

CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIONES INMADUROS DE CRUZAS INTERPOBLACIONALES DE MAÍZ S₂ CON EL EMPLEO DE BAP Y AIA

IN VITRO CULTIVATION OF IMMATURE EMBRYOS OF INTER-POPULATIONS CROSSES OF MAIZE S₂ WITH THE USE OF BAP AND AIA

Chablé-Moreno F.¹, Huerta-Santoyo D.¹, Raya-Pérez, J.C.¹, Ramírez-Pimentel, J.G.¹, Aguirre-Mancilla C.L.¹, Estrada-Luna A.A.², Covarrubias-Prieto, J.

¹Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Roque, DEPI-ITR, Km.8 Carretera Celaya-JR; ²CINVESTAV-Irapuato e-mail: fchable4oct@hotmail.com, frchable@itroque.edu.mx recibido: 27 abril, aceptado: 28 agosto 2017.

Artículo Científico

RESUMEN

El cultivo *in vitro* de embriones inmaduros de maíz de 19 cruzas interpopulacionales en endogamia temprana, es una estrategia para acortar el tiempo de un programa de mejoramiento en maíz. Acelera el desarrollo del embrión inmaduro para formar una planta viable, en medio de cultivo que sustituye al endospermo. En un programa de mejoramiento puede ser una herramienta útil, disminuye tiempo y costos en la formación de líneas endogámicas. El experimento se desarrolló en 4 etapas: 1) endogamia (S₂); 2) siembra aséptica del embrión (S₃); 3) aclimatación a invernadero; 4) transferencia a campo y endogamia S₄. La autofecundación se realizó en las 19 poblaciones establecidas en campo y de 14-17 días después de la fecundación se aisló el embrión, se estableció en el medio MS (1962) en una sola concentración de citocinina y dos de auxina, con pH de 5.6±0.01, 3% de sacarosa y 0.6% de agar, la esterilización fue a 121°C durante 15 minutos. En campo para la autopolinización S₃ fue un diseño completamente al azar, tres surcos de 5 metros de largo y 0.80 m entre surcos, en el laboratorio se utilizó un diseño bifactorial con distribución completamente al azar (Factor A dos niveles de AIA+BA y factor B 19 poblaciones). Durante

la siembra aséptica se incubó por un periodo de 4 a 12 días, siendo transferidos a invernadero donde se aclimataron de 7 a 10 días, posteriormente las plántulas se trasplantaron a campo, donde se desarrollaron y se realizó de nuevo el proceso de endogamia S₄. Los resultados del crecimiento de la longitud de plúmula del cultivo *in vitro* de embriones inmaduros de cruzas interpopulacionales, la población MY10 y P3055 fueron la de mayor elongación, mientras que Retinto x Canelo y Caimán presentaron poca respuesta en ambos tratamientos a los 4 días; a los 8 días P3055 y Caimán x INIFAP fueron lo de mayor longitud de plúmula. En la elongación de raíz P3055 y Caimán x INIFAP fueron los de mayor longitud, mientras que 7 Leguas e Invernadero 5, presentaron problemas de elongación radical. Se logró la aclimatación del 84.2% y de estas se adaptaron a campo un 76%, a las cuales se realizó la endogamia. Es un proceso más rápido que los sistemas convencionales, se realizó dos ciclos de endogamia en un mismo año en la misma localidad.

Palabras clave: Embrión inmaduro, *in vitro*, maíz, reguladores de crecimiento, endogamia.

SUMMARY

In vitro culture of immature maize embryos of 19 interpopulation crosses in early inbreeding is a strategy to shorten the time of a maize breeding program. It accelerates the development of the immature embryo to form a viable plant, in the middle of the culture that replaces the endosperm. In an improvement program, it can be a useful tool to reducing time and costs in the formation of endogamous lines. The experiment was carried out in four stages: 1) endogamy (S₂); 2) Aseptic seedling of the embryo (S₃); 3) acclimatization to

greenhouse; 4) field transfer and inbreeding S₄. The self-fertilization was performed in the 19 populations established in the field and from 14-17 days after fertilization, the embryo was isolated, established in the MS medium (1962) in a single concentration of cytokine and two auxins, with pH of 5.6 ± 0.01, 3% sucrose and 0.6% agar, the sterilization was at 121°C for 15 minutes. In the field for self-pollination S₃ was a completely random design, three furrows 5 meters long and 0.80 m between furrows, in the laboratory used a

bifactorial design with complete random distribution (Factor A levels of AIA + BA and factor B 19 populations). During the aseptic planting, it was incubated for a period of 4 to 12 days, being transferred to a greenhouse where acclimated from 7 to 10 days, later the seedlings were transplanted a field, where the process of inbreeding S₄. The results of the growth of the plant length of *in vitro* culture of immature embryos of interpopulation crosses, the population MY10 and P3055 were those of greater elongation, whereas Retinto x Canelo and Caimán showed little response in both treatments at 4 days; at 8 days Caimán x INIFAP

were the longest plumule length. In the elongation of the root P3055 and Caimán x INIFAP were the longest, while 7 Leguas e (Invernadero 5, presented problems of radical elongation. Acclimatization of 84.2% was achieved and 76% of these were adapted to a field, to which endogamy was performed. It is a faster process than conventional systems, two cycles of inbreeding were done in the same year in the same locality.

Key words: Key words: Immature embryo, *in vitro*, maize, growth regulators, endogamy.

INTRODUCCIÓN

El maíz se cultiva bajo una gran variedad de ambientes tanto de clima y suelos (Beyona *et al.* 2010). A pesar de su importancia, son bajos sus promedios nacionales de producción con de 2.7 t.ha⁻¹ (SIAP, 2013), esto se debe en gran medida al empleo de semillas criollas (Virgen *et al.*, 2016), aunque existen semillas híbridas con altos rendimientos producidas por compañías transnacionales (Monsanto, Pioneer, Syngenta, Dekalb, Asgrow, Dows Agrosociencias), y de compañías nacionales, estas tienen poca participación en El Bajío Guanajuatense, empresas regionales como: Rivas, Semillas Rica, Semillas Correa, Berentsen, Cincinatti Seed, La Hacienda), en ambos casos las semillas son caras, no accesible a productores rurales. La producción de líneas para formar híbridos es cara y requiere de bastante tiempo. Ante ello se deben impulsar programas nacionales de producción de semillas de calidad con tecnología propia (Monnier, 1978; González *et al.*, 2008). Existen esfuerzos de investigaciones realizadas por instituciones públicas (CP, CIMMYT, ICAMEX, INIFAP), para ofertar semillas de maíz de calidad (Virgen *et al.*, 2010; Larque *et al.*, 2013; Virgen *et al.*, 2014), que han sido insuficientes para impactar con los productores rurales. La calidad de la semilla mejoradas de maíz es esencial para una emergencia uniforme y rápido establecimiento del cultivo en campo (Copeland y McDonald, 2001), así como su alta productividad.

Green y Phillips (1975), propusieron alternativas y fueron los primeros en establecer la regeneración de plantas de maíz a partir de embriones inmaduros; por su parte, Springer *et al.* (1979) y Vasil *et al.* (1985) realizaron estudios histológicos y Duncan *et al.* (1985) emplearon embriones inmaduros para regenerar plantas embriogénicas; la elongación del brote es una técnica potencial *in vitro*, así como lo es el meristemo

apical para el desarrollo directo de plantas. Mediante cultivo *in vitro* Torroba *et al.* (2008) lograron la regeneración completa a partir de embriones de maíz que fueron colectados antes de la etapa coleoptilar (8-10 días después de la polinización) obteniéndose plantas fértiles en 2 meses. Mathys *et al.* (1998) y Krishna *et al.* (2013) emplearon embriones maduros para inducir embriogénesis y organogénesis indirecta, que son alternativas en un programa de mejoramiento de maíz; y Alí *et al.* (2014) desarrollo de plantas a partir de embriones maduros e inmaduros.

El cultivo de embriones inmaduros de maíz permite acortar el tiempo en ciclos de endogamia, al superar la latencia de las semillas, requisitos de luz, temperaturas bajas, requisitos de almacenamiento en seco (Yeung *et al.*, 1981). Los embriones inmaduros de maíz de 1-2 mm de longitud (10 a 15 días después de la fecundación) permite el desarrollo *in vitro*; Gorji *et al.* (2011) mencionan que de 13 a 15 días es adecuado, la inconveniencia es su estacionalidad, aunque su potencial no se discute, (Odour *et al.*, 2006) mencionan solucionarlo mediante la siembra continua de plantas. El cultivo *in vitro* de embriones inmaduros permite obtener una planta completa en menor tiempo; conservando la integridad del genoma y con esto lograr con mayor rapidez la formación de líneas endogámicas. Este procedimiento implica aislar el embrión y colocarlo en un medio de cultivo, mismo que reemplazará la función del endospermo en la nutrición del embrión (Yan *et al.*, 2014), el endospermo expresa genes únicos que se han especializado en funciones como es la tolerancia al estrés (Amara *et al.*, 2012), pero no se ha prestado importancia el papel de la eliminación del endospermo.

Gorji *et al.* (2011) en maíces tropicales determinaron que el medio de cultivo y el genotipo fueron factores que influyeron en la regeneración de plantas, resultados similares fueron obtenidos por González *et al.* (2012); sin embargo, Malini *et al.* (2015) mencionan otros factores como edad y tamaño del desarrollo del explante, el tipo de fitohormonas y su concentración son factores determinantes para la regeneración de plantas completas. La inconsistencia en la regeneración de la planta se ha asociado con factores

tales como concentraciones endógenas de las fitohormonas en líneas de maíz, época de siembra del cultivo, niveles de fertilización, por ello se requiere redoblar esfuerzos para contar con protocolos eficientes. El objetivo del trabajo consistió en evaluar el protocolo del cultivo de embriones inmaduros de maíz de 19 interrazas poblacionales (endogamia temprana) provenientes de híbridos comerciales y poblaciones criollas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en el Laboratorio de Bioquímica de Semillas del DEPI del Instituto Tecnológico de Roque (ITR) en el Km. 8 de la carr. Celaya-JR, con ubicación geográfica de 20°34'51.7"N 100°49'40.2"W. Clima semiseco, con una temperatura media anual es de 18.4°C (García, 1973), durante el ciclo de cultivo se presentó una máxima 28.6°C y una mínima de 12.3°C de marzo a agosto de 2016 (INIFAP, 2016). Para alcanzar los objetivos planteados, se dividió en cuatro etapas experimentales: 1) siembra de las poblaciones S₂ (realizar endogamia); 2) cultivo de embriones inmaduros S₃; 3) aclimatación de plántulas a condición de invernadero, y 4) transferencia a campo experimental y su endogamia S₄. La siembra se estableció en el campo experimental del ITR, ciclo (P-V, 2016), se dieron cuatro riegos durante el ciclo productivo y una fertilización (240-40-00) (SAGARPA, 2015). La autofecundación se realizó entre los 70 a 82 días, durante la emisión de la inflorescencia femenina se cubrió con bolsas glassine, en la inflorescencia masculina e inicio de la liberación del polen se cubrió con una bolsa de papel estraza por la mañana se realizó la autofecundación. Las poblaciones a evaluar fueron: 1) Retinto x Canelo; 2) Caimán x INIFAP (V-322); 3) Caimán; 4) SETqt; 5) Caimán x SETqt; 6) Magno x Retinto; 7) Retinto x Magno; 8) San Pedro; 9) Antilope; 10) Invernadero 5; 11) Sultán; 12) May10; 13) Magno x Canelo; 14) Canelo x Magno; 15) CRM 30; 16) Canelo; 17) MM 2015; 18) Siete Leguas; 19) P3055. Las variables evaluadas fueron: Altura de planta (AltP) (cm), Número de hojas (NH) ambas variables tomadas a los 45 días de establecidos las poblaciones.

complementado con 3% de sacarosa y 0.6% de agar Bioxón®, el medio de cultivo preparado se sometió a ebullición para disolver el agar y una vez frío se distribuyó en tubos de ensaye Pyrex® (10 mL), se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. Los embriones inmaduros se extrajeron de 14 a 17 días después de la fecundación. En la desinfección de las mazorcas se empleó etanol al 70% (v/v) durante tres minutos, posteriormente se sumergió en hipoclorito de sodio al 50% (v/v) durante 10 minutos y se dieron tres enjuagues con agua destilada y estéril en ambas etapas. La extracción de los embriones inmaduros fue en la campana de flujo laminar Veco®, se realizó un corte longitudinal a lo largo de la mazorca (Olote) y con una pinza de punta y aguja de disección se aisló el embrión, colocando el escutelum y la radícula orientado hacia el medio cultivo, el tubo de ensaye se selló con plástico Kleen Pack®. La incubación fue de 16 horas luz y 8 de oscuridad con temperatura constante de 28 ± 2 °C, el tiempo de incubación fue de 1 a 2 semanas de acuerdo con la respuesta de la elongación de la radícula y coleoptilo de cada cruce interpoblacional. En laboratorio se empleó un diseño experimental bifactorial (A = dos dosis de auxina, B 19 cruces interpoblacionales) se usaron dos tratamientos: 1) BAP + AIA (0.5, 0.1); 2) BAP + AIA (0.5, 0.3) mg L⁻¹. Aunque se establecieron más 30 embriones inmaduros por tratamiento, para el análisis estadístico se consideraron 10 plantas. Las variables evaluadas fueron longitud de plúmula (LP), longitud de raíz primaria (LRP), longitud de raíces secundarias (LRS) a los 4 y 8 días del cultivo *in vitro*.

El aislamiento y cultivo aséptico de embriones inmaduros, fue en el medio básico de cultivo de Murashige y Skoog (1962), al 100% de su concentración, pH ajustado a 5.6 ± 0.01,

La aclimatación de plántulas desarrolladas *in vitro* a invernadero, se realizó en una mezcla de Peat Mossy lombricomposta (1:1), cuando las plántulas alcanzaron una altura promedio de tamaño 7 cm, lo mismo que la longitud de la raíz de 4 cm se extrajeron de los tubos,

las plántulas desarrolladas se establecieron en vasos de unícel con capacidad de 8 onzas, las plántulas se extrajeron con pinzas de punta y se colocaron sobre papel germinador, donde se les humedeció con solución de Captan® al 1% y trasplantadas al sustrato, se aplicaron riegos cada tercer día con solución MS (1962) al 50%, sin agregar la solución orgánica. Una vez que las plántulas de maíz alcanzaron en promedio una altura de 15 cm, se transfirieron al terreno

experimental del ITR. Se les proporcionó riego y fertilización, las variables evaluadas para esta etapa fueron: Altura de planta (AltP) tomada a los 45 días de establecido en campo (cm), Número de hojas (NH) a 45 días (total) y después de 60 días se procedió a realizar la autofecundación de nuevo. El análisis estadístico fue realizado en el programa SAS V. 9.0 para Windows y se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características agronómicas y de rendimiento de las poblaciones evaluadas del ciclo (P-V, 2016), de las cuales se aislaron y cultivaron los embriones *in vitro*, provenientes de cruces interpoblacional S₂ (Cuadro 1), se puede observar que algunas poblaciones presentan una altura promedio de 223 cm, mientras que otras

como es el caso de SETqt y MM 2015 (KM52, Campeche y Acatzingo, Puebla), solamente alcanzaron una altura de 140 cm, lo que repercutió en el peso de la mazorca. En cuanto al peso de mazorca destaca la población Caimán X INIFAP con peso promedio de 317 g, mientras que la MM2015 obtuvo un peso de 99 g.

Cuadro 1. Características agronómicas de cruces interpoblaciones de híbridos comerciales en endogamia temprana (P-V, 2016).

No Pob	AltP	AltMz	PMz	No Pob	AltP	AltMz	PMz
1	166 ± 4.4	77 ± 2.1	159.4 ± 6.1	11	191 ± 9.4	105 ± 3.5	202.7 ± 9.4
2	185 ± 3.6	89 ± 3.4	317.0 ± 9.4	12	210 ± 10.6	110 ± 4.2	258.5 ± 10.6
3	175 ± 3.2	83 ± 2.9	195.5 ± 8.2	13	185 ± 8.2	88 ± 3.9	211.4 ± 9.8
4	223 ± 6.2	105 ± 4.6	221.0 ± 9.2	14	187 ± 7.3	91 ± 3.8	199.6 ± 6.3
5	147 ± 2.1	65 ± 2.6	128.5 ± 7.2	15	236 ± 8.4	96 ± 6.3	223.6 ± 5.6
6	172 ± 3.7	81 ± 3.5	165.6 ± 6.4	16	208 ± 10.9	97 ± 5.8	242.0 ± 9.8
7	165 ± 4.2	78 ± 4.1	163.2 ± 9.6	17	140 ± 4.2	72 ± 4.2	99.0 ± 3.2
8	184 ± 7.1	88 ± 2.9	209.7 ± 8.6	18	220 ± 9.8	109 ± 4.5	181.6 ± 8.4
9	192 ± 7.4	89 ± 3.3	219.5 ± 9.7	19	272 ± 7.3	80 ± 5.2	253.9 ± 10.2
10	185 ± 6.3	86 ± 3.7	198.5 ± 8.8				

1) Retinto x Canelo; 2) Caimán x INIFAP; 3) Caimán; 4) SETqt; 5) Caimán x SETqt; 6) Magno x Retinto; 7) Retinto X Magno; 8) San Pedro; 9) Antiope; 10) Invernadero 5; 11) Sultán; 12) May10; 13) Magno x Canelo; 14) Canelo x Magno; 15) CRM 30; 16) Canelo; 17) MM 2015; 18) 7 Leguas; 19) P3055. No Pob: Número de población; AltP: altura de planta; AltMz: Altura de mazorca; PMz: Peso de mazorca.

El cultivo de embriones inmaduros *in vitro* de las poblaciones (S₃), la longitud de plúmula de las 19 poblacionales de maíz, la que presentaron mayor valor promedio los 4 días fue la población May10 con 32.2 mm en el tratamiento 1 (BAP+AIA en 0.5 y 0.1 mg L⁻¹) seguido de P3055 (Pioneer) y (San Pedro), las poblaciones endogámicas con valores más altos, para

esta misma variable en el tratamiento 2 (BAP+AIA en 0.5 y 0.3 mg L⁻¹) se observó con la población MM2015 seguido por Sultán y 7 Leguas; se encontró que otras poblaciones establecidas en los dos tratamientos, como es el Retinto x Canelo y Caimán tenían bajo crecimiento de la plúmula (Figura 1).

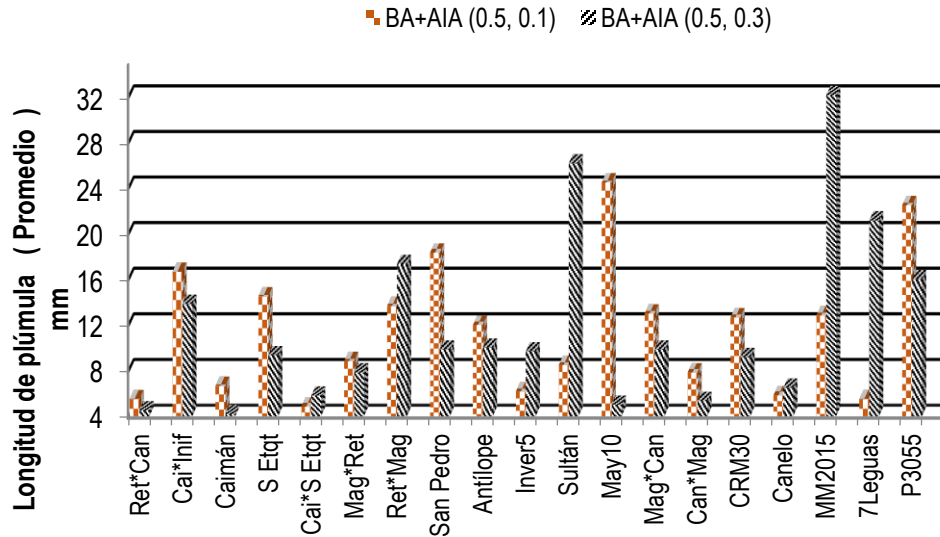


Figura 1. Longitud de plúmula a los 4 días del establecimiento *in vitro* de 19 intercruzas poblacionales (S_3) de embriones inmaduros de maíz con dos concentraciones de fitohormonas.

En el caso de longitud de raíz primaria de las poblaciones evaluadas que presentaron el mayor desarrollo para esta variable a los 4 días, en el tratamiento 1, fue la población SEtqt, P3055 y Antilope con un valor promedio de 14.8, 14.7 y 9.3 mm, respectivamente, mientras que en el tratamiento 2, se

observó que la población MM2015, Caimán x INIFAP y P3055 alcanzaron 17.8, 16.0 y 11.5 mm respectivamente. Finalmente, las poblaciones 7 Leguas, Invernadero 5 y Caimán presentaron poco desarrollo de raíz primaria a los 4 días (Figura 2).

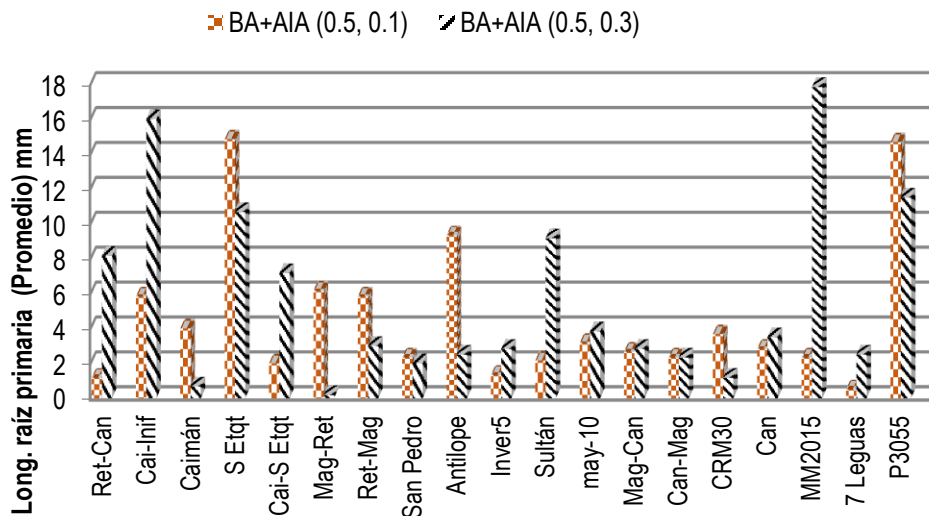


Figura 2. Longitud de raíz primaria a los 4 días del establecimiento *in vitro* de 19 intercruzas poblacionales (S_3) de embriones inmaduros de maíz en dos concentraciones de fitohormonas.

La población P3055 obtuvo la mayor longitud de plúmula a los 8 días del cultivo *in vitro*, en el tratamiento 1, con promedio de 56.7 mm, seguido de Caimán x INIFAP y San Pedro con 43.5 y 42.2 mm, respectivamente; en el tratamiento 2, el valor promedio más alto fue de 53.8 mm para la población 7 Leguas, mientras que la población Magno x Retinto, MM2015 y

Caimán x INIFAP presentan valores cercanos a los 45 mm, algunas poblaciones que a los 4 días no presentaban desarrollo de la plúmula, una vez transcurridos 8 días presentaron un crecimiento rápido, lo mismo poblaciones donde está involucrada la población Magno presentaron mayor tendencia de crecimiento (Figura 3).

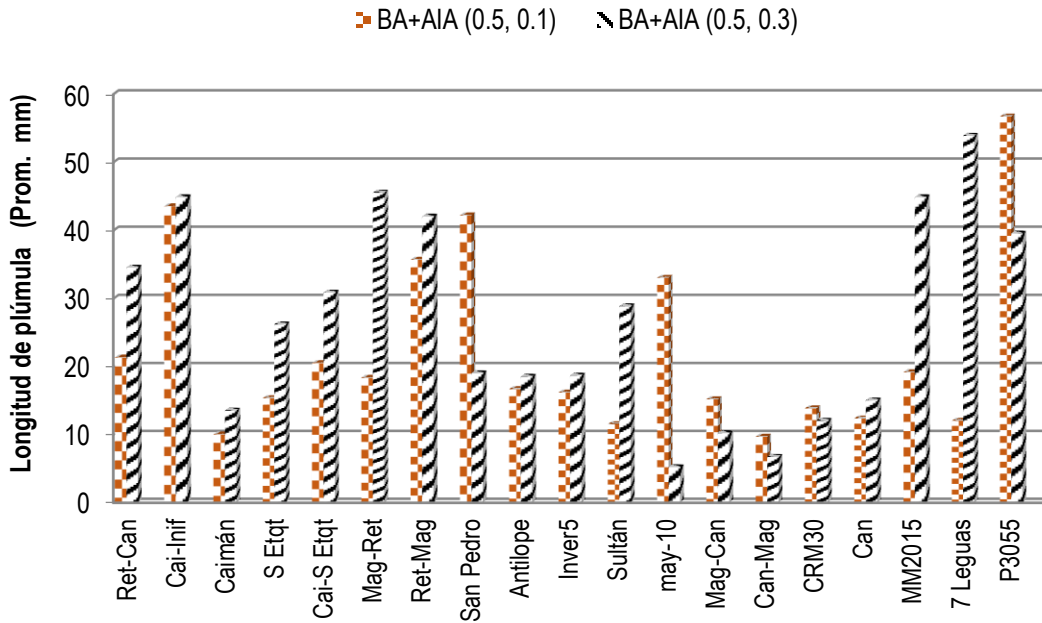


Figura 3. Longitud de plúmula a los 8 días del establecimiento *in vitro* de 19 interrazas poblacionales de embriones inmaduros de maíz en dos concentraciones de fitohormonas.

En la longitud de la raíz principal a los 8 días de la siembra aséptica *in vitro* de las cruza interpoblacionales, se observó que en el tratamiento 1, el valor más alto se logró fue en la población Ret x Mag, con un valor de 25.2 mm, seguido de P3055 y Caimán x INIFAP; mientras que en el tratamiento 2, el valor con

mayor relevancia lo alcanzó la población Ret x Can, con un valor promedio de 34.5 mm, seguido por la población SEtqt y MM2015. Es notable observar que la población Canelo, CRM30, Can x Mag, Invernadero 5 y Caimán, no lograron desarrollar su sistema radical (Figura 4).

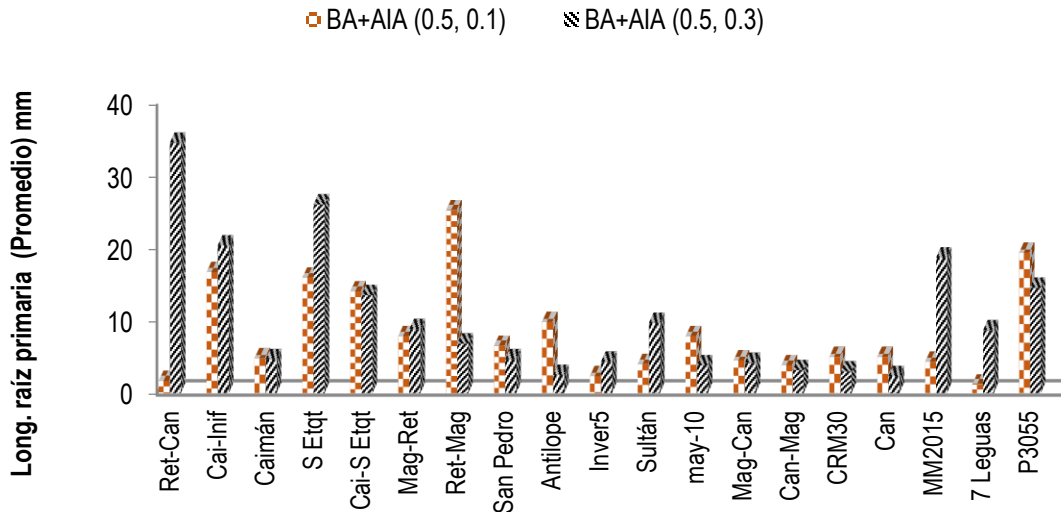


Figura 4. Longitud de raíz primaria a los 8 días del establecimiento *in vitro* de 19 intercruzas poblacionales de embriones inmaduros de maíz en dos concentraciones de fitohormonas.

La longitud y presencia de raíces secundarias a los cuatro días del cultivo *in vitro*, se observó en las poblaciones con promedios más altos del tratamiento 1, fue la población SEtqt y Mag x Ret con un valor promedio de 2.1 ± 0.9 y 1.9 ± 0.6 mm, mientras que para el tratamiento 2, fue la población Ret x Can y Magno x Retinto con valor de 9.4 ± 2.1 y 4.5 ± 1.7 mm, aunque el ANOVA no presentan diferencias estadísticas, el 78.9 % de los tratamientos no se observaron raíces secundarias. A los 8 días de la siembra aséptica en el tratamiento 1, el promedio más alto fue en la población SEtqt con 3.3 ± 0.2 mm, en el tratamiento 2, la población Ret-Can con promedio de 13.3 ± 2.4 mm.

Aunque existen numerosas investigaciones relacionadas del cultivo *in vitro* de embriones inmaduros de maíz, generalmente se enfocan a la regeneración vía embriogénesis somática. Son pocas las investigaciones que dan continuidad al crecimiento de la plúmula, donde se desarrollen plántulas endogámicas. Gusga y Kumlehn (2011) evaluaron el efecto de la concentración de azúcares en la regeneración de brotes de maíz al usar 0.75 % de sacarosa obtuvo una longitud del meristemo de 1.3 a 11.2 cm, mientras que el aumento de azúcares (sacarosa) pudo incrementar la longitud de la plúmula, los valores obtenidos en esta investigación en algunas poblaciones S₃, fueron superiores, con el empleo el 3% de sacarosa.

En investigaciones realizadas por López (2012) al evaluar plántulas de maíz provenientes de embriones inmaduros les permitieron obtener una longitud de plúmula de 12.4 a 17 cm, para la longitud de raíz obtuvo un rango de 10 a 21.2 cm evaluadas a los 12 días, mientras que en este experimento solo se mantuvieron de 4 a 8 días *in vitro*, con resultados similares también Akinyosoye *et al.* (2014) lograron valores similares de la longitud de la plúmula y raíz en cinco variedades de maíz. Carrillo y León (2014) al realizar el establecimiento del cultivo de embriones inmaduros de maíz de cuatro híbridos obtuvieron una mayor longitud de plúmula en un periodo de 5 días, tal vez, por el efecto del vigor híbrido se reflejo en los embriones que se comportaron fisiológicamente superiores. La variable longitud de raíz principal a los 4 días del cultivo *in vitro* con un valor de 1.15 a 1.86 mm; los resultados logrados en este experimento son prometedores, ya que en cualquier programa de mejoramiento se puede lograr reducir los tiempos y costos para la formación de líneas endogámicas y realizar las evaluaciones correspondientes para estimar los parámetros genéticos de interés.

El empleo de fitohormonas en el desarrollo de plántulas de maíz de líneas autofecundadas es benéfico. Torroba *et al.* (2008) mencionan que al usar bencil adenina (BA) lograron la elongación de la plántula *in vitro*, el enraizamiento y establecimiento en campo, datos que coinciden con esta investigación. Mathys *et al.* (1998) mencionan que la elongación de la plúmula y raíz la

obtuvieron con Zeatina, y fue menos eficiente al emplear BA. (Krishna *et al.* 2013; Ali *et al.* 2014 y Malini *et al.* 2015) regeneraron maíz tropical e híbridos, obtuvieron mejor formación de brotes con BA, KN y ANA. Akinyosoye *et al.* (2014) lograron el desarrollo de plántulas de maíz con BA y KN en 5 variedades de maíz; González *et al.* (2012) con el empleo de ANA obtuvieron el desarrollo de plántulas; hay que destacar Gorji *et al.* (2011) evaluaron BA y AIA en la regeneración de plantas *in vitro*, datos que coinciden con esta investigación; el empleo de diferentes reguladores de crecimiento permiten determinar que el

genotipo y tipo de fitohormona tiene influencia en el desarrollo de la plántula *in vitro*.

Del establecimiento *in vitro* de las 19 poblaciones sólo se logró la elongación, desarrollo y aclimatación de 16 poblaciones y su transferencia y establecimiento en suelo fue del 65% (Cuadro 2), el ANOVA determinó que la variable altura de planta (AltP45) presentan diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) y Número de hojas (NHoj45) a los 45 días del establecimiento en campo presenta diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

Cuadro 2. Cuadros medios del ANAVA de plantas establecidas en campo experimental del ITR provenientes del cultivo *in vitro* de embriones inmaduros de 16 poblaciones de maíz (P-V, 2016).

Fuente	gl	Alt45 [¶]	Nhoj45 [*]
Población	15	11302.69**	7.24 *
Error	63	558.05	1.17
Total	78	204697.87	182.43
CV (%)		20.67	13.12
R ²		0.82	0.59

*, ** Significativo a niveles de probabilidad de 0.05 y 0.01 respectivamente, ns = no significativo estadísticamente, ¶ = Altura de planta de maíz a 45 días, ¥=Número de hojas a los 45 días.

Los resultados de la prueba de comparación de medias (Tukey ≤ 0.05) determinó que las poblaciones que presentaron los valores promedios estadísticamente superiores en altura de planta a los 45 días, fue la población Antilope con un valor de 183.3 cm, el valor medio estuvo representado por la población May10 con

un valor 120.67 cm, el valor promedio más bajo se presentó en la población Magno x Canelo el cual alcanzó un valor de 33.33 cm (Cuadro 3). El número de hojas a los 45 días presentó el valor promedio más alto fue en la población P3055 con 10.3 hojas, el promedio de la población MM2015 fue de 9 hojas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Prueba de comparación de medias de altura de plantas y número de hojas a 45 días de 16 genotipos de maíz provenientes *in vitro* (P-V, 2016).

No prog	Población	Altp45 [¶]	Población	Nhoj45 [*]
1	Antilope	183.30 a	P3055	10.33 a
2	Magno x Retinto	159.75 ab	Caimán	10.00 ab
3	Siete leguas	150.86 abc	Antilope	9.25 ab
4	Canelo	149.00 abc	Magno x Retinto	9.12 abc
5	P3055	131.00 bcd	Antilope	9.00 abcd
6	CRM30	128.00 bcd	Retinto Canelo	9.00 abcd
7	Ret x Canelo	121.00 bcde	Siete leguas	9.00 abcd
8	May10	120.67 bcde	MM2015	9.00 abcd
9	Caimán	105.00 cdef	MY10	8.50 abcd
10	S Etqt	98.00 def	S Etqt	8.25 abcd
11	Caimán x Inifap	85.00 defg	Retinto Magno	8.20 abcd
12	MM2015	80.00 efg	CRM30	8.20 abcd
13	San Pedro	70.50 fgh	Caimán x Inifap	8.00 bcd

14	Retinto x Magno	64.60 fgh	Caimán x S Etqt	7.00 cd
15	Caimán x S Etqt	47.86 gh	San Pedro	6.91 d
16	Magno x Canelo	33.33 h	Magno x Canelo	4.66 e

Los valores con la misma letra en cada variable son estadísticamente iguales entre los diferentes tratamientos (Tukey \leq , 0.05), † = Altura de planta a los 45 días de establecido, ‡ = Número de hojas a los 45 días de establecido.

González et al. (2012) en resultados de su investigación en la etapa de aclimatación su porcentaje de sobrevivencia de plantas, fueron similares a los obtenidos en esta investigación. Cervantes et al. (2014) señalan que al evaluar densidades de población la variable de altura de planta a los 30 días de establecido el cultivo, obtuvieron valores parecidos dado sus factores de estudio; por otra parte Ramírez et al. (2016) en la variable número de hojas con un rango de 7.97 a

9.05 hojas, en la presente investigación los valores promedio fueron de 4.66 y 10.33 hojas totales, estos datos coinciden con la investigación presentada, a pesar de que las plántulas provienen de condiciones *in vitro*, y debido a la carencia del endospermo en su etapa inicial, mismo que pudiera afectar esta variable de respuesta agronómica, está en consideración su evaluación en campo en el ciclo (P-V 2017).

CONCLUSIONES

El proceso de endogamia en poblaciones de inter cruzas de híbridos comerciales en S₂ se realizó en forma exitosa. Los resultados del cultivo *in vitro* de embriones inmaduros de 19 poblaciones inter cruzas (S₃) de maíz, durante la elongación de la plúmula fueron diferentes sus respuestas fisiológicas para cada población evaluada. El proceso de desinfección de los embriones inmaduros de maíz se realizaron en forma adecuada, la contaminación se redujo a presencia mínima. La eficiencia de los embriones inmaduros durante su establecimiento *in vitro* fue de 90 %; durante el proceso de aclimatación se logró el 84.2%, y la

transferencia a suelo final se obtuvo un 76 %. Finalmente se llevó a cabo la polinización en un periodo de 60 días después de establecimiento de las plántulas de *in vitro* a campo y se cosechó a los 87 días las nuevas mazorcas endogámicas S₄. La técnica de cultivo *in vitro* de embriones inmaduros permite reducir en un 50% el tiempo en un programa de mejoramiento del maíz, en zonas donde se puede realizar un solo ciclo de siembra, debido a las condiciones de temperatura. Esta herramienta es una técnica potencial para fortalecer los programas de mejoramiento de maíz.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akinyosoye ST; Adetumbi JA; Amusa OD; Olowolafe MO; & Olosoji JO (2014). Effect of seed size on *in vitro* seed germination, seedling growth, embryogenic callus induction and plantlet regeneration from embryo of maize (*Zea mays* L.) seed. Nigerian Journal of Genetics 28. Online at www.sciencedirect.com
- Ali F; Ahsan M; Saeed A; Ahmed M; Ali Q; Kanwal N; Massub TM; Ijaz U; Bibi V; & Niazi NK (2014). Establishment and optimization of callus-to-plant regeneration system using mature and immature embryos of maize (*Zea mays*). International Journal of Agriculture & Biology. 16,111–117.
- Amara I; Odena A; Oliveira E; Moreno AM; Masmoudi K; & Pages M (2012). Insights into maize LEA proteins: from proteomics to functional approaches. Plant Cell Physiol. 53: 312–329.
- Beyona C; Warburton M; Mir C; & Charcosset A (2010). Migración del maíz a partir de su centro de origen, evidencias históricas genéticas y paleobotánicas. En C. De León, & R. Rodríguez Montessoro, *El cultivo del maíz temas selectos*. México, DF. Mundi-Prensa. pp.15.
- Carrillo RG; & León PN (2014). Efecto del silice en el rescate *in vitro* de embriones inmaduros endogámicos de maíz en cuatro híbridos comerciales. Tesis de licenciatura, ITR, Ext. Apaseo el Alto. pp. 44-48.
- Cervantes OF; Gasca OMT; Andrio EE; Rivera RJG; Mendoza EM; Guevara ALP; & Vázquez MF &

- Rodríguez HS (2014). Densidad de población y correlaciones fenotípicas en caracteres agronómicos y de rendimiento en genotipos de maíz. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México*, (2): 9-16.
- Copeland LO; & McDonald MB (2001). *Principles of seed science and technology*. 4th ed. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts 467 p.
- Duncan DR; Williams ME; Zehr BE; & Widholm JM (1985). The production of callus capable of plant regeneration from immature embryos of numerous *Zea mays* L. genotypes. *Planta*. 165: 322-332.
- Gusga L; & Kumlehn J (2011). Somatic embryogenesis and massive shoot regeneration from immature embryo explants. *Biotechnology Research International*. Vol 2011, ID 309731.
- García E (1973). Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen (adaptación a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía. UNAM. México, D.F. México. 264 p.
- Green CE; & Phillips RL (1975). Plant regeneration from tissue culture of maize. *Crop Science*. 15: 417-421.
- González EA; Islas GJ; Espinosa EC; Vázquez CA; & Wood S (2008). Impacto económico del mejoramiento genético del maíz en México. *Publicación Especial 25. INIFAP*. México, D.F. 88 p.
- González GA; Pacheco MG; Oneto CD; Etchart VJ; Kandus MV; Salerno JC; Eyherabide G; Presello D; & Lewi DM (2012). Somatic embryogenesis and plant regeneration capacity in Argentinean maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Electronic Journal of Biotechnology* ISSN: 0717-3458.
- Gorji AH, Zolnoori M, Jamasbi A, Zolnoori Z. (2011). In vitro plant generation of tropical maize genotypes. *International Conference on Environmental, Biomedical and Biotechnology IPCBEE* 16: 52-59.
- Krishna MP; Suresh T; Kazi MD; Kamrul H; Vineet KS; & Naraendra T (2013). An efficient and rapid regeneration via multiple shoot induction from mature derived embryogenic and organogenic callus of Indian maize (*Zea mays* L.). *Plant Signaling & Behavior*. 10: e25591.
- INIFAP (2016). Red de estaciones climatológicas en Guanajuato. Red <http://clima.inifap.gob.mx/redinifap/mx>
- Larque SBS; Islas J; González A; & Jolalpa JL (2013). Mercado de semillas de maíz en el Estado de México. Folleto técnico No. 57. INIFAP-CIRCE-CEVAMEX, MEX.
- López A. (2012). Exploración de tolerancia a sequía y *Fusarium spp.* bajo condiciones de laboratorio en maíz. Saltillo, Coahuila: UAAAN.
- Malini N; Ananadakumar CR; & Hariramakrishnan S (2015). Regeneration of Indian maize genotypes (*Zea mays* L.) from immature embryo culture through callus induction. *Jour. of Appl. and Nat. Sci.* 7 (1): 131-137.
- Mathys RE; Piola F; Le Deunff E; Mo R; & Dumas C (1998). *In vitro* development of maize immature embryos: A tool for embryogenesis analysis. *Journal of Experimental Botany*. 49 (322): 839-845.
- Monnier M (1978). Culture of zygotic embryos. En M. Monnier, *Culture of zygotic embryos*. Canadá: Univ. Of Calgary Press, pp. 277-286.
- Murashige T; & Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 15(3): 473-497.
- Odour RO; Njagi ENM; Ndung'u S; Machuka JS (2006). *In vitro* regeneration of dryland Kenyan maize Genotypes through somatic embryogenesis. *Int. J. Bot.* 2(2): 146-151.
- Ramírez C; González J; & Gómez J (2016). Posibilidades de selección por vigor inicial de planta de maíz en vivero. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 286-302.
- SAS (2002). *Statistical Analysis System. User's guide version 9.0: Statistics*. SAS Institute Inc, Cary, NC.
- SAGARPA (2015). *Agenda Técnica Agrícola de Guanajuato*. 2a edición, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, D.F. ISBN, 978-607-7668-42-8.
- SIAP (2013). *Situación actual y perspectiva del maíz en México 1996-2012*, México, D.F. SIAP. <http://www.siap.gob.mx/>
- Springer WD; Green CE; & Kohn KA (1979). An histological examination of tissue initiation from immature embryos of maize. *Protoplasma* 101: 269-281.
- Torroba MC; Paccapelo HA; Aguilera L; & Mazzola J (2008). Micropropagación de plantas en líneas experimentales de maíces forrajeros derivados de un cruzamiento entre *Zea mays* L. y *Zea diploperennis* Iltis, Doble y Guzmán. *Phyton*. 77: 93-102.
- Vasil V; Lu C; & Vasil IK (1985). Histology of somatic embryogenesis in cultured immature embryos of maize (*Zea mays* L.) *Protoplasma* 127: 1-8.
- Virgen VJ; Arellano IJL; Rojas MA; Ávila; & Gutiérrez GF (2010). Producción de semilla de cruces simples

- de híbridos de maíz en Tlaxcala, México. Rev. Fitotec. Méx. 33:107-110.
- Virgen VJ; Zepeda R; Ávila MA; Espinosa A; Arellano JL; & Gámez AJ (2014). Producción de semilla de líneas progenitoras de maíz: densidad de población e interacción. Agron. Mesoam. 25:323-335.
- Virgen VJ; Zepeda BR; Avila PMA; Espinosa CA; Arellano VJL; & Gámez VAJ (2016). Producción y calidad de semilla de maíz en valles altos de México. Agron. Mesoam. 27(1):191-206.
- Yan D; Duermeyer L; Leoveanu C; & Nambara E (2014). The Functions of the endosperm during seed germination. Plant Cell Physiol. 55(9): 1521–1533.
- Yeung EC; Thorpe TA; & Jensen CJ (1981). *In vitro* fertilization and embryo culture. In: T.A. Thorpe (ed.). Plant tissue culture: Methods and applications in agriculture. Academic, New York. p. 253–271.

EVALUACIÓN DE ALGUNOS COMPUESTOS NUTRACEUTICOS DE LA HARINA DE CHÍA

EVALUATION OF SOME NUTRACEUTICAL COMPOUNDS OF CHIA FLOUR

Medina-Santos L.C., Aguirre-Mancilla, C.L., Iturriaga de la Fuente G., Ramírez-Pimentel, J.G., Covarrubias-Prieto J., Raya-Pérez J.C.

Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque. km 8 carretera Celaya-Juventino Rosas. C.P. 38110. Celaya, Gto., México.

*Autor para correspondencia: juraya@itroque.edu.mx recibido: 30 julio 2017, aceptado 10 septiembre 2017

Artículo científico

RESUMEN

La semilla de chía (*Salvia hispanica* L.), es considerada como un alimento nutraceútico debido a su alto contenido de fibra, proteína y ácidos grasos omega-3. Moler la semilla es una alternativa para liberar los nutrientes y el sabor de las semillas, además de facilitar su adición en alimentos preparados. El objetivo de esta investigación fue evaluar los componentes nutraceúticos más destacados de la harina de chía como son los ácidos grasos y la fibra: se observó la calidad de fibra mediante pruebas de CRA (coeficiente de retención de agua) y CAMO (coeficiente de adsorción de moléculas orgánicas); la calidad de ácidos grasos fue determinada mediante HPLC; y se realizaron pruebas de aceptación en bebidas preparadas con harina de chía. Se determinó que la harina de chía presenta mayor CAA y CAMO que la

semilla entera de chía, mientras que los ácidos grasos al exponerse, mostraron degradación tras cuatro meses de almacenamiento en una atmósfera regular; se observó que la calidad de las proteínas no disminuye al moler la chía, en tanto las bebidas preparadas con harina de chía presentaron un porcentaje de aceptación mayor al 90%. Se determinó que la harina de chía sin desgrasar es una alternativa para preparar bebidas coloridas de alta aceptación, y con beneficios a la salud, aunque requiere de un consumo inmediato o bien, de almacenamiento al vacío y en ausencia de luz para aprovechar sus propiedades.

Palabras Clave: *Salvia hispanica*, bebida, nutraceúticos, chía

SUMMARY

Chia seed (*Salvia hispanica* L.) is considered a nutraceutical food because of its high content of fiber, protein and omega-3 fatty acids, grinding the seed is an alternative to release the nutrients and flavor of the seeds, besides facilitating their addition in prepared foods. The objective of this work was to evaluate the most important nutraceutical components of chia flour, fiber and fatty acids: Fiber quality was observed by CRA and CAMO tests; The quality of fatty acids was determined by HPLC; And acceptance tests were performed on beverages prepared with chia flour. It was determined that chia flour presents higher CRA and CAMO values than

whole chia seeds, while the fatty acids on display showed degradation after four months of storage in a regular atmosphere, it was observed that the quality of the proteins does not decrease by grinding the chia seed, while the drinks prepared with chia flour had an acceptance percentage greater than 90%. It was determined that non-defatted chia flour is an alternative to prepare colored drinks of high acceptance and health benefits, although it requires immediate consumption or vacuum storage in the absence of light to take advantage of its properties. Key words: *Salvia hispanica*, Beverage, nutraceutical, chia

INTRODUCCIÓN

Salvia hispánica L., es la especie más cultivada del grupo de las chías, es originaria de Mesoamérica y su mayor diversidad genética se presenta en la vertiente del Océano Pacífico (Cahill, 2004). En la época prehispánica fue una planta muy importante, sus semillas, su harina o su aceite fueron apreciados por sus usos medicinales, alimenticios,

artísticos y religiosos (Cahill, 2003). La superficie cultivada y la tradición cultural de *S. hispánica* se redujeron rápidamente a partir de la época colonial. En años recientes, la semilla de chía ha cobrado auge debido al redescubrimiento de sus propiedades (CECOOPSEMEIN, 2012). Los principales países productores de chía son México,

Guatemala, Bolivia, Colombia y Argentina (Capitani, 2013).

Se ha comprobado que *S. hispánica* L. contiene más proteína y aceite que otros granos, lo que la convierte en un alimento atractivo para países en desarrollo. Su semilla posee del 29-32% de aceite (Jiménez, 2013), el cual es rico en ácidos grasos omega-3 (58%) (Hernández, 2008), esenciales en la alimentación y efectivos para disminuir las afecciones cardiovasculares; cabe mencionar que la semilla de chía es la fuente vegetal más abundantes de omega-3 (Valdivia-López & Tecante, 2015), seguida de la semilla de lino.

Otra de las ventajas de la semilla de chía es su alto contenido de fibra soluble, cuya calidad y capacidad para arrastrar grasas y evitar el estreñimiento, puede ser determinada por el CRA (coeficiente de retención de agua) y el CAMO (coeficiente de adsorción de moléculas orgánicas). Adicionalmente, la semilla de chía contiene minerales y alto porcentaje de proteínas ricas en lisina y aminoácidos azufrados como metionina y cisteína (Ayersa, 2011).

Con el fin de promover y aumentar el uso de esta semilla en la alimentación, se han buscado distintas alternativas de consumo que faciliten su utilización y permitan aprovechar al máximo sus beneficios a la salud. Una de las alternativas de consumo más populares en los alimentos son las harinas, ya que son de fácil incorporación en distintos platillos, productos de panadería y pastelería y en variedad de productos industrializados. Sin embargo, comercialmente, la presentación más común de la harina de chía es desgrasada y parcialmente desgrasada, al consumirla de esta manera, no se ingiere el omega-3 que se encuentra en el aceite. El moler la semilla de chía para la obtención de harina sin desgrasar facilitaría su incorporación en distintos alimentos tanto industrializados como preparados en casa y podría mejorar el sabor y textura de éstos, aportando también omega-3 a la dieta de los consumidores. El objetivo de esta investigación fue evaluar los componentes nutraceuticos de la harina de chía, determinando la calidad de fibra mediante pruebas de CRA y CAMO.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Biología molecular del Departamento de Posgrado del Instituto Tecnológico de Roque, ubicado en el km 8 de la carretera Celaya-Juventino Rosas. La semilla de chía utilizada fue adquirida en el mercado de abastos de Celaya, Gto., se inspeccionó su calidad y limpieza de forma visual, se molió hasta obtener un tamaño de partícula de 7 micras, la harina tenía una humedad de 7%. A partir de esta harina se realizaron dos ensayos de conservación en paquetes de 50 g de harina: En uno la muestra fue guardada en bolsas cerradas de polietileno a temperatura ambiente (27°C) en un lugar libre de luz; y en el otro la muestra fue empacada al vacío en bolsas plásticas de tres capas y refrigerada a 7°C en ausencia de luz. Se evaluó mensualmente la calidad de proteínas, fibra y ácidos grasos de la muestra para determinar si había pérdida de sus propiedades. Para comparar la calidad de la fibra de la chía molida se utilizó chía molida desgrasada y salvado de trigo, para comparar.

Extracción de aceite para obtención de ácidos grasos. Se utilizó una modificación del método de Folch (1975). La harina molida de chía se sometió a maceración en una mezcla de cloroformo-metanol

en proporción 80:20 (v/v), con agitación constante en un equipo agitador por tiempo de 1 hora a temperatura ambiente (27°C). Posterior a la maceración se realizó un prensado manual y un filtrado en tela de gasa de 8 capas. El líquido obtenido en la filtración se dejó reposar destapado a temperatura ambiente por 2-3 días hasta evaporar la mezcla de solventes quedando únicamente el aceite en el frasco (Puttini, 2005).

Análisis de proteínas

La proteína se obtuvo por maceración de la harina desgrasada en una solución de TRIS + NaCl que se preparó como lo sugiere Velasco (2005) a temperatura ambiente durante 24 h, se realizó una separación por centrifugado a 12000 rpm por 15 min (microfuga eppendorf 5415D) obteniendo la proteína en el sobrenadante (Velasco, 2005). La proteína extraída se observó en geles de poliacrilamida al 12% en electroforesis; se utilizó un voltaje inicial de 60 volts en el gel de concentración y 100 volts en el gel de separación. Al término de la corrida las proteínas fueron fijadas (solución metanol + ácido acético 10%) durante una hora en agitación constante y teñidas (Azul de Coomassie en ácido Acético) (Shagger & von Jagow, 1987).

Análisis de ácidos grasos en HPLC

El aceite de chía fue transesterificado en un baño maría a temperatura constante (65-68°C), la reacción se llevó cabo a través del método propuesto por (Torossi, 2006). En este experimento se utilizó un cromatógrafo HPLC con un detector de absorbencia de luz UV. Los esterres de ácidos grasos obtenidos de la transesterificación fueron diluidos en metanol grado HPLC (1:1000) según lo recomendado en el manual de HPLC de Kromidas (2006), y fueron separados en una columna hidrofóbica (Kromidas, 2006).

Obtención de coeficiente de retención de agua

El análisis se realizó conforme al utilizado por Valencia y Román (2006), se pesó 1 g de cada muestra debido a la gran capacidad de absorción que tiene la chía y se añadieron 30 ml de agua se agitó manualmente hasta incorporar completamente y se dejó en reposo por 3 h, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min, inmediatamente se retiró el sobrenadante y se pesó (Valencia & Román, 2006).

Coeficiente de adsorción de moléculas orgánicas

El análisis se realizó conforme al utilizado por Valencia & Román (2006). Se pesó 1 g de cada muestra en un tubo y se añadieron 10 ml de aceite vegetal comestible, se agitó manualmente hasta incorporar y se dejó reposar por 3 horas, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 min, inmediatamente se retiró el sobrenadante y se pesó en balanza analítica (Valencia & Román, 2006).

Prueba de aceptación

Se elaboró agua fresca adicionada con chía de acuerdo a los usos y costumbres de la región agregando harina y semilla de chía a razón de 20 g/L. Se emplearon 3 sabores: limón, jamaica y el agua tradicional de limón con semilla entera como testigo. Se realizó una prueba afectiva de aceptación a las bebidas preparadas con chía utilizando 110 evaluadores no entrenados de acuerdo con Espinosa (2007), en la cual se preguntó a los evaluadores si consumirían la bebida. Posteriormente se obtuvo un porcentaje de aceptación para cada muestra (Espinosa, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de ácidos grasos por HPLC mostró un alto contenido de ácidos grasos insaturados de dieciocho carbonos (oleico y linolénico) en la muestra control que se expresan en el primer pico alrededor de los 0.5 minutos, como se puede observar en la Figura 1, la muestra almacenada al vacío por cuatro meses no muestra diferencias en la composición de ácidos grasos, sin embargo, la muestra almacenada en bolsa de polietileno sin aplicar vacío, presenta cambios en la composición de ácidos grasos, el pico principal en esta muestra, se presenta después del primer minuto, este pico puede representar productos de la autooxidación de los ácidos grasos, estos compuestos químicos pueden causar daños a la salud de los consumidores.

Estudios previos mencionan que los ácidos grasos insaturados del aceite de chía almacenado en ausencia de luz sin aplicar vacío no presentan cambios significativos aún después de 225 días de almacenamiento (Ixtania, 2012), (Bodoira, *et al.*, 2017), sin embargo, en el aceite de harina de chía almacenada los cromatogramas muestran cambios a los 120 días. Esto se podría deber al contacto del aceite con los demás componentes de la semilla que fueron liberados en el proceso de molienda, principalmente a la actividad de las lipasas, estas

son abundantes en las semillas de oleaginosas ya que se encargan de degradar los aceites en el proceso de germinación (Huang & Moreau, 1978).

Las proteínas de la harina de chía, de acuerdo con la figura 2, no presentaron cambios durante los cuatro meses de almacenamiento, en este caso también se utilizó harina de chía empacada al vacío por 29 meses, obteniéndose los mismos resultados, esto puede significar que las proteínas de la chía son muy estables en las condiciones en las que se llevó a cabo el almacenamiento. A pesar de que no existen estudios sobre la degradación de la proteína de chía, el resultado es aceptable ya que la chía fue almacenada libre de humedad, luz y alta temperatura, que son los principales factores que degradan las proteínas (Badui, 1990), además de que las fracciones proteicas con actividad enzimática se encuentran en proporción baja comparadas con las proteínas de reserva (Herrera, *et al.*, 2003).

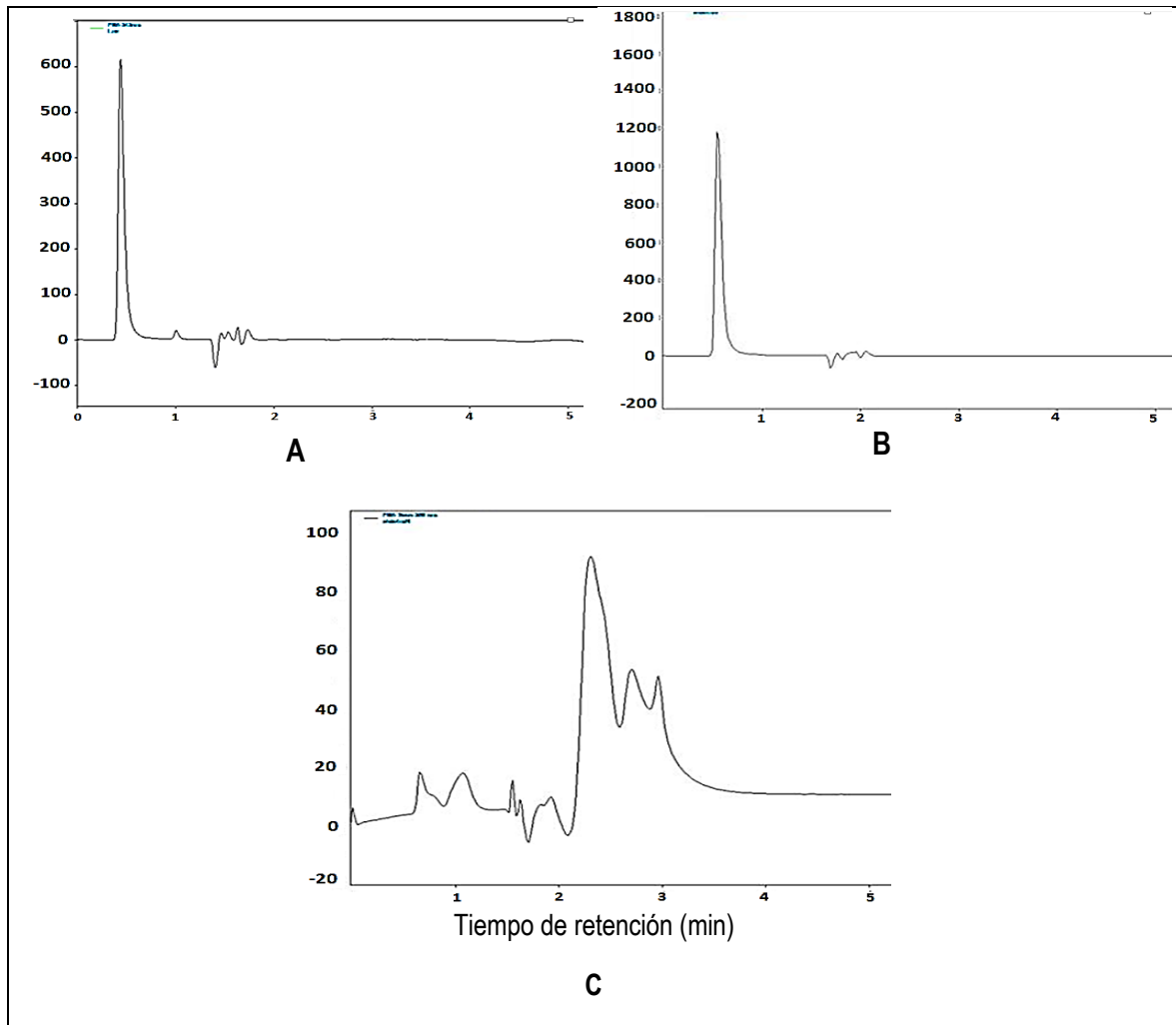


Figura 1. Cromatogramas de los ésteres de ácidos grasos extraídos de las muestras de harina de chía: A) chía recién molida; B) Chía conservada al vacío por cuatro meses; C) chía almacenada en atmósfera regular por cuatro meses.

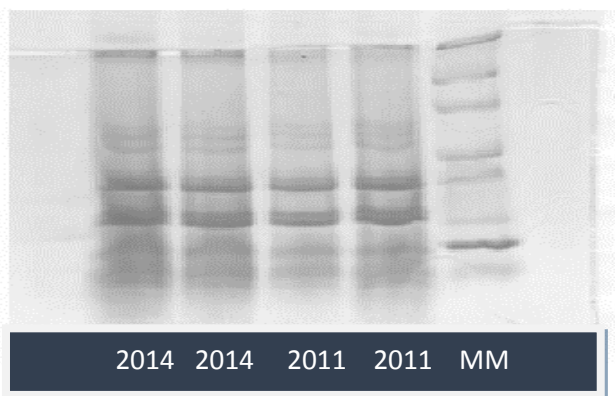


Figura 2. Perfiles electroforéticos de la proteína de harina de chía antes y después del almacenamiento con dos repeticiones: 2014: Harina recién molida; 2011: Harina almacenada al vacío por 29 meses.

CRA y CAMO

La figura 3. muestra los valores de CAMO y CRA en muestras de harina y semilla de chía, la capacidad de absorción de agua en la semilla molida resultó ser más alta que la reportada para concentrados comerciales de fibra (Valencia & Román, 2006) esto significa que la función principal

de la fibra de chía, al ser consumida, puede ser proporcionar una textura adecuada y un mayor volumen del bolo fecal. También se observa que el CRA es mayor en la semilla molida que en la semilla entera; puede observarse una ligera disminución del CRA tras largos periodos de almacenamiento, esto podría deberse a una degradación del mucilago.

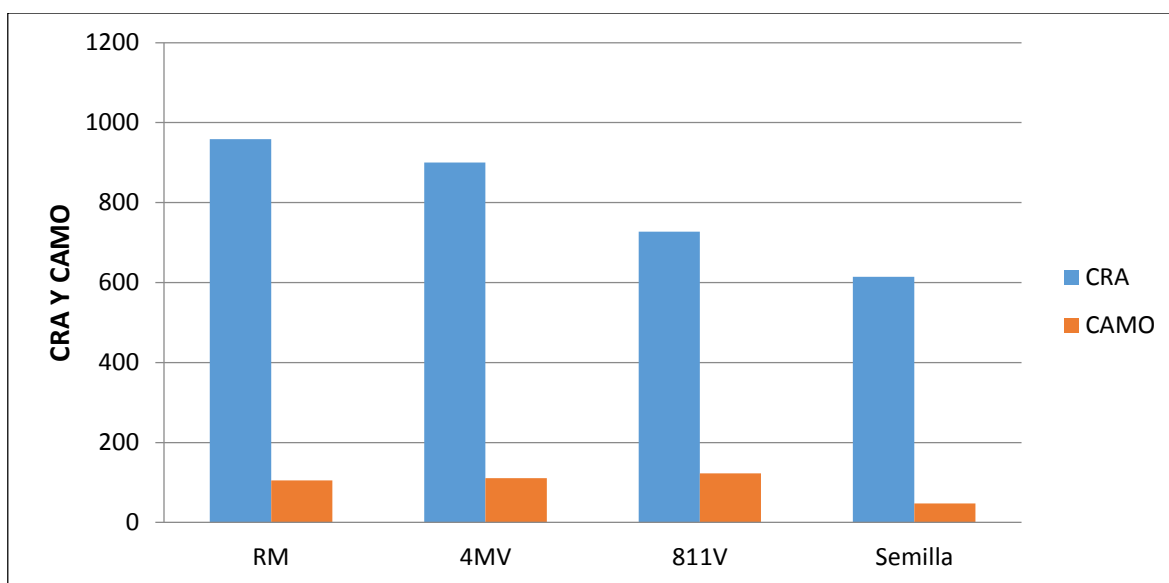


Figura 3. Relación entre CRA y CAMO en distintos periodos de almacenamiento de la harina de chía: RM) semilla de chía recién molida; 4MV) semilla molida con cuatro meses de almacenamiento al vacío; 811V) semilla molida almacenada al vacío por 29 meses.

La Figura 4 muestra el CRA y CAMO de la chía en distintas presentaciones, y se compara con el salvado de trigo, una de las fuentes de fibra más populares. Mientras el salvado de trigo tiene la capacidad de absorber agua y moléculas orgánicas casi al mismo nivel, la harina de chía tiene un efecto muy elevado en la absorción de agua, y un efecto

mínimo en la adsorción de moléculas orgánicas, esto se debe a un mayor contenido de celulosa en el salvado de trigo, los resultados obtenidos en la semilla entera concuerdan con estudios previos (Salgado, 2005). Se ha reportado que el CRA disminuye en la semilla molida, sin embargo, en este estudio, la semilla recién molida muestra un

CRA más alto que la semilla entera, esto puede ser debido a la variedad de chía empleada en el estudio. Se puede observar que moler la semilla también aumenta el CAMO, esto puede deberse a

que la superficie de contacto de la fibra aumenta, estas características presentan valores aún mayores para la harina desgrasada, esto se debe a un mayor porcentaje de fibra por gramo de harina.

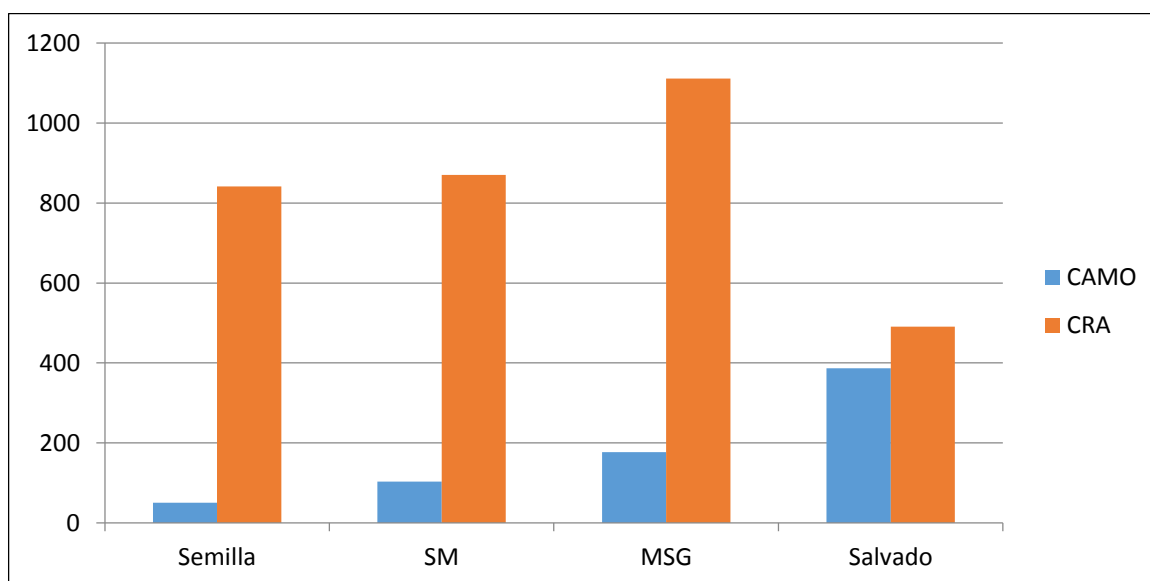


Figura 4. Análisis comparativo del CRA y CAMO de harina de chía en distintas presentaciones: SM) semilla molida de chía; MSG) semilla de chía molida y desgrasada.

Evaluación sensorial

El Cuadro 1 muestra los porcentajes obtenidos en la prueba de aceptación. En este cuadro se puede observar que la bebida preparada con semilla entera de chía fue más aceptada que las bebidas con harina de chía, sin embargo, el porcentaje de aceptación para estas bebidas fue de al menos el 90%, siendo el sabor más aceptado el de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*). Los evaluadores que no aceptaron el producto en bebida de limón

mencionaron que el color que la harina de chía le confiere a la bebida es desagradable, por lo cual sería recomendable añadir harina de chía solo a bebidas con color intenso o bien, blancas. Los evaluadores que rechazaron el producto en las bebidas de horchata y Jamaica mencionaron que la apariencia era muy agradable, sin embargo, no sentían agrado por la textura, ya que las partículas pequeñas son algo ásperas. La mayoría de los evaluadores, sugirieron mejorar la textura de las bebidas preparadas con harina de chía.

Cuadro 1. Porcentaje de aceptación de las diferentes bebidas complementación con chía.

Bebida	Porcentaje de aceptación
Limón con semilla entera de chía	96.3%
Limón con harina de chía	73.6%
Horchata con harina de chía	90%
Jamaica con harina de chía	94%

CONCLUSIONES

Los resultados de los experimentos realizados nos permiten concluir que: Los ácidos grasos de la harina de chía son muy susceptibles a la degradación, y requieren almacenamiento al vacío y en ausencia de luz; las proteínas de la harina de chía muestran estabilidad por largos periodos de almacenamiento; la capacidad de absorción de

agua y la capacidad de adsorción de moléculas orgánicas de la harina de chía son mayores que las de la semilla entera, aunque la capacidad de retención de agua de la fibra de chía es mayor a la del salvado, la fibra de salvado tiene mayor capacidad de adsorción de moléculas orgánicas. El uso de harina de chía es una alternativa aceptable

para obtener beneficios a la salud, siempre y cuando esta sea recién molida o conservada al vacío hasta su consumo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayersa, R. (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Industrial Crops and Products* 34(2): 1366-1371.
- Badui, S., 1990. *Química de los alimentos*. México D. F.: Editorial Alhambra Mexicana.
- Bodoira, R., Penci, M., Ribotta, P. & Martínez, M., 2017. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. *LTW-Food Science and Technology* 75: 107-113.
- Cahill, J. P. (2003). Etnobotany of Chia, *Salvia hispánica* L. (Lamiaceae). *Economic Botany*, 57(4):604-618.
- Cahill, J. P. (2004). Genetic diversity among varieties of Chia (*Salvia hispanica* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 51(7): 773-781.
- Capitani, M. I. (2013). Caracterización y funcionalidad de subproductos de Chía (*Salvia hispánica* L.) aplicación en tecnología de alimentos. Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de la Plata.
- CECOOPSEMEIN. (2012). Guía técnica para el manejo del cultivo de chía en Nicaragua. Nicaragua: sebaco.
- Espinosa, J. (2007). Evaluación Sensorial de las Alimentos. La Habana, Cuba: Editorial Universitaria.
- Hernández, G. J. (2008). Caracterización Morfológica de Chía. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(2):105-113.
- Herrera, C., Bolaños, N. & Luts, G., 2003. *Química de Alimentos*. San José, Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Huang, A. & Moreau, R., 1978. Lipases in the Storage Tissues of Peanut and Other Oil Seeds during Germination. *Planta* 141: 111-116.
- Ixtania, V., 2012. Oxidative Stability of Chia (*Salvia hispanica* L.) Seed Oil: Effect of Antioxidants and Storage Conditions. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 89(6): 1077-1090.
- Jiménez, P. Masson S, Lilia; Quitral R, Vilma (2013). Composición química de chía, linasa y rosa mosqueta y su aporte en ácidos grasos omega-3. *Revista Chilena de Nutrición* 155-160.
- Kromidas, S. (2006). *HPLC Made to Measure*. Saarbrücken: Wiley- VCH.
- Puttini, Miguel A.; Vuarant, Carlos M.; Fournier, Julio; Lesa, Claudia; Huter, César; Ruiz Díaz, Juan; Romero, Analía (2005). Determinación de ácidos oleico y linoleico del suero sanguíneo humano por HPLC de fase inversa. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 16 (30): 179-192.
- Salgado, C. M., 2005. Estudio de las propiedades funcionales de la semilla de chía (*Salvia hispánica* L.) y de la fibra dietaria obtenida de la misma. Guanajuato, Gto., Instituto Politécnico Nacional, pp. 358-366. www.respyn.uanl.mx/especiales/2005/ee-13-2005/.../CNA53.pdf consultado agosto 2017
- Shagger, H., & von Jagow, G. (1987). Tricine-sodium dodecyl sulfate- polyacrilamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry* 166: 368-379.
- Torossi, F. D. (2006). Reacciones en contexto: la transesterificación en la producción de biodiesel a partir de aceite de fritura usado. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, 3:43-49.
- Valencia, F., & Román, M. (2006). Caracterización fisicoquímica y funcional de tres concentrados comerciales de fibra dietaria. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 13(2): 54-60.
- Valdivia-López, M. Á., & Tecante, A. (2015). Chia (*Salvia hispánica*) A Review of Native Mexican Seed and its Nutritional and Functional Properties. *Adv. Food Nutrit. Research* 75: 53-75. doi:10.1016/bs.afnr.2015.06.002
- Velasco, R. (2005). Marcadores moleculares y la extracción de ADN. *Revista Biotecnología Facultad de Ciencias Agropecuarias* 3(1): 14-18. <http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotecnologia/article/viewFile/19/12>

EL CHILE (*C. annuum* L.), CULTIVO Y PRODUCCIÓN DE SEMILLA

CHILI CULTIVATION AND SEED PRODUCTION

Aguirre-Mancilla, CL., Iturriaga de la Fuente G., Ramírez-Pimentel J.G., Covarrubias-Prieto J., Chablé-Moreno F., Raya-Pérez J.C.

Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Roque. km 8 carretera Celaya-Juventino Rosas. C.P. 38110. Celaya, Gto., México.

*Autor para correspondencia: juraya@itroque.edu.mx recibido: 30 julio 2017, aceptado 10 septiembre 2017

Artículo de revisión

RESUMEN

El chile en México es uno de los cultivos más importantes, desde los puntos de vista cultural, agronómico, nutricional y económico. Por ser el centro de origen y domesticación de la especie *Capsicum annuum* L. se han originado una gran variedad de formas, colores y tamaño de fruto y existen poblaciones silvestres que es necesario estudiar y preservar. La cantidad de hectáreas sembradas en nuestro país son 149,000 ha, sin embargo, dependemos de semilla importada para la siembra de este cultivo o, en otros casos, no se cumplen las especificaciones ni se tienen los cuidados para lograr una semilla de calidad. Incluso en los lugares donde se producen las plántulas para el trasplante se tiene la presencia notable de plagas y enfermedades. Se considera que es importante recalcar los usos y bondades del chile, brindar información sobre el cultivo y su manejo adecuado y algunos lineamientos para los cuidados necesarios para la reproducción de esta especie.

Palabras clave: *variedades, capsaicinoides, calidad de semilla, autógama, sanidad vegetal.*

ABSTRACT

The chili pepper in Mexico is one of the most important crops, from the cultural, agronomic, nutritional and economically standpoints. As it is the center of origin and domestication of *Capsicum annuum* there have originated a variety of forms, colors and fruits, and wild populations that is necessary to study and preserve. The number of hectares planted in our country are 149,000, however, they are dependent on imported seed for planting this crop or, in other cases, the specifications are not met or must care for achieve quality seed. Even in places where seedlings for transplanting occur, there is a notorious presence of pests and diseases. It is considered important to stress the uses and benefits of chili pepper, providing information on cultivation and its proper management and some guidelines for the necessary care for this species reproduction.

Key words: *varieties, capsaicinoids, seed quality, autogamous, plant health.*

INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) es una especie hortícola de gran importancia por el valor de su producción. Se cultiva en todos los estados de la República Mexicana, desde el nivel del mar, hasta los 2500 m de altura; y por ser el centro de origen, se han generado una gran diversidad de tipos, principalmente de la especie *C. annuum*, por lo que constituye un recurso valioso para el mejoramiento genético. La importancia de este cultivo reside en el hecho que al ser un cultivo intensivo, requiere una elevada cantidad de mano de obra, de 120 a 200 jornales por hectárea cosechada, aproximadamente (Arroyo, 2012). Se caracteriza por la heterogeneidad de formas, tamaños y colores del fruto. De las variedades cultivadas de chile en México, por su importancia económica, sobresalen diez variedades o tipos diferentes, donde se incluye al chile piquín silvestre, que se ubica dentro de *C. annuum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser and Pickersgill syn. *C. annum* L. var. *aviculare* (Dierbach) (Nuez et al., 1996; González-Jara et al., 2011; Reddy et al., 2014). Los tipos de chile más importantes en el ámbito nacional son el ancho, jalapeño, serrano, mirasol (conocido en seco como guajillo) y dulce o pimiento morrón que representan de 70 a 80 % de la producción nacional; en los primeros, tipo picante, su consumo es principalmente nacional, en tanto los tipos dulces se destinan al mercado de exportación. El consumo per cápita de chile verde es de 16 kg anuales (SAGARPA, 2017). Otros tipos comunes de chile en México, aparte de los ya mencionados, son el pasilla, de árbol, piquín, habanero, manzano, morita, mulato, poblano, entre otros (Pozo et al.,

1991). Debido a su variedad de climas, México contiene una gran cantidad de formas. De las 22 especies descritas del género *Capsicum*, cinco han sido domesticadas: *C. annuum*, (chile “común”, verde o serrano, jalapeño, negro, de árbol, pasilla, ancho) *C. baccatum*, *C. chinense*, (Habanero) *C. frutescens* y *C. pubescens* (manzano o perón) (Tucuch, 2011). La superficie mundial sembrada de chile asciende a 1.7 millones de hectáreas y una producción de 29,939,029 toneladas (Macías-Rodríguez et al., 2013). En el ámbito mundial, China es el mayor productor, seguido de México, Turquía, EE.UU., España e Indonesia. Los principales países importadores son EE.UU, Alemania, Reino Unido, Francia, Holanda y Canadá (Azofeifa y Moreira, 2008; SAGARPA 2017). La producción de chile seco es de gran importancia en México; el chile guajillo (*C. annuum* L.) es uno de ellos y se usa principalmente para la elaboración de pastas para moles que se incorporan en diferentes platillos regionales. Los estados donde más se cultiva este tipo de chile son Zacatecas y Durango y, en menor escala San Luis Potosí, Chihuahua, Aguascalientes y Jalisco. Es importante señalar que los agricultores prefieren y siembran variedades nativas, ya que las mejoradas o los híbridos no tienen el mismo sabor y, por lo tanto, el sabor del mole y otros platillos cambia o no es de la calidad acostumbrada (Macías-Rodríguez et al., 2013).

El chile está presente en la cocina de la mayoría de los países del mundo debido a que durante la Colonia, los españoles lo dieron a conocer en Asia a través de la Nao de China que viajaba de Acapulco a Manila y es a partir de Filipinas que su consumo se

adoptó por muchos países como China y la India. Los usos del chile son diversos: como condimento, colorante u hortaliza; en forma natural o industrializado, en salsas, enlatados, seco, en polvo o en conservas. Los pueblos árabes lo emplean como afrodisíaco y antidisentérico. A principio del Siglo XX se recomendó el chile como un remedio eficaz contra las hemorroides y en África se usa para combatir las infecciones intestinales, así como para eliminar parásitos intestinales, controlar la diarrea, como astringente, cicatrizante y antihemorroidal (referencia). Los chiles rojos, especialmente los tipos picantes y secos, tienen componentes como la vitamina A, mientras que los dulces y frescos suministran suficiente vitamina C para cubrir los requerimientos diarios que son entre 80 y 150 mg (Long-Solís, 1986; Reddy *et al.*, 2014). De caroteno se requieren 4,800-6,000 µg de β-caroteno (Tabla 1) (Aguirre-Hernández y Muñoz-Ocoteo, 2015).

El chile piquín se encuentra ampliamente distribuido principalmente en toda la zona costera del país desde Sonora hasta Chiapas por el Océano Pacífico y desde Tamaulipas hasta Yucatán y Quintana Roo por el Océano Atlántico en donde es muy conocido y recibe una diversidad de nombres locales (González-Jara *et al.*, 2011). Este tipo de chile es pequeño, es más picoso que otros y se torna rojo al madurar. La composición bioquímica del chile piquín presenta una amplia variación en las etapas de maduración de los frutos; *C. annuum* var. *aviculare* es considerado como el ancestro silvestre de todas las formas de chiles cultivados conocidos dentro de esta especie (Jalapeño, Serrano, Ancho, Pasilla, Guajillo, de Árbol, etc.) (Vela, 2009). El chile Piquín tiene un

sabor agradable característico y una pungencia identificada por sus consumidores, quienes lo describen como “arrebatao” o “no rabioso”, lo cual significa que, aunque es muy picoso, esa sensación desaparece rápidamente. A pesar de lo picoso, está caracterizado como no irritante al estómago (Vela, 2009). El chile Serrano o verde, principal variedad por volumen y valor, se produce durante la mayor parte del año. La cosecha del ciclo otoño-invierno inicia en diciembre y concluye en agosto, los principales estados productores son Chihuahua, Sinaloa y Zacatecas (SIAP, 2010; SAGARPA, 2017). Los tipos de chile de mayor consumo en México son: los Anchos, Jalapeños, Serranos (verde), Mirasol (conocido como guajillo en seco) y pimiento o Campana. El pimiento se destina para consumo en fresco al interior del país pero la mayor parte se exporta a los Estados Unidos (SAGARPA, 2017). En la zona del Golfo (Veracruz y Tamaulipas) se producen mayormente Jalapeños y Serranos; en la zona Sur (Yucatán y Tabasco) se producen Jalapeños, Costeños y Habaneros; en la zona de El Bajío (Guanajuato, Jalisco y Michoacán) se producen Anchos, Mulatos y Pasillas; en la zona de la Mesa Central (Puebla e Hidalgo) se especializan en Poblanos, Miahuatecos y Carricillos; en la zona Norte (Chihuahua y Zacatecas) se producen Jalapeños, Mirasol y Anchos; y en la zona Pacífico Norte (Sinaloa, Sonora y Baja California), se especializan en Pimiento, Anaheim, Jalapeños y Caribes, principalmente para exportación. En cuanto al nivel tecnológico, este es mayor en la zona Pacífico Norte, zona Norte y zona de El Bajío (Ramírez-Juárez, 2015; Aguirre-Hernández y Muñoz-Ocoteo, 2015).

CAPSAICINOIDES

Los capsaicinoides se sintetizan y se acumulan en la placenta de los frutos; además de proporcionar el sabor picante, son utilizados por la industria farmacéutica, de armas, cosmética, en pinturas, entre otras, como ingrediente activo de diversos productos. Los niveles de escozor en el chile están determinados por dos factores: los genéticos de la planta y los que interactúan con el medio ambiente. Estudios realizados han demostrado diferentes respuestas del efecto del estrés hídrico y la nutrición mineral sobre el contenido de capsaicinoides. Reportes recientes indican que la fertilización nitrogenada incrementa el contenido de estos, aunque la interacción con el ambiente es importante para determinar el nivel de pungencia (Sambhi *et al.*, 1977; Reddy *et al.*, 2014). La pungencia en la mayoría de los chiles se debe a la presencia de alcaloides como la capsaicina (C), dihidrocapsaicina (DHC), nordihidrocapsaicina (NHC), homocapsaicina, homodihidrocapsaicina y nonivamida; los cuales difieren entre sí por la longitud de sus cadenas alifáticas. La C y DHC aportan entre el 80 y 90% del total de la pungencia (Sambhi *et al.*, 1977; Wesolowska *et al.*, 2011).

Las oleorresinas, extractos de especias con solventes, están fabricadas de chiles picantes deshidratados, se utilizan comercialmente en la industria alimenticia, para agregar un sabor picante a la comida y a la farmacéutica, como estimulante (Aguirre-Hernández y Muñoz-Ocotero, 2015).

La oleorresina de *Capsicum* se usa como condimento para preparar ciertos embutidos como

chorizos, salchichas y mortadelas; también se condimenta la mayonesa, la salsa cátsup y muchas otras (Long-Solis, 1986).

La oleorresina de paprika se considera como un extracto líquido graso de viscosidad media obtenido a partir de los frutos de pimentón (*Capsicum annuum* L.). Su alto contenido en carotenoides es la razón de los colores rojo (capsantina y capsorubina) y amarillo (violoxantina, β -caroteno, β -cryptoxantina). La paprika y su oleorresina son considerados productos de gran valor en mercados internacionales para las industrias alimentarias y farmacéutica, en las cuales su principal uso es como colorante natural por su alto contenido de capsantina y capsorubina (López-Hernández *et al.*, 1996).

Tabla 1. Composición química de *Capsicum annuum*.

Componente	Porcentaje
Agua	91
Almidón	0.81
Fibra	2.2
Pectina	0.73
β -caroteno	0.92 mg/100 g peso fresco
Vitamina C	34-192 mg/100 g peso fresco
Ácido málico	208 mg/ 100 g peso fresco

Tomado de López-Hernández *et al.*, 1996 y Sambhi *et al.*, 1977.

MANEJO DEL CULTIVO

La producción nacional de chile fresco o verde fue de 2.3 millones de toneladas en el 2015; se produjeron en 149,000 hectáreas y su rendimiento osciló entre 3.0 y 37 t ha⁻¹ en los estados de Puebla y Nuevo León junto con Tamaulipas y Sinaloa; el mayor rendimiento se obtuvo bajo sistemas de agricultura protegida (SAGARPA 2017).

El jalapeño es una planta anual en zonas templadas y perennes en las regiones tropicales, presentando tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro; la planta promedio puede alcanzar la altura de 60 cm (Valadez, 2001). Este autor menciona que se siembra en almácigos, ya sea a campo abierto o en invernadero; en lo que refiere a almácigos a campo abierto, con 500 g de semilla sembrada en una superficie de 50 m² se obtienen suficientes plántulas para una superficie comercial. Respecto a la densidad de población, el promedio es de 20,000 a 25,000 plantas por hectárea; la distancia puede ser de 0.92, 1.00 y 1.20 m entre surcos, lo cual depende del tipo de chile, maquinaria empleada y región, entre otros; la distancias entre plantas varía de 40 a 50 cm. En el Norte de Guanajuato (San Diego de la Unión) se acostumbra sembrar a principios del año (enero) formando melgas de 5 metros de largo por uno de ancho; se colocan varas en forma de arco y se esparce la semilla sobre el suelo, se cubre con detritus de hojas, se riega, se cubre con plástico y se espera a la emergencia. Cuando esta ocurre se retira el plástico de encima del suelo y se coloca sobre las varas en forma de arco; al crecer las plántulas se cambia el plástico por arpillas y cuando la plántula alcanza la altura deseada se trasplanta. Estos productores utilizan una gran cantidad de semillas

para la siembra, dado que el porcentaje de germinación es bajo; la colectan año con año y siempre siembran la del año anterior.

Cuando se siembra en charolas estas llevan un proceso de desinfección; se sumergen en una tina con una solución de 20 L de cloro comercial y 4 kg de cal (hidróxido de calcio) en 800 L de agua a temperatura ambiente durante 20 minutos para después dejarlas reposar durante 24 horas. Como siguiente paso, se utiliza un sustrato que consiste en una mezcla de diferentes tipos de materiales como Kekilla y Sunshine N° 6 en proporción 3:1 y vermiculita que sirve para cubrir las semillas. Se obtiene un mayor porcentaje de germinación al emplear semillas grandes. La plántula de chile producida en charolas de polietileno (o unice) reduce las pérdidas ocasionadas por organismos dañinos, reduce el uso de agroinsumos y acorta el ciclo de cultivo, así como, las pérdidas por la presencia eventual de vientos, lluvias y otros que se puedan presentar. Este tipo de plántula tiene más ventajas, mayor cantidad de sistema radicular y con cepellón (las raíces con el suelo adherido), hay un mejor control de enfermedades como el "damping off" o ahogamiento que es más difícil de controlar en la plántula producida en planteros de piso. El uso de semilla certificada incrementa sensiblemente los costos, pero debe valorarse la importancia de obtener plántulas sanas y bien formadas. En las principales zonas productoras de chile, se ha generalizado el uso de las charolas para producir la plántula bajo el sistema de invernadero; es posible conseguirlas para almácigos que varían en tamaño y número de cavidades, siendo las más comunes las

de 200, 178 y 120. Para el cultivo de chile se sugiere la de 200 cavidades, la cual en su parte superior es un cuadro de 3 x 3 cm y tiene la forma piramidal o cónica hacia la parte inferior con una profundidad de 7 cm (Macías-Rodríguez *et al.*, 2013; Ramírez-Juárez, 2015). La siembra se realiza depositando una semilla por cavidad y una vez realizada se procede a cubrir la semilla con el mismo sustrato; después de ello se da un riego con regadera o aspersor cuidando que la gota sea fina para no descubrir la semilla; el riego se realiza hasta saturación y se espera a que escurra el exceso de agua. Las charolas deben estar separadas del piso un mínimo de 30 cm para permitir aireación e impedir que las raíces salgan y hagan contacto con el mismo. La fertilización es vital para la producción de plántulas en charola y las fuentes sugeridas son nitrato de amonio, 18-46-00 (fosfato diamónico) y sulfato de potasio, en dosis de 100, 35 y 90 g respectivamente, en 200 L de agua. Se debe regar con dicha solución a partir de los 10 a 12 días de la emergencia de la plántula; al inicio, regar con medio o un litro de agua y casi al final, los riegos son de 2.5 a 3.0 L de agua por charola.

Valadez (2001) menciona que el momento más oportuno del trasplante es cuando han transcurrido 60 días o cuando la plántula tenga de 8 a 12 hojas verdaderas, cuando aparece la primera bifurcación en el tallo; las plántulas producidas en almácigos en piso tarda hasta 95 días después de la siembra para estar a punto de trasplante (Macías-Rodríguez *et al.*, 2013). En ese periodo, las raíces de las plántulas han explorado todo el sustrato contenido en la charola y es necesario trasplantarlas a macetas o al campo; en

caso contrario, presentarán marchitamiento por falta de agua y hojas amarillentas que comenzarán a caerse. El hoyo para el trasplante debe ser del tamaño del cepellón que lleva la plántula, teniendo cuidado que no sea mayor, porque se corre el riesgo de que se presenten pudriciones del cuello y tallo; en este estado de desarrollo, es fácil que sean atacadas por hongos (Valadez, 2001).

Dentro de las labores realizadas, se lleva a cabo el aporque una vez por mes con la finalidad de eliminar malezas y mantener el suelo en la base del tallo de la planta limpia y aireada, con la finalidad de que la planta no presente daño por pudrición radicular. Para el establecimiento en invernadero, las macetas deben formarse en hileras de 1.60 m por 50 cm de separación entre plantas, de tal manera que en 1,500 m² se colocan trece hileras con 140 plantas cada una, con un total de 1,820 plantas, lo que representa 1.2 plantas por metro cuadrado, equivalente a 12,133 plantas por ha (Valadez, 2001). Para el control de plagas y enfermedades se utilizan los siguientes productos: insecticidas; Protek® 150 ml y Karate® 80 ml, fungicidas; Phytón® 150 ml, Amistar® 80 g Aliette® 100 g. La aplicación de estos productos es única con un aspersor de 120 L y se realiza por la tarde. Para controlar mosquita blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) y Araña roja (*Tetranychus urticae*), los productos utilizados son Confidor® y Mustang®, aplicados tres veces por semana, hasta controlar la plaga. El minador de la hoja (*Liriomyza trifolii*) se controla con Confidor® (imidacoprid), también se aplica insecticida Mustang® (Zetametrina) mientras que para la cenicilla (*Oidium mangiferae*) se aplica

Tilt 250 CE (Propiconazol) (García-Tierrablanca, 2014; Castellón-Martínez *et al.*, 2014).

Las plantas pueden ser podadas para inducir rejuvenecimiento del cultivo. En plantas jóvenes se recomienda quitar las primeras flores para estimular el crecimiento vegetativo y lograr mayor amarre y mejores frutos (Arthur *et al.*, 2003). Para evitar contaminación de planta a planta las tijeras utilizadas se desinfectan entre cada poda sumergiéndose en cloro comercial al 5%. Solo se deben dejar brotes nuevos y sanos, realizando el corte 2 cm arriba del entrenudo de la planta. Por ejemplo, el virus del mosaico del tabaco puede persistir décadas en los restos de plantas infectadas. El virus del mosaico del pepino ha sido detectado en *N. glauca*, "tabaco silvestre", (solanácea) por lo cual es necesario tomar precauciones y llevar un control adecuado de maleza (Macías-Rodríguez, *et al.*, 2013).

Nuez (1996) recomienda que la distribución de los fertilizantes se realice en función de la técnica del cultivo y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en los análisis de suelo, mencionando que todos los fertilizantes se suelen aportar normalmente mediante fertirrigación. Tanto los fertilizantes sólidos como los líquidos deben estar disueltos en agua a una concentración tolerada por el cultivo y permitida por la calidad del agua de riego, donde la solución debe ser preparada lo más cerca posible al momento de la aplicación; el pH de la solución para el caso de plántulas se recomienda entre 5.5 y 6.5 (Guerrero-Ramos, 2015). La dosis de fertilización con la cual se han obtenido buenos rendimientos es la de 180-80-80. La mitad del N, todo el P y todo el K se aplica

antes de efectuar el primer riego. Poco antes del quinto riego se fertiliza con la otra mitad del N. Para la primera aplicación se pueden usar 440 kg de sulfato de amonio; 410 kg de superfosfato de calcio simple y 160 kg de sulfato de potasio por ha. Se puede usar cualquier otro tipo de fertilizante nitrogenado fosfatado o potásico, pero respetando el tratamiento sugerido (Ramírez-Juárez, 2015).

La aportación de fertilizantes tiene que hacerse de forma equilibrada entre todos los elementos nutritivos. Se ha comprobado que el elemento que se encuentra presente en menor cantidad limita el rendimiento de la cosecha. Sin embargo, no se refiere sólo a los elementos nutrimentales, sino que también influyen factores como suelo, clima, enfermedades y plagas (Ramírez-Juárez, 2015).

Si se parte desde cero y se aportan al suelo cantidades crecientes de elementos nutritivos, se observa que el incremento de producción es muy grande al principio, pero va disminuyendo progresivamente, hasta que llega un momento en que la producción no aumenta. A partir de aquí, la producción disminuye al aumentar la dosis de fertilizante. Algunos datos muestran que las primeras unidades de fertilizante aplicados son las más eficaces.

Para alcanzar el máximo rendimiento es necesario aplicar dosis altas de nitrógeno más bajas de fósforo e intermedias de potasio. Sin embargo, dosis excesivas de nitrógeno causan una caída en la producción. Este efecto inhibitor es bastante menos acusado con el fósforo y el potasio.

En los oligoelementos se alcanza el rendimiento máximo con dosis muy pequeñas; pero un pequeño exceso produce efectos inhibidores, por lo cual se debe tener cuidado al manejarlos. En chile habanero se encontró que la aplicación de reguladores del crecimiento promovió un mayor crecimiento reproductivo y vegetativo, con mejor amarre de flor y fruto, así como de rendimiento. El producto comercial Maxigrow fue el que dio mejores resultados, con una producción de 46 ton ha⁻¹ de fruto fresco (Ramírez-Luna *et al.*, 2005). La antiauxina ácido toluifalámico extiende la etapa productiva de primavera y de invierno bajo condiciones de invernadero en cultivos de jitomate (*Solanum esculentum*), papa (*S. tuberosum*) y chile; estas últimas, cuando son tratadas con ácido naftalenacético producen 33 % más de frutos con calidad para venta en el mercado. Por su parte Biozyme® incrementa el contenido de carotenoides 36.4 % e incrementa el contenido de licopeno (Belakbier *et al.*, 1998).

El chile ha sido clasificado como una hortaliza moderadamente tolerante a la acidez; el cultivo se puede desarrollar adecuadamente en suelos con valores de pH de 5.5 a 6.8 (Valadez, 2001). Para algunos de los tipos de chile las temperaturas óptimas diurnas oscilan entre 24 y 30°C y las nocturnas entre los 9 y 12°C. Los criterios de cosecha se aplican dependiendo de la región donde se haya sembrado, los cuales pueden ser de otoño-invierno para el trópico y primavera-verano para zonas templadas (Valadez, 2001), aunque los dos principales indicadores físicos de cosecha son la longitud del fruto y el color; así los chiles se cosechan cuando han alcanzado el tamaño adecuado y su

color característico, esto dependiendo del cultivar o tipo de chile. Bajo el esquema de manejo orgánico, de acuerdo con Morón-Ríos y Alayón-Gamboa (2014), se obtienen frutos de mayor calidad y se invierte 2.5 veces menos recursos para la siembra.

LA SEMILLA, OBTENCIÓN Y GERMINACIÓN

La superficie sembrada con chile en México es de alrededor de 180 mil ha, de las cuales, más de 90% se establece bajo condiciones de riego. El rendimiento presenta grandes diferencias entre el cultivo con riego y el de temporal; este fluctúa desde 38 ton ha⁻¹ en el cultivo de chile pimiento bajo condiciones de riego, hasta 0.14 ton ha⁻¹ en chile piquín, un tipo silvestre que depende del temporal de lluvias (Castellón-Martínez *et al.*, 2014). FAO (2013) establece que el rendimiento en 2011, alcanzó una producción de 18 807 kg ha⁻¹, mientras que SIAP (2013) registró para Guanajuato un rendimiento de 45 ton ha⁻¹ de chile verde bajo condiciones de invernadero; para campo abierto alcanzó un rendimiento de 16 ton ha⁻¹. El chile es considerado una especie autógama debido a su morfología y biología floral; sin embargo, las plantaciones de chile generalmente presentan altos índices o porcentajes de polinización cruzada (Acosta *et al.*, 1994; Berke, 2008), ya que algunas observaciones sugieren que el cruzamiento natural en chile puede variar entre 7.6 y 36.8%. Estos valores se pueden deber a que el viento y los insectos son los responsables de la polinización cruzada (Roldán y Guerra-Sanz, 2006). La exclusión de insectos con una jaula de nylon evita el cruzamiento (Bosland, 1993). Esta técnica permite la producción de semilla a partir de plantas

autofecundadas. Según el SIAP (2013), la siembra de chile para producción de semilla fue de 4 ha con una producción de 1.68 ton y un valor de 192,000.00 pesos/ton. La apertura de la flor ocurre con mayor frecuencia en las tres primeras horas del día y permanece abierta por un periodo variable, en promedio 24 horas. Las anteras se abren después de la apertura de las flores, variando de 1-8 horas en *C. annum* y un máximo de 10-12 h. El estigma puede ser receptivo en la etapa de botón, en la víspera de la anthesis o 2-3 h después de la apertura de la flor. Esta receptividad está asociada a la formación de néctar en el estigma (García-Tierrablanca, 2014). La técnica de remoción de anteras es el procedimiento más común para la emasculación de flores (generalmente utilizando un par de pinzas). Al manipular plantas con inflorescencias, es importante disipar el manojito mediante la eliminación de las flores inmaduras, así como también las viejas. Esto mejorará la supervivencia de las flores emasculadas. A veces, los sépalos son los primeros en removerse, seguidos por los pétalos, antes de que se acceda a las anteras. La emasculación se puede hacer temprano en la mañana o en la tarde antes de la apertura de las flores y el cáliz todavía cubre las anteras y el estigma. Los granos de polen son transferidos al estigma, ya sea desde las anteras maduras indehiscentes al sacar con pala hacia afuera a través de las suturas laterales con aguja o por contacto con una antera al estigma. Con la ayuda de un par de fórceps, los pétalos se separan fácilmente y las anteras se retiran y se cubre la flor. Lo normal es que no transcurran más de 18 días entre el cuajado y el estado de madurez verde y no

sean necesarios más que 17 días adicionales para llegar a la madurez total, fruto rojo o amarillo (Acosta, et al, 1994). No obstante, el lapso entre el cuajado y el estado de madurez verde dependerá de la variedad y de las condiciones de temperatura, tomando entre 3 y 10 semanas y del mismo modo, el tiempo necesario para la obtención de frutos totalmente maduros y coloreados a rojo o amarillo es también muy variable (FAO, 2002; Jaimez, et al., 2010). Este cultivo no es climatérico, por lo que el color evoluciona muy poco luego de cosechados los frutos, por lo que el rojo total sólo se obtiene en la planta (Edwards y Sunstrom, 1987).

En la producción comercial de semilla, la calidad está determinada por un conjunto de atributos, donde la calidad genética, física, sanitaria y fisiológica juega un papel importante. La calidad fisiológica implica la integridad de las estructuras y procesos fisiológicos, siendo los principales indicadores: la viabilidad, germinación y vigor, que dependen del genotipo. Entre los factores que pueden tener efecto en la calidad de la semilla están el grado de madurez y tiempo de maduración de la semilla después de la cosecha (Aloni, et al., 1999). Estudios con diferentes tipos y cultivares de chile han coincidido en que el mayor porcentaje de germinación (97 a 98%) se obtiene con semillas de frutos cosechados a los 50-55 días después de la floración, lo cual coincide con la pigmentación roja del fruto (García-Tierrablanca et al., 2014; Ramírez-Juárez, 2015). La mayoría de la producción de semillas híbridas de este cultivo se producen en países como China, India y Tailandia, con mano de obra barata y calificada (Berke, 2008). El precio de la semilla en el mercado oscila entre

1,000 a 1,200 dólares por millar. El rendimiento de la semilla híbrida depende de varios factores. Entre ellos, la receptividad del estigma, el tiempo adecuado de la polinización, la viabilidad del polen, el número de polinizaciones necesarias para la adecuada producción de semilla y número de frutos por planta para la optimización del rendimiento y la calidad de la semilla híbrida (García-Tierrablanca *et al.*, 2014). El chile se reproduce principalmente por medio de semilla. A 25°C de almacenamiento, la semilla del chile permanece viable durante 5 a 8 años, aunque existe variación entre cultivares (Edwards y Sundstrom, 1987). Las semillas presentan comportamiento ortodoxo a la deshidratación, en el que el contenido de humedad óptima para la conservación se sitúa entre 4 y 6%, y la temperatura entre -10 y -20°C permite mantener una viabilidad superior al 85% durante un período de 40 a 150 años (Sánchez, *et al.*, 1993).

La semilla de chile completa su madurez fisiológica en un período de reposo que varía de una a seis semanas después de la cosecha del fruto, dependiendo del tipo de chile (Guerrero-Ramos, 2015). Para la selección de zonas de producción de una determinada especie se debe tener en cuenta algunos factores como la variedad y los requerimientos de la misma. La semilla comercial de buena calidad debe presentar buena germinación, sanidad, humedad requerida para su uso, estar libre de contaminaciones causadas por mezclas genéticas o mecánicas, ser de buen tamaño y aspecto y con un porcentaje aceptable de impurezas fácilmente eliminables en las instalaciones de acondicionamiento; todo ello ha de ser compatible

con una producción unitaria rentable (Ramírez-Juárez, 2015). La mayoría de las semillas de las plantas cultivadas germinan rápida y uniformemente cuando se siembran en condiciones óptimas; sin embargo, cuando estas semillas son sometidas a germinación antes de la época normal de siembra, es frecuente encontrar un porcentaje de germinación bajo. Esta característica, denominada latencia es común en especies silvestres; por lo que esta podría estar actuando sobre la semilla de chile Piquín, ya que bajo condiciones naturales su germinación no es uniforme (García *et al.*, 2010).

En el caso de parcelas dedicadas al consumo, se puede obtener por cada kg de fruto entre 25 y 100 g de semilla, mientras que en una plantación destinada a la obtención de semilla puede obtenerse entre 100 y 200 kg ha⁻¹. La semilla para la siembra se obtiene de frutos maduros de color amarillo intenso, de plantas sanas, libres de la secadera del chile (*Phytophthora capsici* L.), con buen porte y vigor. La semilla de chile germina en 5 o 6 días a una temperatura de 25°C. En nuestra experiencia, semillas de jalapeño tardaron aproximadamente un mes en germinar al sembrarlas en almácigos, en el Instituto Tecnológico de Roque. Algunas especies del género *Capsicum* presentan latencia de la semilla. Esta puede ser superada al colocar las semillas en un medio inerte, humedecido con una solución de Nitrato de Potasio (KNO₃) de 0.1 a 0.2 %, luz blanca y régimen alternante de temperatura entre 20 y 30 °C, o de 15 a 30°C. La germinación de la semilla es un proceso complejo (Nuez *et al.*, 1996); existen varios métodos para interrumpir la latencia fisiológica: a) almacenamiento en seco, b) pre-

enfriamiento, c) pre-secado, d) luz, e) nitrato de potasio, f) ácido giberélico, y g) empaque sellado de polietileno (Moreno, 1996). Además, la dureza de la semilla puede ser un factor por el cual se presenta la latencia, que se puede eliminar mediante procesos de escarificación mecánica o con ácidos. La digestión con ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) es efectiva para algunas especies. Para inducir la germinación del chile Piquín se recomienda la inmersión en ácido giberélico (AG_3) a una concentración de 5.000 ppm durante 24 h, a una temperatura de $30^\circ C (\pm 5)$; posteriormente, la semilla se lava, se seca y se procede a sembrarla. Una respuesta rápida y uniforme a la germinación podría ser indicativo del grado de domesticación (García, et al., 2010; González-Jara et al., 2011). El cambio en los hábitos de consumo y alimentación de los mexicanos en los últimos años, sobre todo a causa del tratado de libre comercio de América del Norte, ha ocasionado una baja en el consumo de maíz y frijol. Aunque en el caso del chile, a diferencia del frijol y el maíz, el consumo per cápita no ha disminuido; lo cierto es que dependemos cada vez más de la importación de semilla para nuestras siembras. Es por ello que urge reforzar el conocimiento, manejo y producción de esta hortaliza, otro de las grandes aportaciones de México al mundo.

LITERATURA CITADA

Acosta, R.G.; Bustamante G.L. y Esparza, M.J. 1994. Efecto de la madurez del fruto y tiempo de maduración postcosecha en la calidad de semilla

de chile jalapeño. Revista Fitotecnia Mexicana 17: 55-66.

Aguirre-Hernández, E. y Muñoz-Ocotero, V. 2015. El chile como alimento. Ciencia, julio-septiembre 16-23.

Aloni, B.; Presuman, E. y Karni, L. 1999. The effect of fruit load, defoliation and night temperature on the morphology of peppers flowers and on fruit shape. Annals of Botany 83:529-534.

Arroyo-Vargas L. 2012. Normas preliminares de diagnóstico nutricional compuesto y correlaciones nutrimentales en pimiento (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Maestría. Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. Texcoco, Edo de México. México. 44 pp.

Azofeifa, A.y Moreira, M. 2008. Absorción y distribución de nutrimentos en plantas de chile dulce (*Capsicum annum* L. CV. HOT) en Alajuela, Costa Rica. Agronomía Costarricense 32: 19-29.

Belakbir, A., J.M. Ruíz, L. Romero 1998. Yield and fruit quality of pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to bioregulators. HortScience 33(1):85-87.

Berke, G.T. 2008. Hybrid Seed Production in Capsicum. *Journal of New Seeds*. 1(3-4):49-67.

Bermúdez, B.M. 2014. Estudio sobre la producción y calidad de semilla de chile (*Capsicum annuum* L.) serrano y puya tolerantes a *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Maestría en Ciencias, Instituto Tecnológico de Roque. 86 p.

- Bosland, P.W. 1993. An effective plant field cage to increase the production of genetically pure chilli (*Capsicum* spp.) seed. Hort Science 28:1053.
- Castellón-Martínez E.; Carillo-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. Phytón, Revista Internacional de Botánica 83: 225-236.
- Edwards, R.L. y Sundstrom, F.J. 1987. After ripening and harvesting effects on Tabasco pepper seed germination performance. Hort Science 22:473-475.
- García, F.A.; Montes-Hernández, S; Rangel-Lucio J.A.; García-Moya E.; Mendoza-Elos, M. 2010. Respuesta fisiológica de la semilla chile piquin (*Capsicum annuum* var. *Glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill) al ácido giberélico e hidrotermia. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 1:203-216.
- García, T.E.A. 2013 Evaluación de técnicas de emasculación y maduración de fruto para la producción de semilla en chile (*Capsicum annuum* L.) Tesis de Maestría en Ciencias, Instituto Tecnológico de Roque. 95 p.
- Guerrero, R.J.F. 2013. Evaluación de diferentes dosis de fertilizantes en la producción de semilla de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L.) en invernadero. Tesis de Maestría en Ciencias, Instituto Tecnológico de Roque. 82 p.
- González-Jara, P.; Moreno-Letelier, A.; Fraile, A.; Piñero, D.; García-Arenal, F. 2011. Impact of Human Management on the Genetic Variation of Wild Pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. PLoS ONE 6(12): e28715. doi:10.1371/journal.pone.0028715.
- Jaimez, R.; Añez, B. y Espinoza, W. 2010. Desfloración: Su efecto sobre el aborto de estructuras reproductivas y rendimiento en pimentón (*Capsicum annuum* L.). Revista Facultad Agronomía. 27:418-432.
- Long-Solis J. Capsicum y Cultura: La historia del Chilli. 1986. Fondo de Cultura Económica (México). 203 p.
- López-Hernández, J; Oruña-Concha, M.J.; Simal-Lozano, J.; Vázquez-Blanco, M.E.; González-Castro, M.J. 1996. Chemical composition of Padrón peppers (*Capsicum annuum*) grown in Galicia (N.W. Spain). Food Chemistry 57:557-559. Doi: 10.1016/s0308-8146(96)00191-4.
- Macías-Rodríguez, H.; Muñoz-Villalobos, J.A.; Velásquez-Valle, M.A.; Potisek-Talavera, M.C.; Villa-Castorena, M.M. 2013). Chile Habanero: Descripción de su cultivo en la península de Yucatán. Revista Chapingo Serie Zonas Áridas 12: 37-43.
- http://www.crim.unam.mx/drupal/crimArchivos/Colec_Dig/2011/Ursula_Oswald/24_Macias.pdf consultado el 12 junio de 2015.
- Moreno, M. E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas, tercera edición, UNAM, México. 387 p.

- Morón-Ríos, A.; Alayón-Gamboa, J.A. 2014. Productividad del chile jalapeño (*C. annum* L.) con manejo orgánico o convencional en Calakmul, Campeche, México. *Avances en Invest. Agropecuaria* 18(3):35-40.
- Nuez, V.F.; Ortega, G.R. y Costa, G.J. (1996). El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. 1996. Ediciones mundi-prensa. Primera edición. Pp.23-26.
- Pozo, O.; Montes, S. y Redondo, E. 1991. Chile (*Capsicum* spp.). *Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México*. pp. 217-238. Palomino G, Castillo F, González V. A, Livera M. (eds.). Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C., Chapingo, México.
- Ramírez, L. E.; Castillo, A.C. de la C.; Aceves, N.E.; Carrillo, Á. E. 2005. Efecto de productos con reguladores de crecimiento sobre la floración y amarre de fruto en chile habanero. *Revista Chapingo serie Horticultura* 11(1):93-98.
- Randle, W.M. y Honma, S. 1981. Dormancy in peppers. *Scientia Horticulturae* 14:19-25.
- Reddy, U.K.; Almeida, A.; Abburi, V.L.; Alaparthi, S.B.; Unselt, D.; Hankins, G. 2014. Identification of Gene-Specific Polymorphisms and Association with Capsaicin Pathway Metabolites in *Capsicum annum* L. *Collections. PLoS ONE* 9(1): e86393. doi:10.1371/journal.pone.0086393.
- Roldán, S.A y Guerra-Sanz, J.M. 2006. Quality fruit improvement in sweet pepper culture by bumblebee pollination. *Scientia Horticulturae* 110: 160-166.
- <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/navarit/boletines/Paginas/BNSAGENE052017.aspx> (consultado agosto 2017)
- Sambhi, M. S.; Kaur G y Nandpuri, K.S. 1977. Chemical constituents in mature green and red fruits of some varieties of chilli (*Capsicum annum* L.) *Qualitas Plantarum* 27(2):171-175. DOI: 10.10071BFO1092357.
- Sanchez, M.V.; Sundstrom, F.J.; McClure, G.N.; Lang, N.S. 1993. Fruit maturity, storage and postharvest maturation treatments affect bell pepper (*Capsicum annum* L.) seed quality. *Scientia Horticulturae* 54:191-201.
- Tucuch-Haas, C.J.; Alcantar-Gonzalez, G.; Ordaz-Chaparro, V.M.; Santizo-Rincón, J.A.; Larqué-Saavedra, A. 2012. Producción y Calidad de Chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con diferentes relaciones NH_4^+/NO_3^- y tamaño de partícula de sustratos. *Terra Latinoamericana* 30 (1): 9-15.
- Valadez, L.A. 2001. Producción de hortalizas. Solanaceas. 9a Edición. Pp. 186. Limusa. México.
- Vela, E. 2009. Los chiles de México. *Arqueología Mexicana*. Edición especial. Número 32.
- Wesołowska, A.; Jadczyk, D. y Grzeszczuk, M. 2011. Chemical composition of the pepper fruit extracts of hot cultivars *Capsicum annum* L. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 10(1) 2011, 171-184.