITORES														
30	P1	4	7	4	3	1	5	3	1	7	5	3	2	3
31	P2	4	7	2	3	2	5	3	1	5	5	5	2	3
32	P3	3	5	4	3	1	7	1	1	7	1	3	2	3
33	P4	3	5	4	3	4	7	7	1	5	1	3	2	3
34	P5	3	5	4	7	1	7	7	2	5	5	5	1	3
35	P6	3	5	4	3	1	5	1	1	7	5	3	2	3
36	P7	3	5	4	3	1	7	3	1	7	1	3	2	3
37	P8	4	7	3	3	1	7	5	1	5	5	3	1	3
38	P9	3	5	4	3	2	7	5	1	5	5	5	1	3
40	P11	3	7	4	3	2	7	7	1	5	5	3	1	3
41	P12	3	5	4	3	1	7	5	1	7	5	3	1	3

NFA: Número de flores por axila, PF: Posición de la flor, CC0: Color de la corola, CA: Color de las anteras, CF: Color del filamento, EXE: Exersion del estigma, CAN: Color de antocianinas en el nudo, FT: Forma del tallo, IVH: Intensidad de verde de la hoja, FH: Forma de la hoja, TH: Textura de la hoja, PH: Posición de la hoja, MLF: Margen de la lámina foliar. Consultar código de clasificación según los descriptores en el cuadro 5.2.

ANEXO 1. Continuación.

HÍBRIDOS F1		FRUTO								
No	CLAVE	CFI	CFM	FF	TF	FAF	MCF	OTF	DPF	NLF
1	P2 x P1	3	5	4	1	5	1	3	5	4
2	P3 x P1	5	5	1	1	1	1	3	5	3
3	P4 x P1	5	5	1	2	1	1	7	5	3
4	P6 x P1	5	5	1	1	1	1	5	5	3
5	P7 x P1	5	5	1	1	1	1	5	5	3
6	P8 x P1	5	5	4	1	5	1	5	5	4
7	P9 x P1	5	5	2	2	5	1	5	5	3
8	P11 x P1	5	5	4	1	3	1	5	5	3
9	P1 x P5	5	5	1	2	3	1	5	5	3
10	P1 x P2	3	5	4	1	3	1	5	5	3
11	P1 x P3	5	5	1	1	1	1	3	5	3
12	P11 x P2	7	5	4	1	5	1	7	5	3
13	P11 x P3	7	5	1	1	3	1	5	5	3
14	P11 x P4	7	5	1	2	1	1	5	5	3
15	P11 x P5	7	5	4	3	5	1	5	5	3
16	P11 x P6	7	5	4	1	3	1	5	5	3
17	P11 x P7	7	5	4	1	3	1	3	5	3
18	P11 x P8	7	5	3	1	5	2	7	3	3
19	P11 x P9	7	5	3	2	5	1	5	5	3
20	P12 x P5	7	5	3	2	5	2	7	3	2
21	P3 x P2	7	5	1	1	1	1	5	3	3
22	P2 x P4	5	5	1	2	1	2	7	5	3
23	P2 x P3	5	5	3	1	3	1	5	5	3
24	P8 x P6	5	5	1	1	1	1	5	3	3
25	P9 x P6	5	5	2	1	1	1	3	5	3
26	P12 x P6	7	5	2	2	3	1	3	5	3
27	P7 x P6	7	4	1	1	1	1	5	5	3
28	P8 x P11	7	5	4	1	5	2	7	3	3
29	P8 x P7	5	5	3	1	5	1	7	5	4
PROGENITORES										
30	P1	3	5	1	1	1	1	5	5	3
31	P2	3	5	4	1	5	1	5	5	4
32	P3	7	5	1	1	1	1	5	5	3
33	P4	5	5	1	3	1	2	5	5	3
34	P5	5	5	3	3	1	2	5	3	4
35	P6	7	4	1	1	1	1	5	3	4
36	P7	7	4	1	1	1	1	3	5	3
37	P8	5	2	3	1	3	2	7	5	3
38	P9	5	2	1	2	5	1	3	5	3
40	P11	7	6	4	1	5	1	5	7	3
41	P12	7	6	2	2	5	2	5	5	3

CFI: Color del fruto inmaduro, CFM: Color del fruto maduro, FF: Forma del fruto, TEF: Tipo de epidermis del fruto, FAF: Forma del ápice del fruto, MCF: Margen del cáliz del fruto, OTF: Ondulación transversal fruto, DPF: Densidad de la placenta fruto, NLF: Número de lóculos fruto. Consultar código de clasificación según los descriptores en el cuadro 5.2.

ANEXO 2. Matriz de correlación Pearson para 18 descriptores cuantitativos de 29 híbridos F1 y once progenitores de *C. chinense* Jacq. cultivadas en invernadero.

	G	AP	LT	DT	LLH	ALH	LPH	DFL	DFR	LF	AF	PF	EPF	LPF	GPF	NSF	RP	CC
G	1																	
AP	.069	1																
LT	.225	.398 [*]	1															
DT	-.150	.496 ^{**}	-.277	1														
LLH	.051	.200	-.012	.498 ^{**}	1													
ALH	-.110	.176	.067	.253	.783 ^{**}	1												
LPH	.123	.412 ^{**}	.027	.300	.495 ^{**}	.426 ^{**}	1											
DFL	.084	.316 [*]	-.117	.523 ^{**}	.373 [*]	.169	.124	1										
DFR	-.110	-.028	-.236	-.089	-.024	.057	.188	.023	1									
LF	-.004	-.206	.087	-.233	.050	.286	-.116	-.315 [*]	-.183	1								
AF	-.042	-.097	-.327 [*]	.196	.020	-.188	-.133	.387 [*]	-.042	-.529 ^{**}	1							
PF	-.170	-.287	-.435 ^{**}	.134	.024	.038	-.260	.069	-.110	-.035	.642 ^{**}	1						
EPF	-.254	-.268	-.219	.003	-.019	-.067	-.248	.248	.139	-.390 [*]	.580 ^{**}	.490 ^{**}	1					
LPF	.049	.224	.024	.231	.146	.114	.145	.102	-.152	-.003	.026	-.012	-.210	1				
GPF	.160	.021	-.315 [*]	.261	.301	.035	.220	.211	.187	-.508 ^{**}	.461 ^{**}	.325 [*]	.304	.012	1			
NSF	.074	-.278	-.084	-.138	-.124	-.057	.028	.036	-.072	-.274	.476 ^{**}	.482 ^{**}	.381 [*]	-.012	.299	1		
RP	-.305	.237	-.180	.722 ^{**}	.504 ^{**}	.445 ^{**}	.180	.364 [*]	-.036	-.036	.130	.197	.281	-.142	.148	-.116	1	
CC	.236	.557 ^{**}	.389 [*]	.156	.179	.090	.333 [*]	.014	-.079	.084	-.376 [*]	-.492 ^{**}	-.620 ^{**}	.102	.013	-.250	-.066	1

G: Germinación, AP: Altura de la planta, LT: Longitud del tallo, DT: Diámetro del tallo, LLH: Longitud limbo hoja, ALH: Ancho del limbo hoja, LPH: Longitud del pedicelo de la hoja, DFL: Días a la floración, DFR: Días a la fructificación, LF: Longitud del fruto, AF: Ancho del fruto, PF: Peso del fruto, EPF: Espesor de pericarpio fruto, LPF: Longitud del pedicelo del fruto, GPF: Grosor del pedicelo del fruto, NSF: Número de semillas por fruto, RP: Rendimiento, CC: Contenido de capsicina.

ANEXO 3. Este Anexo es un artículo que ha sido aceptado (12 de Noviembre de 2019) para su publicación en la revista *Agriculture* (MDPI).

Floral Biology Studies in *Habanero pepper* (*Capsicum chinense* Jacq.) to Implement in a Cross-Breeding Program

Laura P. Peña-Yam, Liliana S. Muñoz-Ramírez, Susana A. Avilés-Viñas, Adriana Canto-Flick, Adolfo Guzmán-Antonio and Nancy Santana-Buzzy *

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), Calle 43 No. 130, Chuburná de Hidalgo, Mérida CP 97205, Yucatán, México; laura.pena@cicy.mx (L.P.P.-Y.); liliana.munoz@cicy.mx (L.S.M.-R.); susana@cicy.mx (S.A.A.-V.); nona@cicy.mx (A.C.-F.); agaa@cicy.mx (A.G.-A.)

* Correspondence: buzzy@cicy.mx

Received: 7 October 2019; Accepted: 12 November 2019; Published: date

Abstract: Knowledge of the reproductive biology of a species is fundamental in order to develop an efficient program of genetic improvement by hybridization. The viability of the pollen, anther dehiscence, receptivity of the stigma and the anthesis of 12 improved lines of Habanero pepper were studied to develop a cross-breeding program. Among the results, the greatest number of flowers in anthesis was quantified at 8:00 a.m. for most genotypes. The dehiscence of the anther differed significantly in stages evaluated, observing in flower buds 100% of the closed anthers. The receptivity was positive in all the stages evaluated (before, during and after anthesis) and in all the genotypes, the most outstanding being the genotype AKN-08, which presented 100% of receptivity in the three stages evaluated. The viability of the pollen varied among the different conservation times evaluated (0, 24 and 48 h) while the highest percentage of viability (80%) and the largest number of seeds per fruit (56) were obtained when recently collected pollen was used (0 time). These results will have an important repercussion on the improvement of the Habanero pepper by increasing the efficiency of the programs to obtain hybrids and/or improved varieties.

Keywords: anthesis; anthers dehiscence; receptivity stigma; viability pollen; *Habanero pepper*

1. Introduction

Hybridization is a strategy of genetic improvement, which allows the transfer of genes of interest among species (interspecific) or within the same species (intraspecific) in order to develop genetically superior genotypes. The knowledge of reproductive biology is based on the floral structure of a species and it is this which determines the nature of its reproductive process. The most important advances obtained in the genetic improvement of plants are associated with the knowledge of their reproductive system, through studies relating to the anthesis, the viability of the pollen and the receptivity of the stigma, among others [1–4]. A number of studies have been carried out on the floral

biology, which include the morphological and reproductive characteristics of genotypes of Acerola (*Malpighia emarginata*) revised by Gomes et al. [3]. In *Withania ashwagandha* sp., *Jatropha curcas*, and *Moringa oleifera* Lam reproductive biology studies have been conducted [4–6]. The viability of the pollen and cross-compatibility among various species of *Capsicum* has been examined [7]. In the case of *Capsicum eximium*, the interaction between the pollen and the pistil has been studied by Onus [8] and ornamental peppers were studied by Crispin et al. [9]. To our knowledge, reproductive biology studies of *Capsicum chinense* Jacq. (*Habanero pepper*) are limited. Mercado et al. [10] commented that, in the case of chili, very little effort has been made to evaluate aspects of reproductive biology, even though these are useful in studies of pollen germination, pollen storage, and breeding programs.

Habanero pepper (*C. chinense*) is a self-pollinated plant, hermaphrodite, with perfect, complete flowers, whose floral structure facilitates the emasculation and the pollination, in plant breeding programs of this species. *Habanero pepper* is a traditional crop in Mexico, which is cultivated as a culinary product for exportation due to its taste and typical aroma, characterized by its high content of oleoresin and strong pungency, characteristics which have generated a significant demand in the national and international markets. Given the importance of the *Habanero pepper*, a better knowledge of its floral biology would facilitate obtaining a greater fruit set, in both commercial cultivation and programs of genetic improvement by hybridization. The production of hybrid seed is expensive, very laborious and requires intense technical supervision, in some crops, the control of the pollination mechanisms can help to make the commercial production of hybrid seed more economical [11,12]. Given the importance of the hybridization as an improvement strategy and the lack of information regarding the floral biology of *C. chinense*, this research aimed to study the reproductive biology of twelve genotypes of *C. chinense*, specifically, the optimal moment to collect the pollen, appraise its viability and define the state of development of the flower bud in which the anthers are closed and stigma is receptive. The outcome of the study will help fill the knowledge gap regarding the reproductive biology of *C. chinense* and will be useful for the plant breeder.

2. Materials and Methods

The investigation was conducted in a greenhouse, at 20–35 °C, 55–75% of relative humidity and cycles of natural light (approximately, 11 h of light, 13 h of darkness), located in the installations of the Center of Scientific Investigation of Yucatan, Merida, Yucatan, at 20°58'2.53" Latitude North and 89°35'33.30" Longitude West and at an altitude of 10 m above sea level [13].

Twelve genotypes of *Habanero pepper* were evaluated, of which five genotypes had red fruit, two genotypes with orange-colored fruit, three genotypes with yellow fruit and two genotypes with purple fruit (Table 1). The experiments were conducted from August 2017 to May 2018, all the genotypes were studied at the same time. The seeds of each genotype were disinfected with commercial sodium hypochlorite (4%) for 10 min, after which they were planted in polystyrene trays with 200 receptacles. A mixed commercial substrate was used (Cosmopeat® Cosmocol S.A., San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México). The trays were kept covered with black plastic to maintain the temperature and humidity until germination. During the development of the plantlets, the commercial fertilizer Hakaphos® was applied once a week 13-40-13 (1 g L⁻¹) (Compo Agro México S.A. de C.V., Jalisco, México) until they were transplanted to black bags [40 × 22 × 40 cm (0.035 cm³)], containing a mixture of red soil and Cosmopeat® in a proportion of 3:1 m/m. During the growth of the plants, the application of the Triple 18 fertilizer was carried out (1 g L⁻¹) (Royal Garden's®, Guadalajara, México).

Table 1. Genotypes studied of *Habanero pepper*.

Genotype	Color Ripe Fruit
RKI-01	Red
RHC-02	Red
RHN-03	Red
RNJ-04	Red
RES-05	Red
NBA-06	Orange
NKA-07	Orange
AKN-08	Yellow
ASBC-09	Yellow
ASBG-10	Yellow
MB1-11	Purple
MSB-12	Purple

2.1. Anthesis

In each plant in the second bloom, the flowers in anthesis were counted (when the flower is open and the petals are separated from each other) (Figure 1). Once they were registered, they were subsequently eliminated from the plant in order to avoid re-counting. The counting was carried out daily in three timetables each day: 8:00 a.m., 12:00 p.m., and 4:00 p.m., over a period of 10 days. The anthesis was evaluated conducted with the aim of determining the moment of the day in which the largest number of flowers open is counted to carry out the collection of flowers and thus be able to extract the greatest amount of pollen, which is required during the crossing stage.

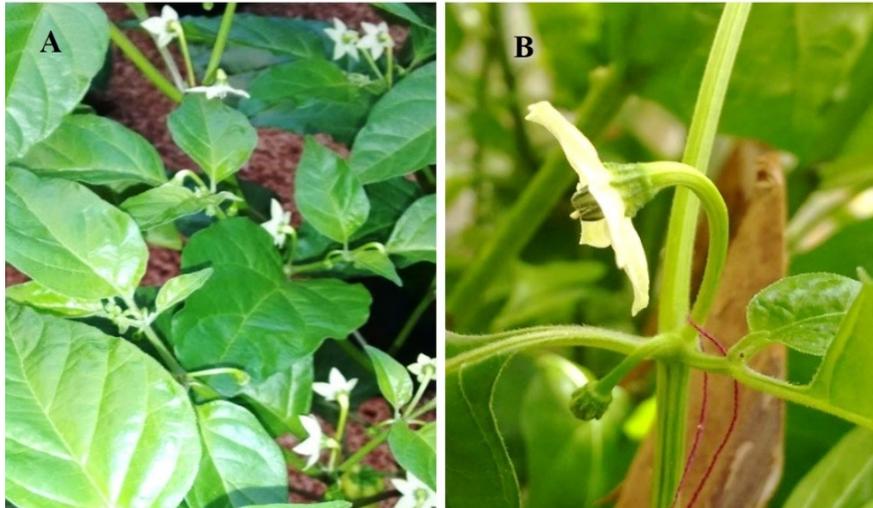


Figure 1. *Habanero pepper* flowers in anthesis; (A) Flowering plants, (B) Flower in anthesis.

2.2. Position of the Pistil with Regard to the Anthers

The position of the pistil was determined with respect to the anthers in order to determine the probability of the occurrence of cross-pollination in each genotype evaluated. For this, 60 flowers in anthesis, between 8:00–10:00 a.m. were randomly selected and considered in order to evaluate how many of them presented: inserted pistil (-1), pistil at the same level as the anthers (0), pistil slightly exerted (pistil up to 1 mm above the anthers) (2) and pistil exerted (pistil > 1 mm with respect to the anthers) (3) (Figure 2).

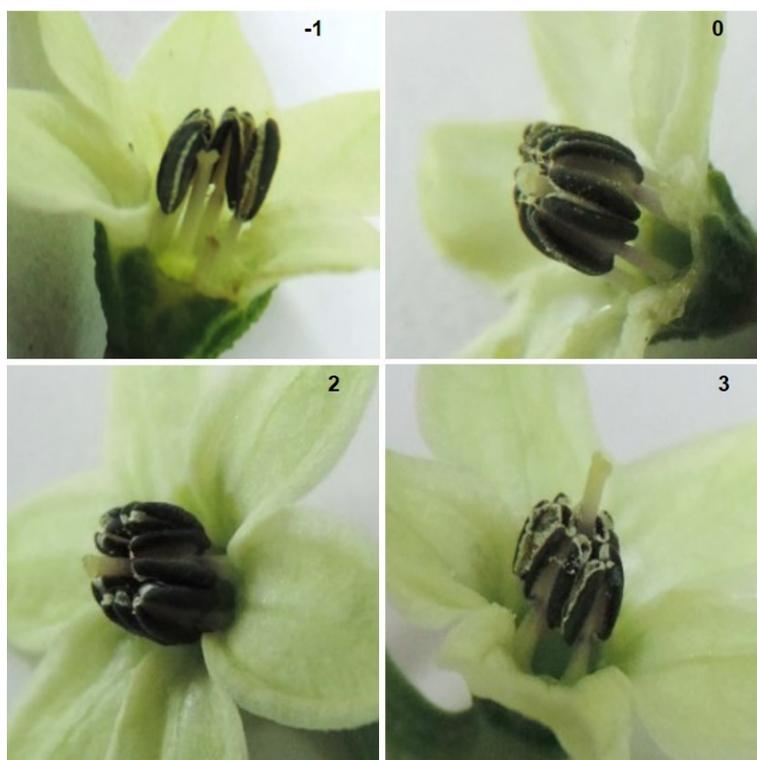


Figure 2. Position of the pistil in flowers *Habanero pepper*: Insert pistil (-1), Pistil at the same level as the anthers (0), Pistil slightly exerted (2) and pistil exerted (3).

2.3. Dehiscence of the Anthers

In order to determine the dehiscence of the anthers, the observations were conducted randomly on 60 flower buds (one day before the anthesis) and on 60 flowers the day of the anthesis in three timetables: 8:00 a.m., 10:00 a.m., and 12:00 p.m., for each time and each genotype. The dehiscence of the anthers was classified as: *closed anthers* (ca), *semi-open anthers* (sa) and *open anthers* (oa). In addition, four open flowers were marked in each plant in order to monitor the time of dehiscence of the anthers, and the observation was conducted every two hours, after which they were eliminated from the plant. The total *closed anthers* (ca) *semi-open anthers* (sa) and *open anthers* (oa) evaluated was expressed in percentage (%).

2.4. Receptivity of the Stigma

Receptivity of the stigma was evaluated using the rapid drop hydrogen peroxide test (H_2O_2) at 3% [14]. To achieve this, 10 μ L of H_2O_2 was applied on the stigma with a micropipette (Micropipette 1–10 μ L), after which the observations were carried out with the aid of a stereoscopic microscope (Nikon SMZ800 (Nikon INC., Japan) with Canon DS126311 camera (Canon INC., Taiwan)). Twenty stigmas of each genotype were evaluated by floral stage: (a) flower buds before anthesis (before anthesis), (b) flowers in day of anthesis (during anthesis) and (c) flowers 24 h after the day of anthesis (after anthesis). In all cases, stigmas of recently collected flowers were used.

The genotype ASBG-10 was discarded in the evaluation of receptivity of the stigma and the viability of pollen, due to the fact that it presented a high incidence of floral abortion: and thus, there were insufficient flowers for the evaluations.

2.5. Viability of the Pollen

In order to determine the viability of the pollen, 50–60 flowers in anthesis were randomly collected from each genotype and the pollen was extracted with the aid of tweezers. Two methods were used to evaluate the viability: staining with acetocarmine at 1% [2,15] and by manual pollination. In the case of the method with staining, first 0.001 g of pollen was weighed and added to 50 µL of distilled water; subsequently, 50 µL of a solution of acetocarmine at 1% was added, this was agitated for one minute and allowed to incubate at 4 °C for 30 min in darkness. The pollen grains, which take the color are viable or fertile, while those that remain without color are non-viable or sterile. The grains of pollen were counted with a Neubauer camera, where 10 µL of the dilution of the coloring containing pollen was placed and the counting was carried out with the aid of an optical microscope (ZEISS, Axioplan, Carl Zeiss AG, Germany), in order to determine the percentage of viability (%V).

In order to evaluate the viability of the pollen by means of the manual pollination method; 10 flower buds were pollinated for each genotype per treatment (0 h, 24 h and 48 h of refrigeration at 4 °C). The recently collected pollen was designated as zero hour (0 h), the pollen collected from the other treatments was placed in sealed vials which were stored in refrigeration at 4 °C for 24 h and for 48 h for their posterior evaluation. Subsequently, the flower buds were pollinated manually and were covered with small bags of glassine until the fruit ripened. The following aspects were evaluated: the number of fruits set (FS) fruit length (cm), fruit width (cm), fruit weight (g) and number of seeds per fruit (NSF).

2.6. Data Analysis

The experimental design randomized complete block design and was used with two repetitions and ten plants as the experimental unit. Anthesis was analyzed based on an analysis with factorial arrangement A × B (Factor A: genotypes, Factor B: timetables). The averages of each timetable were calculated during the ten days, an analysis of the variance was carried out (ANOVA) and the *t* Tests LSD (Least significant difference) were applied with $p < 0.05$ in order to determine the significance of the differences among variables, using the SAS program version 9.1 for Windows [16]. Chi-square test (X^2) was used to analyze the position of the pistil and the dehiscence of the anthers. The receptivity of the stigma was analyzed by means of a binomial test, in which the number (1) was assigned when the presence of bubbles was observed in the stigma (receptive stigma) and (0) when the presence of bubbles was not observed in the stigma (non-receptive stigma). Data were analyzed with the IBM statistical program PSS Statistics version 22 [17] with p -value < 0.05 used as a significant difference level.

3. Results

3.1. Anthesis

From the analysis of the results relating to flower aperture, it was possible to observe significant differences among the times of anthesis and among the genotypes studied (Tables 2 and 3). For most of the genotypes, the highest number of flowers in anthesis was registered at 8:00 a.m. (Figure 3),

with the exception of the genotypes RHN-03 and RNJ-04, in which the aperture of the flowers occurred with greater frequency after 12:00 p.m.

Table 2. Analysis of variance of the anthesis in genotypes of *Habanero pepper*.

Sources of Variation	df	Mean Squares Anthesis
Genotypes	11	8498.97 *
Hour	2	99,880.09 *
Genotypes × Hour	22	5241.31 *
Model	35	11,479.44 *
Block	1	4702.22
Error	107	745.22

df: degree of freedom * Significant to a probability of $p \leq 0.05$.

Table 3. Comparison of the average value of flowers in anthesis the genotypes of *Habanero pepper*.

Genotypes	Anthesis *
RKI-01	30.4 cd
RHC-02	50.7 a
RHN-03	36.1 bc
RNJ-04	41.4 ab
RES-05	25.7 def
NBA-06	19.3 efgh
NKA-07	12.3 h
AKN-08	27.6 cde
ASBC-09	17.1 fgh
ASBG-10	13.1 h
MB1-11	15.6 hg
MSB-12	25.1 defg
LSD (0.05)	9.8
Hour	Anthesis *
8:00 a.m.	44.5 a
12:00 p.m.	29. b
4:00 p.m.	4.2 c
LSD (0.05)	4.9

Means within a column followed by the same letter are not significantly different at $p \leq 0.05$, means of 10 days of evaluation. * Represent the average value of flowers in anthesis.

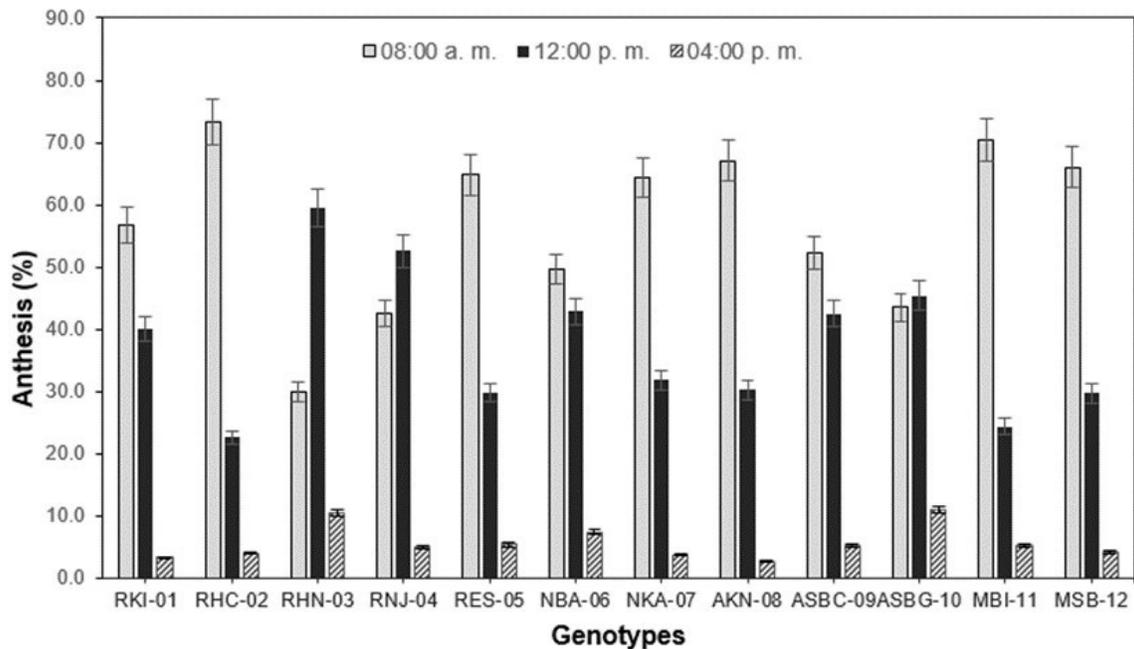


Figure 3. Anthesis pattern in genotypes of *Habanero pepper*. The columns represent the percentage of flowers in anthesis in each hour (8:00 a.m., 12:00 p.m. and 4:00 p.m.) during the 10 days of evaluation. The error bars are values ± 2 standard deviation (SD).

3.2. Position of the Pistil with Respect to the Anthers

From the position of the pistil with respect to the anthers in the genotypes studied (Table 4), it was possible to appreciate that only AKI-08 presented pistil exerted among all of the flowers evaluated (100%), followed by the genotype RES-05 which presented the pistil slightly exerted in most of its flowers (82%); the genotypes RKI-01, NBA-06 and NKA-07 predominated with the pistil at the level of the anthers in most of their flowers (70% and 78%), in contrast with the genotype ASBG-10 which presented similar frequencies (35%, 40% and 25%) for the different positions of the pistil, respectively, except for insert pistil (0). The rest of the genotypes (six) presented the pistil slightly exerted with a percentage in a range between 50–67%. The statistical analyses indicate that, concerning the position of the pistil, all the genotypes except AKN-08, presented frequencies ranging from moderate ($\leq 40\%$) to high ($> 40\%$), in the different positions ($X^2 = 32.658, p < 0.05$) (Table 5).

Table 4. Position of the pistil with respect to the anthers in genotypes of *Habanero pepper*.

Genotypes	Position of the Pistil			
	-1	0	2	3
RKI-01	5%	77%	18%	-
RHC-02	-	18%	55%	27%
RHN-03	-	13%	50%	37%
RNJ-04	-	10%	63%	27%
RES-05	-	7%	82%	12%
NBA-06	-	70%	28%	2%
NKA-07	17%	78%	5%	-
AKN-08	-	-	-	100%
ASBC-09	-	8%	60%	32%
ASBG-10	-	35%	40%	25%
MBI-11	-	-	53%	47%
MSB-12	-	24%	67%	9%

-1 Insert pistil, 0: Pistil at the level of the anthers, 2: Pistil slightly exerted (up to 1 mm above the anthers) 3: Pistil exerted, (pistil > 1 mm with respect to the anthers).

Table 5. Statistical test ^a of the position of the pistil in *Habanero pepper*.

Position of the Pistil	Position	Genotypes
Chi-square (X^2)	32.658	2.596
Degrees of freedom (df)	3	11
Asymptotic significance	0.000	0.995

^a Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$.

3.3. Dehiscence of the Anthers

According to the observations carried out during the dehiscence of the anthers, the day before the anthesis (flower bud) 100% of the anthers are closed (Table 6), except in the genotype RHC-02 which presented 12% of its flower buds with semi-open anthers. The dehiscence of the anthers occurred longitudinally (lo) (Figure 4G) with the observation of pollen grains one hour after the aperture of the flower. The Chi-square test (X^2) indicates that the aperture of the anthers is different in the four times evaluated: day before the anthesis (flower bud), flowers the day of the anthesis in

three timetables: 8:00 a.m., 10:00 a.m. and 12:00 p.m., ($X^2 = 9.623$, $p < 0.05$) and no differences were revealed among the genotypes ($X^2 = 1.794$, $p > 0.05$) (Table 7).

Table 6. Percentage dehiscence of the anthers in floral button and anthesis flowers in *Habanero pepper* genotypes.

Genotypes	Day before Anthesis.						Anthesis Day					
	Floral Button			8:00 a.m.			10:00 a.m.			12:00 p.m.		
	ca (%)	sa (%)	oa (%)	ca (%)	sa (%)	oa (%)	ca (%)	sa (%)	oa (%)	ca (%)	sa (%)	oa (%)
RKI-01	100	0	0	0	3	97	5	5	90	7	15	62
RHC-02	88	12	0	0	5	95	8	12	80	2	8	90
RHN-03	100	0	0	0	85	15	0	82	18	0	67	33
RNJ-04	100	0	0	0	2	98	12	17	72	7	20	73
RES-05	100	0	0	0	3	97	17	7	77	5	18	77
NBA-06	100	0	0	0	20	80	10	7	83	0	18	82
NKA-07	100	0	0	0	8	92	8	28	63	7	13	63
AKN-08	100	0	0	0	5	95	8	12	80	5	25	70
ASBC-09	100	0	0	0	5	95	15	13	72	0	8	92
ASBG-10	100	0	0	0	3	97	0	18	82	0	8	42
MBI-11	100	0	0	0	2	98	23	10	83	3	12	85
MSB-12	100	0	0	2	5	93	3	8	88	0	12	88

The data show the percentage of anthers ($n = 60$); ca: closed anthers, sa: semi-open anthers, oa: open anthers.

Table 7. Statistical test ^a of the dehiscence of the anthers in *Habanero pepper*.

Dehiscence of Anthers	Dehiscence	Time	Genotypes
Chi-square (X^2)	28.269	9.623	1.794
Degrees of freedom (df)	2	3	11
Asymptotic significance	0.000	0.022	0.999

^a Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$. Dehiscence (ca: closed anthers, sa: semi-open anthers, oa: open anthers). Times (floral button, 8:00 a.m., 10:00 a.m. and 12:00 p.m.).

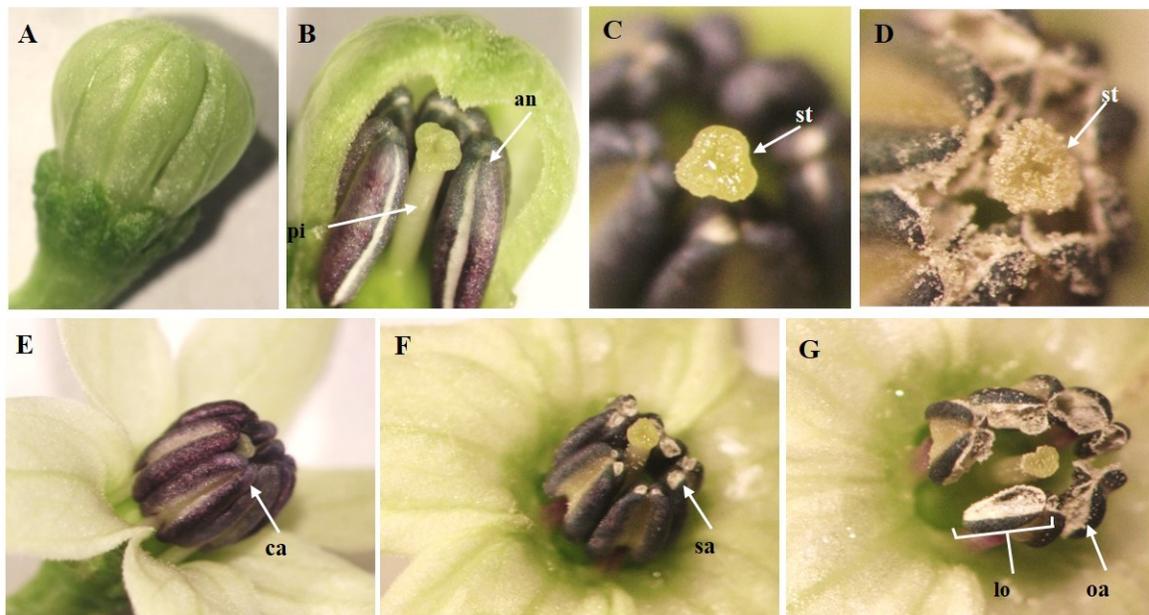


Figure 4. Anther dehiscence in floral button and flowers in *Habanero pepper* anthesis. (A) Floral button (day before anthesis) suitable for emasculation, (B) Anthers closed in floral button, pi. Pistil, an. Anther, (C) Stigma free of pollen in floral button, st. Stigma (D) Stigma covered with pollen with anthers open, on flower in anthesis, (E) Closed anthers (ca) on flower in anthesis, (F) Semi-open anthers (sa) on flower in anthesis. (G) Open anthers (oa) on flower in anthesis, lo: Longitudinal

opening of the anthers. The arrows in the figures; (E–G) point to the location of the opening of the anther.

3.4. Receptivity of the Stigma

With the behavior of the different genotypes in relation to the receptivity of the stigma, it was possible to observe that the genotype AKN-08 presented greater receptivity (100%) for all the states evaluated (before anthesis, during anthesis, and after anthesis). In the genotypes RKI-01 and RES-05 a gradual increase in the receptivity of the stigma were observed from one day before the anthesis up to one day after the anthesis (Figure 5). However, the genotypes RHN-03 and MSB-12 presented a pattern that was different in comparison with the other genotypes in which the receptivity of the stigma was low before the anthesis, increased during the anthesis and diminished after the anthesis. In Figure 6, it can be seen that the most significant receptivity was presented one day after the anthesis for most of the genotypes evaluated, with the exception of the RHN-03 and MSB-12 genotypes in which the receptivity decreases. The receptivity of the stigma was positive from one day before the anthesis, until one day after the anthesis, in all the genotypes (Table 8).

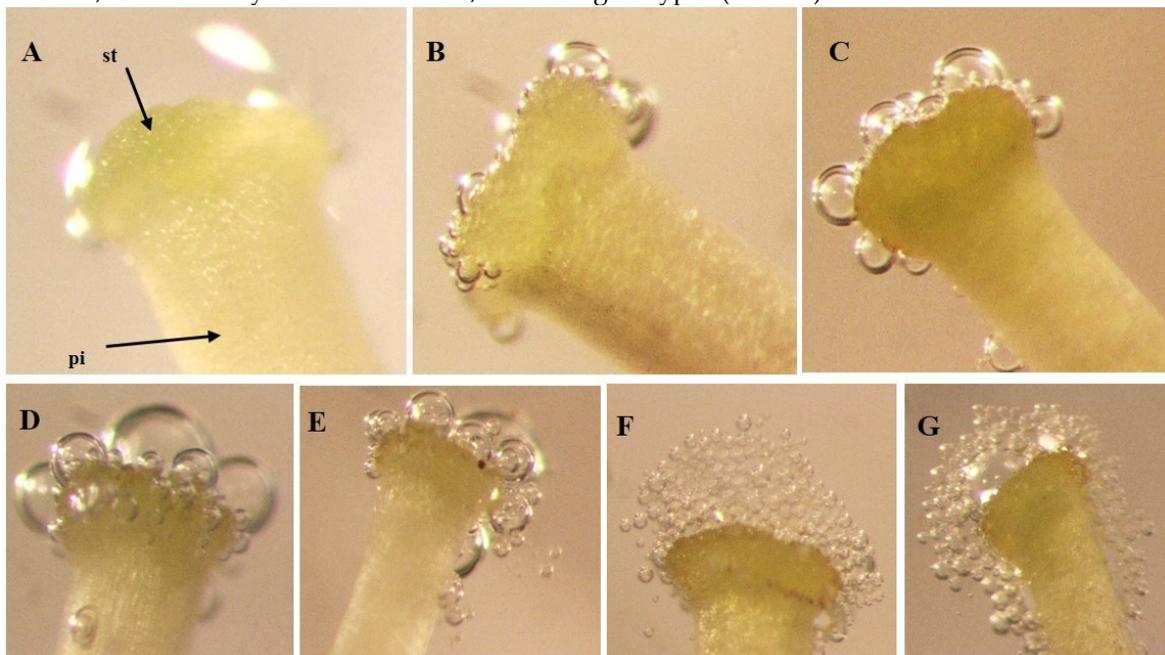


Figure 5. Receptivity of the stigma of *Habanero pepper* evaluated with 3% H₂O₂. (A) Non-receptive stigma (0) on flower bud (before anthesis) no bubbles are observed: pi. Pistil, st. Stigma, (B,C). Receptive stigma (1) floral button, the presence of bubbles around the stigma is observed, (D,E). Receptive stigma of flower in day of anthesis (during anthesis) (F,G). Receptive stigma in flower one day after anthesis (after anthesis). Increase in bubble number can be observed from floral bud to flower after anthesis.

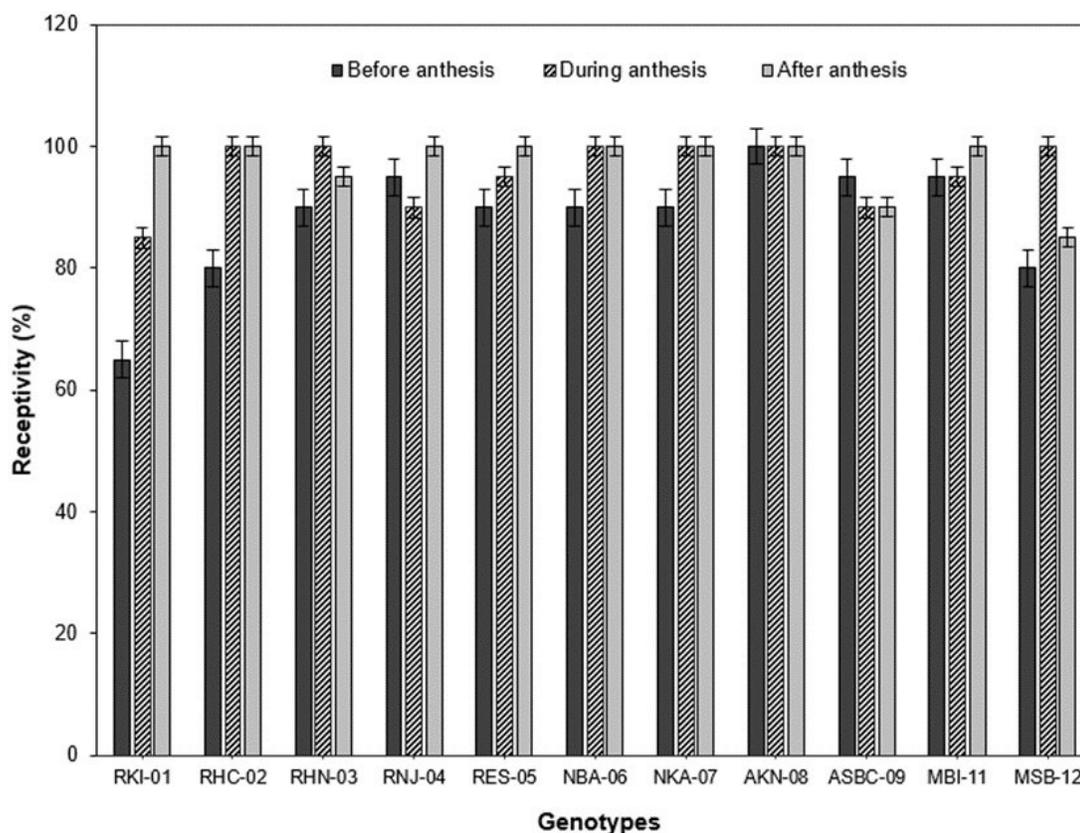


Figure 6. Receptivity of the stigma in genotypes the *Habanero pepper*. The columns represent the percentage of receptive stigmas ($n = 20$). The error bars are values ± 2 SD.

Table 8. Analysis of the receptivity of the stigma of *Habanero pepper*.

		Binomial Test				
		Category	N	Observed Probability	Probability of Test	Exact Meaning (Bilateral)
Receptivity of the stigma	Group 1	Receptive (1)	619	0.94	0.5	0.000
	Group 2	Not receptive (0)	41	0.06		
	Total		660	1.00		

N: number of pistils. $p \leq 0.05$.

3.5. Viability of the Pollen

The viability of the pollen varied depending on the time of conservation (in refrigeration) after collection. Of the three moments evaluated (0, 24 and 48 h), the best time to use it was at the moment of harvesting (0 h), given that the pollen presented the highest percentage of viability (88%) and the greatest number of seeds per fruit (NSF) with an average of 56 for the majority of the genotypes, except RNJ-04, NKA-06, AKN-08 and ASBC-09, although the percentage of fruit set (%FS) was low (Table 9 and Figure 7). The remainder of the variables evaluated, such as fruit length (FL), fruit width and (FW) fruit weight (WF) were not significantly affected by the different times of pollen conservation evaluated (Table 9).

Table 9. Pollen viability at 0, 24 and 48 h of collection.

Genotypes	0 h					24 h					48 h							
	V (%)	FS (%)	FL (cm)	FW (cm)	WF (g)	NSF	V (%)	FS (%)	FL (cm)	FW (cm)	WF (g)	NSF	V (%)	FS (%)	FL (cm)	FW (cm)	WF (g)	NSF
RKI-01	90	30	4.5	3.3	11.1	70	84	40	4.4	4.5	22.5	89	77	50	3.7	4.4	20.0	80
RHC-02	89	50	4.1	4.4	19.7	76	78	80	3.6	3.0	8.0	32	77	30	3.1	3.1	8.5	22
RHN-03	86	80	4.6	3.1	14.9	59	83	15	5.4	3.1	15.0	49	77	60	4.4	2.9	12.0	47
RNJ-04	85	0	-	-	-	-	81	50	3.1	2.2	5.9	5	78	40	3.5	2.5	6.0	6
RES-05	91	43	2.7	4.4	13.0	72	84	30	2.6	4.2	12.1	25	79	50	2.2	3.5	7.2	22
NBA-06	87	30	3.4	2.5	6.3	15	85	50	3.1	2.2	4.7	9	80	0	-	-	-	-
NKA-07	86	19	3.6	3.9	16.9	94	82	10	3.5	3.6	15.0	88	79	10	3.7	4.0	16.3	32
AKN-08	95	40	3.5	3.2	8.4	53	88	60	3.0	2.6	6.0	28	87	60	3.5	2.6	6.3	24
ASBC-09	93	80	3.9	2.9	10.9	49	86	60	4.0	2.9	10.2	57	86	90	3.9	2.9	10.3	29
MBI-11	78	70	2.2	4.0	10.8	60	77	40	1.7	2.9	5.0	13	87	30	1.4	2.5	3.2	3
MSB-12	93	70	2.8	3.1	6.5	71	81	70	2.9	3.1	10.7	83	80	60	2.8	3.4	7.7	70
T	88	47	3.2	3.2	10.8	56	83	46	3.4	3.1	10.5	42	81	44	2.9	2.9	8.9	30

V (%): viability percentage; FS (%): percentage of fruits set; FL: fruit length; FW: fruit width; WF: fruit weight; NSF: number of seeds per fruit. 0: without fruits set.

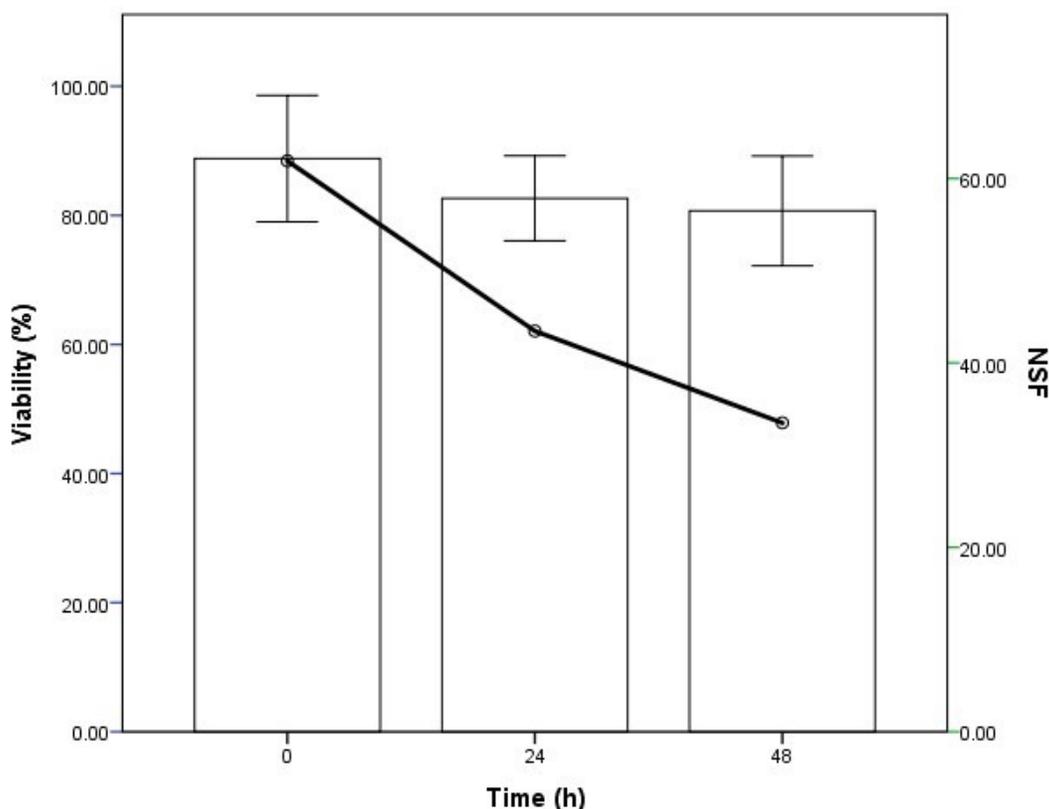


Figure 7. Pollen viability. The columns represent the percentage of pollen viability at 0, 24 and 48 h of collected. The continuous line represents the average number of seeds per fruit obtained after manual pollination with 0, 24 and 48 h collected pollen. The error bars are values ± 2 SD. NSF: number of seeds per fruit.

4. Discussion

In general, for most of the genotypes, the highest number of flowers in anthesis was registered at 8:00 a.m. (Figure 3), with the exception of the genotypes RHN-03 and RNJ-04, in which the aperture

of the flowers occurred with greater frequency after 12:00 p.m. With these results it is possible to establish that this is the moment of the day in which their pollen should be collected, when these genotypes are used as masculine progenitors, within a cross-breeding program. In a similar study by Aleemullah et al. [18] which analyzed the phenology of *Capsicum annuum* flowering, it was observed that the anthesis was presented with greater frequency during the morning. In a study of the reproductive biology of *Jatropha curcas*, Rincón-Rabanales et al. [6] found that the flowers, both masculine and feminine, begin to open at 8:00 h, and that the maximum aperture of the flowers is registered at 9:00 h, while Mir et al. [5], studying the reproductive biology of *Withania ashwagandha* sp. Novo (Solanaceae), they observed that the anthesis occurred in an interval between 8:00–11:00 h. These results allow the inference that the more usual anthesis in several species including a *Capsicum chinense* is that flowers open in the morning.

With the analysis of the pistil position, with respect to the anthers in the genotypes studied (Table 4), it was possible to appreciate that only AKI-08 presented pistil exerted in all its flowers evaluated (100%), while in the genotypes RKI-01, NBA-06, and NKA-07, the pistil at the level of the anthers predominated in the majority of their flowers (70% and 78%). Most of the genotypes presented the pistil slightly exerted with a percentage in a range of 50–67%. These results indicate that, at least under the edaphoclimatic conditions of the Peninsula of Yucatan, *Capsicum chinense* behaves in the same way as a *facultative allogamous* species. This classification of *Habanero pepper* has been repeatedly mentioned, in previous studies [19–22], which report out-crossing rates of 7% to 91%. With these results, it is possible to confirm that an important level of allogamy exists in the species, which can vary among genotypes and must be taken into account in the genetic improvement programs and those of *Habanero pepper* seed production. Opedal [23] mention that the herkogamy or the spatial separation of anthers and stigmas inside the flowers is a trait that promotes cross-fertilization or avoids autogamy. Larrinaga et al. [24], studying the floral morphology of *Narcissus cyclamineus* (Amaryllidaceae), observed that the relative position of the stigmas and anthers has a significant effect on the success of female reproduction. Similarly, information has been reported for tomato by Pan et al. [25], indicating that autogamy is usually associated with the position of the anther in relation to the stigma. In cross-pollination, the stigmatic surface receives the pollen of the neighboring flowers, while the self-pollinated flowers are typically characterized by a stigmatic surface that is imbedded inside their own anther.

According to the observations carried out with respect to the dehiscence of the anthers one day before the anthesis (flower bud), 100% of the anthers are closed (Table 6). The dehiscence of the anthers occurred longitudinally, with the observation of pollen grains one hour after aperture of the flower. Similar results were reported by Aleemullah et al. [18] who worked with *Capsicum annuum* and observed that the dehiscence of the anthers was longitudinal and the liberation of the pollen grains initiated one hour after the aperture of the flower. In other species; Khanduri et al. [26] reported that in *Cornus capitata*, the aperture of the anther also occurred from the apex to the base, which was also reported by Douglas and Freyre et al. [27] in species of *Nolana* (Solanaceae). Based on the results obtained from the evaluation of anther aperture, the recommendation is to perform the emasculation and pollination at the same time, in the stage flower bud (one day before the anthesis) in the in order to ensure that the anthers are closed without risk of self-pollination.

With the analysis of the behavior of the different genotypes regarding the receptivity of the stigma, in the genotypes RKI-01 and RES-05 it was possible to observe a gradual increase in the receptivity of the stigma from one day before the anthesis, to one day after the anthesis (Figure 5). However, the genotypes RHN-03 and MSB-12 presented a different pattern in comparison with the rest of the genotypes in which the receptivity of the stigma was low before the anthesis, increased

during the anthesis and diminished after the anthesis. In a similar study, Aleemullah et al. [18] determined the period of receptivity of *C. annuum*, indicating that the pistil was most receptive in -1 (one-day pre-anthesis), 0 (day of anthesis) and +1 (day post-anthesis). Recently, Crispim et al. [9] observed that, although the flowers of the ornamental chili plant are receptive from the flower bud phase, the most significant receptivity was observed after the anthesis, Zhang et al. [4], in a study of the floral biology and the receptivity of the *Moringa oleifera* Lam. pistil, reported that the greatest receptivity of the stigma was registered on days 1 and 2 after the anthesis, with more than 93% of the stigmas receptive. In *Habanero pepper*, the greatest receptivity was presented one day after the anthesis for the majority of the genotypes (Figure 6). These results facilitate the efficient planning and design of a program of cross-breeding in order to obtain *Habanero pepper* hybrids. According to Ofuso-Anim et al. [28], the stigma of chili flowers (*Capsicum annuum*) maintains its receptivity for three days (the day of the anthesis and the two days after the anthesis). In our study, the receptivity of the stigma was positive from one day before the anthesis to one day after the anthesis in all of the genotypes (Table 8). It is also recommended to carry out the cross-breeding one day before the anthesis (floral bud), given that the anthers are completely closed (100%) in most of the genotypes (Table 6). Gomes et al. [3] who studied the reproductive biology of aceroleira (*Malpighia emarginata*) genotypes, also indicate that the flower buds are suitable to emasculate.

The viability of the pollen varied, depending on the time of conservation (in refrigeration) after collection. Of the three times evaluated (0, 24 and 48 h), the best time for use was the time of harvesting (0 h), given that the pollen presented a greater percentage of viability (88%) and a greater number of seeds per fruit (NSF), although the percentage of fruit set (%FS) was low (Table 9 and Figure 7). Mir et al. [5] concluded that low fructification in cross-pollination after emasculation is an indicator of partial fixation of autogamy in the *Withania ashwagandha* sp. Novo (Solanaceae). In general, the plants with flowers possess a wide range of morphological and physiological mechanisms that influence their patterns of reproduction and in particular in the degree of self-fertilization. As for the NSF Garcia et al. [29], evaluating the characteristics of the fruit of wild pepper (*Capsicum flexuosum*), observed that when manual pollination was carried out, the number of seeds per fruit increased with the size of the fruit. Thus, being able to know when the greater viability and germination of the pollen occur would result in greater fruit formation and high seed yield.

5. Conclusions

The results obtained in this study contribute to the methodology of the genetic improvement of *Habanero pepper* through the traditional techniques employed for the procurement of improved varieties. As a result of this study, it was determined that, before the anthesis (flower bud), the stigma is already receptive, while the anthers are still closed in most of the genotypes studied, this characteristic allows us to ensure that the self-fertilization cannot occur, even though the stigma is already prepared to receive the pollen (receptive). It is precisely this particularity in the floral biology of *Habanero pepper* that allows us to identify this moment as the most adequate to carry out the manual pollination in this species when a program of hybridization is being developed. Moreover, taking into account the results obtained regarding the viability of the pollen, it is more recommendable to use the pollen in the crosses the same day as their extraction (0 h). This will benefit the formation of a greater number of seeds per fruit, which is the main objective in a program of hybrid seed production. In general, the results obtained in this study will have important repercussions in the improvement programs for *Habanero pepper* given that by characterizing and determining the parameters of the floral biology of this species, it is possible to identify the more suitable genotypes

to be used as progenitors masculine and/ or feminine, in a genetic improvement program of *Habanero pepper* for the obtaining of hybrids and/or improved varieties.

Author Contributions: Formal analysis, S.A.A.-V.; Investigation, L.P.P.-Y., N.S.-B.; Methodology, L.S.M.-R., A.G.-A.; Project administration, N.S.-B.; Software, S.A.A.-V.; Supervision, A.C.-F., A.G.-A.; Visualization, A.C.-F.; Writing – original draft, L.P.P.-Y.; Writing – review & editing, L.S.M.-R., N.S.-B.

Funding: This work was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-México).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Abdelgadir, H.A.; Johnson, S.D.; Van Staden, J. Pollen viability, pollen germination and pollen tube growth in the biofuel seed crop *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae). *South Afr. J. Bot.* **2012**, *79*, 132–139, doi:10.1016/j.sajb.2011.10.005.
2. Caraballo, B. Biología floral del guayabo (*Psidium guajava* L.) en la Planicie de Maracaibo, Zulia, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* **2001**, *18*, 41–55.
3. Gomes, J.E.; Pavani, M.D.C.; Perecin, D.; Martins, A.B.G. Morfología floral e biología reproductiva de genótipos de aceroleira. *Sci. Agric.* **2001**, *58*, 519–523, doi:10.1590/S0103-9016200100030001.
4. Zhang, J.; Lin, M.; Chen, H.; Zhu, Q.; Chen, X. Floral biology and pistil receptivity of the drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.). *Arch. Biol. Sci.* **2018**, *70*, 299–305, doi:10.2298/ABS170205046Z.
5. Mir, B.A.; Koul, S.; Soodan, A.S. Reproductive biology of *Withania ashwagandha* sp. novo (Solanaceae). *Ind. Crop. Prod.* **2013**, *45*, 442–446, doi:10.1016/j.indcrop.2012.12.023.
6. Rincón-Rabanales, M.; Vargas-López, L.I.; Adriano-Anaya, L.; Vázquez-Ovando, A.; Salvador-Figueroa, M.; Ovando-Medina, I. Reproductive biology of the biofuel plant *Jatropha curcas* in its center of origin. *PeerJ* **2016**, *4*, e1819, doi:10.7717/peerj.1819.
7. Martins, K.C.; Pereira, T.N.S.; Souza, S.A.M.; Rodrigues, R.; Amaral Junior, A.T.D. Crossability and evaluation of incompatibility barriers in crosses between *Capsicum* species. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* **2015**, *15*, 139–145.
8. Onus, A.N. Structure of the Stigma and Style in *Capsicum eximium* and the Effects of Pollination. *Turk. J. Bot.* **2000**, *24*, 337–346.
9. Crispim, J.G.; Rêgo, E.R.; Rêgo, M.M.; Nascimento, N.F.F.; Barroso, P.A. Stigma receptivity and anther dehiscence in ornamental pepper. *Hortic. Bras.* **2017**, *35*, 609–612, doi:10.1590/s0102-053620170421.
10. Mercado, J.A.; Fernández-Muñoz, R.; Quesada, M.A. In vitro germination of pepper pollen in liquid medium. *Sci. Hortic.* **1994**, *57*, 273–281, doi:10.1016/0304-4238(94)90110-4.
11. James, E.A.; Knox, R.B. Reproductive-biology of the Australian species of the genus *Pandorea* (Bignoniaceae). *Aust. J. Bot.* **1993**, *41*, 611–626, doi:10.1071/BT9930611.
12. Hundal, J.S.; Dhall, R.K. Breeding for hybrid hot pepper. *J. New Seeds* **2005**, *6*, 31–50, doi:10.1300/J153v06n02_03.
13. SMN. Servicio Meteorológico Nacional. Available online: <https://smn.conagua.gob.mx/es/> (accessed on 10 July 2017).
14. Angel-Coca, C.; Nates-Parra, G.; Ospina-Torres, R.; Melo Ortiz, C.D.; Amaya-Márquez, M. Floral and reproductive biology of the “gulupa” *Passiflora edulis* Sims f. *edulis*. *Caldasia* **2011**, *33*, 433–451.
15. Gehrke-Vélez, M.R.; Castillo-Vera, A.; Ruiz Bello, C.; Moreno-Martínez, J.L. Viabilidad y germinación del polen en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataúlfo. *Interciencia* **2011**, *36*, 378–385.
16. SAS Inst., Inc. *SAS Software Release 9.1 for Windows*; SAS Institute: Cary, NC, USA, 2003.
17. IBM Cor. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0, Release 2013*; IBM Cor: Armonk, NY, USA, 2013.

-
18. Aleemullah, M.; Haigh, A.M.; Holford, P. Anthesis, anther dehiscence, pistil receptivity and fruit development in the Longum group of *Capsicum annuum*. *Aust. J. Exp. Agric.* **2000**, *40*, 755–762, doi:10.1071/EA99038.
 19. Bosland, P.W. An effective plant field cage to increase the production of genetically pure chile (*Capsicum* spp.) seed. *HortScience* **1993**, *28*, 1053–1053.
 20. Franceschetti, U. Natural cross pollination in pepper (*Capsicum annuum* L.). In Proceedings of the Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum, Turin, Italy, 16–18 September 1971; pp. 346–353.
 21. Odland, M.L.; Porter, A.M. A study of natural crossing in pepper (*Capsicum frutescens* L.). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **1941**, *38*, 585–588.
 22. Tanksley, S.D. High rates of cross-pollination in chile pepper. *HortScience* **1984**, *19*, 580–582.
 23. Opedal, Ø.H. Herkogamy, a principal functional trait of plant reproductive biology. *Int. J. Plant Sci.* **2018**, *179*, 677–687, doi:10.1086/700314.
 24. Larrinaga, A.R.; Guitián, P.; Garrido, J.L.; Guitián, J. Floral morphology and reproductive success in herkogamous *Narcissus cyclamineus* (Amaryllidaceae). *Plant Syst. Evol.* **2009**, *278*, 149–157, doi:10.1007/s00606-008-0124-x.
 25. Pan, C.; Ye, L.; Zheng, Y.; Wang, Y.; Yang, D.; Liu, X.; Lu, G. Identification and expression profiling of microRNAs involved in the stigma exertion under high-temperature stress in tomato. *BMC Genom.* **2017**, *18*, 843, doi:10.1186/s12864-017-4238-9.
 26. Khanduri, V.P.; Sukumaran, A.; Sharma, C.M. Reproductive biology of *Cornus capitata* Wall. ex Roxb.: A native species in East Asia. *J. For. Res.* **2017**, 1–12, doi:10.1007/s11676-018-0779-2.
 27. Douglas, A.C.; Freyre, R. Floral development, stigma receptivity and pollen viability in eight *Nolana* (Solanaceae) species. *Euphytica* **2010**, *174*, 105–117, doi:10.1007/s10681-010-0145-8.
 28. Ofosu-Anim, J.; Offei, S.K.; Yamaki, S. Pistil receptivity, pollen tube growth and gene expression during early fruit development in sweet pepper (*Capsicum annuum*). *Int. J. Agric. Biol.* **2006**, *8*, 576–579.
 29. García, C.C. Fruit characteristics, seed production and pollen tube growth in the wild chilli pepper *Capsicum flexuosum*. *Flora-Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants* **2011**, *206*, 334–340, doi:10.1016/j.flora.2010.05.008.



© 2019 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).