



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Desarrollo embriológico de los verticilos florales
en chile manzano Capsicum pubescens R. y P. (Solanaceae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

SILVIA EUGENIA GÓMEZ VÁZQUEZ



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

TUTORA:

M. en C. ROSENDA MARGARITA PONCE SALAZAR

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

**A mi esposo Pablo Claudio
por ser mí apoyo incondicional
en la realización de mis sueños.**

**A mis hijos Pablo y Balam
por ser la motivación más grande
en mi vida.**

**A mis padres Carlos y Josefina por tener
Confianza en mí.**

**A mis hermanos Laura, José
Guadalupe, Rosa Isela, Carlos,
Martha Angélica, Martín, Raúl y
Jorge por la alegría que nos une.**

**Con cariño a mi tío Cesar
por luchar por la vida.**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mi asesora y amiga Margarita, por haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo, así como los buenos consejos que siempre tiene para mí en los momentos difíciles.

Al Dr. Mario Pérez Grajales de la Universidad Autónoma Chapingo por haber permitido realizar las colectas en su invernadero, así como la revisión hecha al presente trabajo.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana por la revisión y observaciones hechas al presente trabajo.

A la Dra. Aurora Zlotnik Espinosa por los sabios consejos y las palabras de aliento que siempre me brindó.

A la maestra Anabel de microcine por su siempre amable disposición en la toma de fotomicrografías.

A la Dra. Silvia Espinosa M. por el apoyo en las fotos tomadas en el Microscopio Electrónico de Barrido.

La Universidad Nacional Autónoma de México por ser nuestra máxima casa de estudios.

INDICE	PÁG.
1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	5
3. ANTECEDENTES	7
3.1 Estructuras florales	11
3.2 Embriología de los verticilos florales	12
3.3 Embriología de la familia Solanacea	13
3.4 Embriología del género <i>Capsicum</i>	14
3.5 Cristales en la familia y en el género <i>Capsicum</i>	15
4. OBJETIVOS GENERALES	17
4.1 Objetivos particulares	17
5. METODOLOGÍA	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS	19
7. RESULTADOS	21
7.1 Morfología de la Flor	24
7.2 Histología del Perianto	24
7.3 Androceo	24
7.3.1 Microesporangio	24
7.3.2 Microesporogenesis	30
7.3.3 Microgametogenesis	30
7.4 Gineceo	33
7.4.1 Megasporogénesis	36
7.4.2 Megagametogenesis	36
7.5 Distribución de Cristales en el Botón Floral	39
8. DISCUSIÓN	43
9. CONCLUSIONES	48
10. BIBLIOGRAFÍA	49

RESUMEN

El género *Capsicum* pertenece a la familia Solanaceae, y tiene entre 20 y 30 especies, de las cuales *C. annum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens* son cultivadas. La forma silvestre de *Capsicum pubescens* no se conoce y las características taxonómicas distintivas para esta especie son: la corola de color morada y las semillas negras. Dada la importancia que la flor tiene en la formación de los gametos, fruto y semillas el propósito de este trabajo fue estudiar el desarrollo embriológico de los verticilos florales del chile manzano *Capsicum pubescens* R. y P. híbrido Puebla x Zongolica. Se recolectaron botones florales en diferentes estadios de desarrollo y flores en anthesis, en un invernadero, en la Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México. El material fue fijado en FAA durante 72 hrs. Las muestras se deshidrataron en una serie de concentraciones crecientes de etanol. Se obtuvieron cortes transversales y longitudinales de 5 a 6µm de espesor. Se tiñeron con safranina – verde rápido en metilcelosolve. Algunos cortes fueron seleccionados para microscopía confocal los cuales fueron hidratados en concentraciones graduales de alcohol hasta llegar a agua y se tiñieron con azul de anilina. Para las observaciones en el MEB el material se deshidrató en una serie gradual de etanol, las muestras se desecaron a punto crítico con CO₂ y se cubrieron con una capa fina de oro. Las flores son: hermafroditas, hipóginas, actinomorfas. El cáliz es gamosépalo, dentado. La corola es de color morado, gamopétala con nectarios en la base de la cara adaxial de cada pétalo así como numerosos tricomas glandulares en la base del pétalo detrás del filamento donde se fusiona con la corola. Los estambres son epipétalos, alternipétalos. Las anteras son basifijas, bitecas presentan dehiscencia longitudinal latrorsa. El desarrollo de la pared de la antera es tipo dicotiledóneo, el endotecio presenta engrosamientos de tipo helicoidal, tapete externo y tapete interno de tipo glandular, binucleado. Microsporas con citocinesis simultánea. Las tétradas de las microsporas son tetrahédricas, los granos de polen son tricolporados, tectados y microreticulados, se liberan bicelulares y contienen reservas de almidón. El gineceo es sincárpico bi, tri o tetra carpelar. El estigma es bi, tri o tetralobular presentando surco central, en período receptivo es húmedo y sin papilas. El estilo es de forma cilíndrica, sólido presentando estomas; los estilos son de tres tamaños bajos, medios y altos. El ovario es supero bi, tri o tetralocular, de color verde. Los óvulos son anátropos, unitegmicos, teninucelados y funiculados; la placentación es axilar. El saco

embrionario es tipo *Polygonum*. Se observaron idioblastos con cristales de 4 tipos: cristales poligonales y esferulitas en caliz, tejido conectivo, estilo y pared del ovario; drusas en menor proporción en tejido conectivo, en grano de polen al ser liberado, salen con cristales en la superficie, estomio y en ovario; arenas cristalinas en todos los verticilos excepto en la corola.

INTRODUCCION

El género *Capsicum*, de la familia Solanaceae, está formado de 20 a 30 especies distribuidas en los trópicos y subtrópicos del Nuevo Mundo. Se reconocen principalmente cinco especies cultivadas: *Capsicum annuum* L., *C. chinense* Jacquin, *C. pendulum* Willdenow, *C. frutescens* L. y *C. pubescens* Ruiz y Pavón. Estas especies existen en su forma silvestre, excepto *C. pubescens*, que solamente es conocida bajo condiciones de cultivo (Pérez *et al.*, 1997).

El centro de origen del género se encuentra en la región que comprende Bolivia, el norte de Argentina, el centro y sur de Brasil. Estudios biogeográficos y arqueo-botánicos indican que durante su dispersión por el Continente Americano algunas de las especies fueron domesticadas de manera independiente en distintos lugares: *C. annuum* en México; *C. frutescens* en Costa Rica y posiblemente también en México; *C. chinense* en las tierras del río Amazonas; *C. baccatum* en Bolivia y *C. pubescens* en los Andes. En México se cultiva *C. annuum* en casi todo el país; *C. frutescens* en el centro y sureste; *C. chinense* en la Península de Yucatán y *C. pubescens* en las partes altas de los estados que ocupan la región central de México (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999).

La clasificación de las especies de *Capsicum* se basa principalmente en la forma y color de las flores, la genética, la bioquímica y la distribución geográfica (López, 2003). Los chiles domesticados y sus parientes silvestres forman un grupo conocido como “chiles verdaderos”, y se dividen en dos grandes grupos que representan dos linajes evolutivos diferentes: el grupo de las flores blancas y el grupo de flores púrpura, cuyos híbridos entre estos grupos no se producen fácilmente.

Dentro del grupo de flores blancas se incluyen las especies domesticadas *C. annuum*, *C. chinense* y *C. frutescens* que están estrechamente relacionadas. El grupo de flores púrpura contiene a *C. pubescens* y las especies silvestres *C. cardenasii* y *C. eximium*, los cuales se puede cruzar y formar híbridos fértiles (Heiser y Smith, 1958; Eshbaugh, 1975, 1982; citados por Hernández-Verdugo *et al.*, 1999).

Existen problemas en la delimitación del género *Capsicum* y de sus especies en la definición del nivel taxonómico en el que deben distinguirse las variantes silvestres de las cultivadas y en la definición de criterios taxonómicos para tratar la variabilidad intra-específica dentro de los taxos

cultivados (Eshbaugh, 1980, 1997; Pichersgill, 1984, 1988; citados por Hernández-Verdugo, 1999). Por ello es que los estudios básicos acerca de la biología reproductiva de las distintas especies de Chile son tan importantes. En este contexto la flor es el órgano que sostiene la reproducción sexual en las angiospermas, es de gran interés ya que de ella se originará el fruto y la semilla, esta última como unidad de dispersión, germinación y de continuidad de la especie. De aquí la relevancia de conocer el desarrollo embriológico de los verticilos florales en las plantas cuyos frutos y/o semillas son de interés agrícola, en este caso Chile.

ANTECEDENTES

Algunas especies de la familia Solanaceae son de considerable importancia económica: unas por ser utilizadas como alimento, drogas o plantas ornamentales y otras por considerarse malas hierbas. Entre los principales géneros se encuentran: *Solanum* (con 1,400 especies, por ejemplo la papa); *Capsicum* (50 especies, chiles y pimientos); *Lycopersicon* (7 especies, tomate rojo); *Physalis* (100 especies, tomate verde); *Datura* (10 especies, toloache); *Nicotiana* (21 especies, tabaco); *Atropa* (4 especies, belladona); *Petunia* (40 especies, varias ornamentales).

Solanaceae incluye 90 géneros y 2,000 especies de distribución tropical. Un gran número de géneros (40) se encuentran en América Tropical y América del Sur; solamente de 2 a 3 géneros son nativos de Europa y Asia (Rodríguez y Porras, 1996).

En la dieta del mexicano, el chile (del nahuatl “chilli”) ha tenido una marcada preferencia. Aunque muchos chiles son nativos de México, otros vienen de Sudamérica. Vestigios de variedades cultivadas y silvestres han sido encontrados en cuevas de Tehuacán, Puebla y en Ocampo, Tamaulipas. Existen evidencias que demuestran que su cultivo es anterior al del jitomate y al maíz. El chile tuvo uso preponderante entre los antiguos mexicanos, quienes no creían estar comiendo si entre sus alimentos no figuraba; también lo usaban como pago del tributo al tlatoani. Hoy en día el chile se consume fresco (en verde), seco, como condimento, como platillo principal y en muchas otras formas (Hinojosa, 1984).

El chile manzano, *Capsicum pubescens* R. y P., es una especie originaria de América del Sur. El epíteto específico se debe a que tiene los tallos y hojas completamente cubiertos de tricomas. Es un chile muy particular, ya que se adapta a lugares fríos en donde puede tolerar heladas. Florece y fructifica a temperaturas de 5 a 15° C, en las cuales la mayoría de los chiles apenas alcanzan a sobrevivir. Aun en temperaturas bajas se comporta como una planta perenne (Pozo, 1983).

El tallo del chile manzano es leñoso, su hábito de crecimiento es arbustivo, puede ser compacto o erecto, es de color verde y presenta una coloración púrpura en los primeros nudos, su ramificación es pseudo-dicotómica. La hoja es simple sin estípulas, su forma es cordada con ápice acuminado, de borde liso, con abundantes tricomas, la nervadura es reticulada, peciolada y su filotaxia es alterna dística. (Figura 1).

La flor es hermafrodita, actinomorfa débilmente zigomorfa, pentámera de color violeta y excepcionalmente blanca, su centro es blanco, el cáliz es gamosépalo y la corola gamopétala, el androceo con cinco estambres de la misma longitud, insertos en el tubo de la corola y alternos con los lóbulos también de color morado, las anteras se abren longitudinalmente. El gineceo constituido por un pistilo compuesto de dos carpelos, a veces dividido por un septo falso, con dos lóculos, óvulos numerosos, placentación axilar, ovario súpero, estilo terminal. En las axilas de las ramas se encuentra un pedicelo aunque pueden presentarse dos o hasta tres en la misma planta; cuando existen tres, el central se encuentra en un estado fenológico más avanzado. El fruto es una baya de color verde en estado inmaduro como se observa en la (Figura 2) y en estado maduro puede ser amarillo, anaranjado o rojo; su longitud aproximadamente es de 5 cm con un diámetro de 4 cm. Su forma varía dependiendo del número de lóbulos que presente: cuando tiene uno o dos, su forma es de pera (perón) y cuando tiene tres o cuatro su forma es de manzana. (Figura 3). La forma del margen del cáliz es dentado y presenta una constricción anular en la unión con el pedicelo; la forma del fruto en unión con el pedicelo es truncada o acorazonada, la forma del ápice es hundido u obtuso, es hundido cuando presenta tres o cuatro lóbulos y es obtuso con uno o dos lóbulos, presenta una ligera corrugación al observarse en corte transversal; es un fruto persistente y su pungencia es alta. La semilla es color negro, su forma es circular, mide cerca de 5mm de diámetro, de borde ligeramente ondulado, de testa corrugada, y en un gramo se encuentran aproximadamente 430 semillas y en cada lóculo del fruto se tienen alrededor de 50 semillas, el embrión es curvo dentro del endospermo (Pérez *et al.*, 1996). (Figura 4).

El fruto de chile manzano *Capsicum pubescens* es apreciado por su pungencia; este factor está determinado principalmente por la cantidad de capsaicina ($C_{18} H_{27} NO_3$), la producción de capsaicina está controlada por un gen dominante, compuesto que se forma en la pared del ovario y se transporta a la placenta y semillas en donde se almacena y concentra (Long-Solís, 1998;Zarco, 2004). Los capsacionoides que presenta el chile manzano en mayor proporción (76-86%) son la capsaicina y la hidrocapsaicina en una relación 1:15. La hidrocapsaicina se encuentra en una proporción más alta en esta especie en comparación con *Capsicum annum*, *Capsicum frutescens* y *Capsicum chinense*. El aroma fuerte que desprende el fruto al ser cortado es producto de una combinación de ésteres de cinco y seis carbonos, alcoholes, carbonilos, ácidos carboxílicos, prazina y terpenos, entre otros compuestos (Govindarajan, 1978, citado por Chávez, 1999).



Figura 1. Hojas simples de forma cordada con ápice acuminado y bordes lisos. Figura 2. Fruto en estado inmaduro mostrando pedicelo (**Pe**) y botón floral (**Bo**). Figura 3. Corte transversal de frutos maduros mostrando dos, tres y cuatro lóculos divididos por septos, numerosas semillas en estado maduro adheridas a la placenta. Figura 4. Semillas en diferentes estadios de maduración, semillas color paja tres semanas después del amarre del fruto, semillas color café seis semanas después del amarre del fruto y semillas color negro en estado maduro de fruto.

El chile tiene alto valor nutritivo, es rico en vitaminas y minerales. Contiene vitaminas A, B₁, C, E y K; es alto en su contenido de antioxidantes y cuando el fruto se seca su contenido de vitamina A aumenta 100 veces y el contenido de vitamina C se pierde (Calselton, 2000, citado por Lezama, 2004). La taxonomía dentro del género *Capsicum* es compleja, debido a la gran variabilidad de formas existentes en las especies cultivadas y a la diversidad de criterios utilizados en la clasificación (Nuez *et al.*, 2003).

La clasificación taxonómica según Cronquist (1988) es la siguiente:

REINO	VEGETAL
DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	ASTERIDAE
ORDEN	SOLANALES
FAMILIA	SOLANACEAE
GÉNERO	<i>Capsicum</i>
ESPECIE	<i>Capsicum pubescens</i>

Werner (2000; citado por Barraza, 2000) indicó que los análisis bromatológicos practicados por el departamento de Nutrición del Ministerio de Salud del Perú en 1978 le asignan los siguientes valores en su composición nutritiva mostrados en el cuadro 1.

Chávez (1999) indicó que la planta de chile manzano a nivel mundial es un recurso genético importante como fuente de resistencia contra enfermedades y plagas. Sin embargo, la resistencia no es fácilmente incorporada a las especies cuya explotación y nivel de consumo son de mayor importancia mundial, pues se ve limitada por barreras naturales de incompatibilidad.

Se dice que la especie *Capsicum pubescens* presenta autoincompatibilidad gametofítica, fenómeno que es de importancia para el estudio de la evolución de la especie y para trabajos de mejoramiento genético. Esta especie podría ser considerada como una alternativa para el cultivo de chile picante en regiones hortícolas con condiciones climáticas de bajas temperaturas. Además, las variedades de esta especie son cultivares primitivos con alto grado de variabilidad genética y, por consecuencia, con gran posibilidad de ser mejoradas (Yaqub y Smith, 1971; citados por Saborio *et al.*, 1992).

Cuadro 1. Composición nutritiva del chile manzano por 100 g de peso neto (Werner, 2000).

<i>Componentes</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
Agua	20.7 g	93.1 g
Hidratos de Carbono	5.3 g	63.8 g
Proteínas	0.8 g	6.7 g
Extracto etéreo	0.3 g	0.8 g
Fibra	1.4 g	23.2 g
Cenizas	0.6 g	7.1 g
Calcio	7.0 mg	116.0 mg
Fósforo	31.0 mg	200.0 mg
Hierro	1.3 mg	15.1 mg
Caroteno	0.03 mg	25.2 mg
Tiamina	0.03 mg	1.09 mg
Riboflavina	0.07 mg	1.73 mg
Niacina	0.75 mg	3.30 mg
Acido ascórbico	14.4 mg	157.5 mg
Calorías	23	233
Capsaicina	150 mg	3.35 mg por cada 10g

ESTRUCTURAS FLORALES

La flor es la estructura reproductiva más importante de las angiospermas (Batygina, 2002). De todas las estructuras de las angiospermas, la flor es la menos afectada por los cambios ambientales. Esta estabilidad de las estructuras florales hace que las flores y frutos sean de gran importancia para la clasificación de este grupo (López *et al.*, 2005). Las flores son muy diversas en morfología y van desde las muy vistosas y llamativas hasta las muy simples y casi imperceptibles. Pueden ser solitarias, o bien estar arregladas en distintos tipos de inflorescencias.

Las flores contienen al aparato reproductor sexual de las plantas. Los dos sexos, masculino y femenino, pueden estar en la misma flor (monoica, “una casa”) o separadas en dos flores o plantas (diocas, “dos casas”) para cada sexo y tener flores pistiladas o estaminadas (Trigiano y Gray, 2005).

Las cuatro unidades básicas en una flor completa son: las hojas protectoras o envolturas florales (sépalos y pétalos) y las hojas reproductoras (estambres y pistilo). El receptáculo es el extremo modificado del tallo que sostiene a todos los verticilos florales. Cada estambre constituye el progenitor masculino o androceo y está formado por un filamento (algunas veces ausente) y una antera, en cuyo interior se producen los granos de polen o gametofitos masculinos.

El pistilo está formado por uno o más carpelos y en él se distinguen, generalmente, tres estructuras: ovario, estilo y estigma. El o los carpelos, en su conjunto, se conocen como gineceo. En el interior del ovario se producen el o los óvulos que constituyen el megasporangio con sus cubiertas protectoras. Este carácter es distintivo para las angiospermas. El extremo receptivo del carpelo, el estigma, posibilita la germinación del grano de polen y el estilo sostiene el desarrollo de los tubos polínicos; ambos procesos indispensables para la fecundación. Por sus formas, colores y aromas, las flores han coevolucionado con sus polinizadores y son la base de estudios de taxonomía y sistemática (López *et al.*, 2005).

EMBRIOLOGIA DE LOS VERTICILLOS FLORALES

El uso de caracteres embriológicos de los verticilos florales en la taxonomía de las plantas no ha sido lo suficientemente investigado y su gran potencial no ha sido desarrollado; en parte, debido al gran número de caracteres embriológicos que pueden documentarse y de los cuales sólo algunos son descritos y también por el tiempo relativamente largo en el que se obtienen los datos (Tobe, 1989; Stuessy, 1990; citados por Jiménez, 2000).

Existe una lista de características embriológicas que son útiles para ayudar a determinar las relaciones taxonómicas (Palser, 1975):

- Antera y Polen: número de microsporangios, tipo de desarrollo de la pared de la antera, número de capas y diferenciación del endotecio, tapete glandular o amiboideo; delimitación de microsporas, tipo de tétrada, número de células del grano de polen

cuando es liberado; morfología externa del grano de polen tales como aberturas y características de la exina.

- Óvulo: tipo de óvulo, número de tegumentos, formación del micrópilo, tejido vascular, tipo de desarrollo de la nucela, áreas especiales como hipostase – epistase, presencia o ausencia de endotelio.
- Megasporogénesis y megagametogénesis; número de células arquesporales, tipo de tétradas, posición de la megaspora funcional, tipo de desarrollo del saco embrionario, forma del megagametofito maduro, características de las sinérgidas, antípodas, ovocélula y célula central.

EMBRIOLOGÍA DE LA FAMILIA SOLANACEAE

Davis (1966) hace una descripción embriológica de la familia en la que expone las siguientes características para el androceo: la antera es tetraesporangiada, el desarrollo de la pared de la antera es de tipo dicotiledóneo, el endotecio desarrolla engrosamientos; de una a dos capas medias efímeras, las células del tapete llegan a ser binucleadas. El tapete puede ser amiboideo o glandular. Las microsporas pueden ser tetraédricas, isobilaterales o decusadas. El grano de polen es bicelular y con grandes depósitos de almidón. El óvulo es anátropo, unitégmico y tenuinucelado. El saco embrionario es tipo *Polygonum*.

Manning (1996) describiendo la diversidad de los engrosamientos de la pared del endotecio en las angiospermas reporta para el orden Solanales engrosamientos de tipo helicoidal y doble helicoidal para la familia Solanaceae.

Carrizo (1998) hace un análisis integral de la histogénesis de las estructuras reproductoras (androceo y gineceo) de la tribu *Datureae* que comprende dos géneros: *Datura* L. y *Brugmansia* Pers. reportan para ambos géneros desarrollo de la pared tipo básico, engrosamientos secundarios helicoidales en las células del endotecio y de las capas medias, estomas en las caras dorsal y ventral de la antera; granos de almidón y drusas en las células del septo y del tejido conectivo, tejido de resorción ausente en la zona de dehiscencia, anteras con tricomas no glandulares y lagunas xilemáticas en antera y filamento.

Carrizo (1999), hace un estudio morfoanatómico de los verticilos florales fértiles en *Nicandra physalodes*; describiendo el desarrollo de la pared de la antera tipo básico, ausencia de tejido de reabsorción, depósitos de bandas lignificadas en las células del endotecio.

Carrizo (2000), estudia la histología de la antera a lo largo del desarrollo en especies de *Jaborosa Juss.* y *Salpichroa Miers.*, dos de los tres géneros que conforman la tribu Jaboroseae Miers. Observó que la pared de la antera es tipo básico en *Jaborosa* y que presenta engrosamientos de la pared secundaria con aspecto fibroso de tipo reticular, helicoidal y en U en endotecio y capas medias, así como que se observa la ausencia de tejido de resorción. Para el caso de *Salpichroa* documenta que el desarrollo de la pared de la antera es tipo dicotiledóneo; que tanto el endotecio como la epidermis tienen engrosamientos de la pared secundaria con aspecto fibroso de tipo anular y la presencia de tejido de resorción con areniscas cristalinas.

EMBRIOLOGÍA DEL GÉNERO *Capsicum*

Para el género *Capsicum* la información acerca del desarrollo embriológico de los verticilos florales es escasa en relación con otros géneros de la familia Solanaceae. Cochran (1938) hace un estudio morfológico del desarrollo de la flor y la semilla de chile; reportando que en *Capsicum frutescens* var. *grossum*, el saco embrionario tiene un desarrollo de tipo monospórico y que el grano de polen se libera binucleado.

El desarrollo del polen y el desarrollo del saco embrionario en *Capsicum frutescens* L. var. *Japanesa*, una ornamental jaspeada, fue descrito por Lengel en 1960, observó que el grano de polen cuando se libera es tricelular y el saco embrionario es de tipo bispórico.

Horner *et al.*, (1974) hicieron un estudio comparativo de la microsporgénesis en plantas con esterilidad masculina citoplasmática y plantas fértiles en *Capsicum annuum*; describieron que en las células del tapete se forman vacuolas y que las células se alargan en la meiosis produciendo esterilidad.

Munting (1974), estudió el desarrollo de flores y fruto de dos variedades de *Capsicum annuum* L. *minimum* (Mall.) de Géiser, Panamá y *Capsicum annuum* “Chile cascabel” de México; encontró que los óvulos son anátropos y unitégmicos y el saco embrionario es de tipo *Polygonum*. Describe la presencia de células idioblásticas saturadas de cristales en la pared del ovario y en el septo así como la presencia de células de gran tamaño en la pared del ovario cercanas a la

epidermis interna a las que les llama células gigantes que posteriormente tendrán una función secretora.

Dharamadhaj y Prakash (1978), estudiaron el desarrollo de la antera y del óvulo en siete variedades de *Capsicum*; *C. annum* L. var. *acuminatum*, *C. annum* L. cv. floral Gem, *C. annum* L. var. *grossum*, *C. annum* var. *longum*, *C. baccatum* var. *pendulum*, *C. frutescens* var. *baccatum* y *C. frutescens* cv. Tabasco. Encontrando marcadas diferencias entre los botones florales formados en verano y los botones florales formados en invierno. Estos autores registraron que la viabilidad del polen en verano es del 93.6%, mientras que en invierno en la misma planta, es solamente del 31.3%. Para el desarrollo del óvulo no detectaron marcadas diferencias entre las variedades, sólo en tamaño; encontraron que el tipo de desarrollo del saco embrionario que predomina en verano es monospórico, mientras que el tipo bispórico predomina en invierno. El desarrollo del saco embrionario monospórico y bispórico se presentan *C. baccatum* var. *pendulum* y *C. frutescens* var. *baccatum*.

Bhandari (1984, citado por Batygina, 2002), reporta para *Capsicum annum*, tapete tipo glandular.

Ramírez-Luna *et al.* (2005), observaron que en el cultivo de chile habanero (*Capsicum chinense*), en etapa fenológica de floración más del 40% de la flor se pierde por aborto, generando grandes pérdidas económicas a los productores; ellos proponen la aplicación de reguladores de crecimiento para disminuir la caída de flores, pero no describen las causas de la caída de las flores.

CRISTALES EN LA FAMILIA Y EN EL GÉNERO *Capsicum*

La presencia de cristales en la familia ha sido tema de estudio; algunos trabajos sugieren posibles funciones de los cristales en las plantas: entre ellas la protección contra herbívoros (Schmid, 1976). Para Franceschi y Horner (1980) los cristales proporcionan una fuente de almacenamiento de calcio. Nimakawa, (1919, citado por Horner *et al.*, 1980) observó pequeñas drusas que llenan la células del estomio y sugirió que los cristales están involucrados en la desecación y apertura de la antera.

Horner *et al.* (1980) hicieron un seguimiento intracelular de la formación de drusas en el estomio de la antera del chile dulce (*Capsicum annuum*), utilizando microscopía electrónica de transmisión y microscopía de luz.

Horner y Wagner (1992) estudiaron la presencia de cuatro tipos diferentes de cristales (esferulitas, cristales poligonales, drusas y arenas cristalinas) de oxalato de calcio en el tejido conectivo de la antera y del estomio de *Capsicum annuum* durante la microsporogénesis.

D'Arcy (1996) presenta un estudio histológico-estructural del tejido de reabsorción o también llamado paquete de cristales de oxalato de calcio (OP); principalmente en las anteras de las solanáceas, en el que describe que estos cristales aparecen en etapas muy tempranas del desarrollo de la antera antes de la meiosis; argumenta que estas células en posición subepidérmica en el estomio, se tiñen densamente indicando una gran actividad metabólica, posteriormente estas células se dividen periclinalmente y forman dos o tres estratos. Finalmente, cuando el polen está maduro y el tapete desaparece, la pared de las células del OP degenera, dejando libre los cristales de oxalato de calcio.

Para Iwano *et al.*, (2004), la presencia de cristales de calcio en las anteras de *Petunia* y *Nicotiana* tienen un significado biológico en el proceso de la polinización, de igual manera sugieren que la presencia de cristales de calcio provee a los granos de polen con iones de calcio que son requeridos para la germinación y hacer así más eficiente la polinización en la familia.

Aún cuando se han realizado diversas investigaciones con las plantas de chile manzano, *Capsicum pubescens* (Saborio *et al.*, 1992; Pérez *et al.*, 1996; Rojas, 1997; Pérez y Castro, 1998, Chávez, 1999; Barraza, 2000; Lezama, 2004), el desarrollo embriológico de los verticilos florales no ha sido estudiado y los pocos trabajos relacionados se han centrado en chile pimiento *Capsicum annumm* L. y chile tabasco *Capsicum frutescens* por ser plantas de importancia económica a nivel mundial; por tal motivo el presente trabajo se propone generar información básica abordando aspectos del desarrollo embriológico de los verticilos florales de *Capsicum pubescens* R. y P. híbrido Puebla x Zongolica.

OBJETIVOS

General

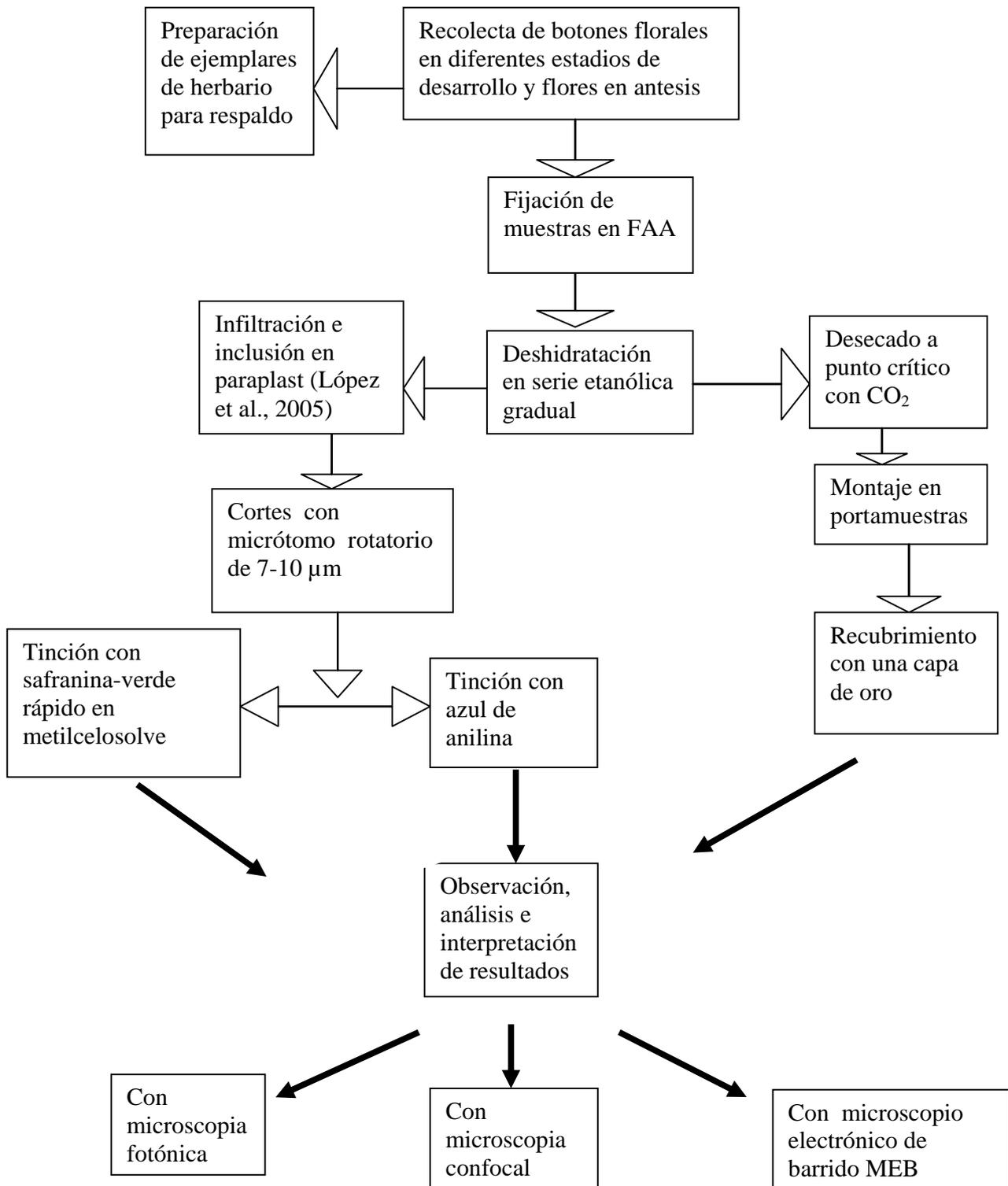
- Describir el desarrollo embriológico de los verticilos florales del híbrido intervarietal Puebla x Zongolica del chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.).

Particulares

- Describir la morfología e histología de la flor.
- Determinar el patrón de desarrollo de la pared de la antera, así como la microsporogénesis microgametogénesis y la morfología de granos de polen maduros.
- Describir la histología del estigma, estilo, ovario, óvulo, megasporogénesis y megagametogénesis.

METODOLOGÍA

Diagrama de flujo de la metodología utilizada



MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras se obtuvieron de plantas del híbrido intervarietal Puebla x Zongolica del programa de mejoramiento genético de chile manzano cultivadas en el Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo en un sistema de producción intensiva bajo condiciones de invernadero.

Se seleccionaron flores y botones en distintos estadios de desarrollo. El material fue fijado en FAA a 4° C durante 72 h posteriormente el material se deshidrató en una serie de concentraciones crecientes de etanol (50 %, 70 %, 85 %, 96 %, 100 %, durante dos horas cada uno); posteriormente se infiltraron gradualmente y pasaron por tres cambios de a xilol-paraplast hasta llegar a paraplast puro por 24 horas como mínimo a 56° C para la inclusión y posteriormente ser seccionados.

Se obtuvieron secciones transversales y longitudinales de 5 a 10 micrómetros de espesor en un micrótopo rotatorio. Los cortes se desparafinaron en la estufa a 56° C por una hora, posteriormente se colocaron en xilol durante 10 minutos y 3 minutos en etanol absoluto. La tinción se realizó con safranina-verde rápido en metilcelosolve (López *et al.*, 2005). Posteriormente se observaron y se seleccionaron cortes para la toma de fotomicrografías, las cuales fueron tomadas con un fotomicroscopio modelo Olympus PROVIS AX70.

Se efectuaron algunas técnicas histoquímicas:

- Para evidenciar almidones se practicó la técnica de Lugol
- Para reservas lipídicas, cutina y suberina Rojo” O “de aceite

Microscopía de barrido

En el microscopio electrónico de barrido (MEB) se observaron nectarios en los pétalos, anteras, polen maduro, estigma, estilo, ovario y óvulos. El material se deshidrató en una serie gradual de alcohol etílico (30 %, 50 %, 70 %, 85 %, 96 % y 100 %) durante dos horas cada uno. Las muestras se desecaron a punto crítico con CO₂ y se montaron en porta-muestras metálicos cubriéndolos con una capa fina de oro, posteriormente se observaron y se tomaron placas fotográficas; el modelo del microscopio electrónico de barrido es Joel JSM-5310LV.

Microscopia confocal

Se seleccionaron los cortes, se desparafinaron y se hidrataron gradualmente en alcohol hasta llegar a agua, posteriormente se tiñó con azul de anilina y finalmente se observaron con un microscopio confocal modelo Olympus FLUOVIEW FV1000.

Se depositaron ejemplares de herbario como respaldo en el Herbario de la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias.

RESULTADOS

MORFOLOGÍA DE LA FLOR

Las flores del chile manzano generalmente crecen solitarias en cada nudo, aunque en ocasiones pueden tener hasta dos flores por nudo. Son hermafroditas, hipóginas, actinomorfas y se encuentran unidas al tallo por un pedicelo pubescente.

El cáliz es gamosépalo, está formado de 5 a 8 sépalos, con presencia de una constricción anular en la unión con el pedicelo y la forma del margen es dentado.

La corola es gamopétala de color morada con manchas blancas en la parte basal de los pétalos; consta de 5 a 8 pétalos generalmente erectos en la anthesis (Figura 5). La presencia de nectarios que se observan como pequeños abultamientos de color amarillo en la base de la cara adaxial de cada pétalo, coincide con la mancha blanca que se observa en la base de los pétalos (Figura 6). En la base del pétalo, donde se encuentra unido el filamento, se localizan numerosos tricomas (Figura 7).

El androceo está formado de 5 a 8 estambres de color púrpura, son epipétalos, alternipétalos y el número de estambres coincide con el número de pétalos (Figura 5). Las anteras son basifijas, bitecas con dehiscencia longitudinal latrorsa (Figura 8 y 9).

El gineceo es sincárpico bi, tri o tetra carpelar. El estigma es de color verde en anthesis, bi, tri y tetralobular dependiendo del número de carpelos que lo conformen aunque cabe mencionar que el tipo bilobular predomina, presenta surco central (Figura 10 y 11); durante el período receptivo es húmedo con fluido de secreción en la superficie.

El estilo es de color morado, de forma cilíndrica, el diámetro de la base cercano al ovario es ligeramente de menor tamaño con respecto al diámetro de la base cercano al estigma. Los estilos presentan tres tamaños desde etapa de botón floral: los cortos que se presentan por debajo de las anteras, los medianos a nivel de las anteras y los largos que sobrepasan las anteras, éstos últimos sobresalen de la flor en etapa de botón. Cuando la flor es fecundada y el fruto comienza a desarrollarse la corola se cae, los estilos permanecen hasta estadios muy avanzados de maduración (Figura 12). Con la ayuda del microscopio electrónico de barrido (MEB) se pudo observar la presencia de numerosos estomas de diferentes formas a lo largo del estilo (Figura 13). El ovario es súpero de color verde, con la pared lisa (Figura 14).

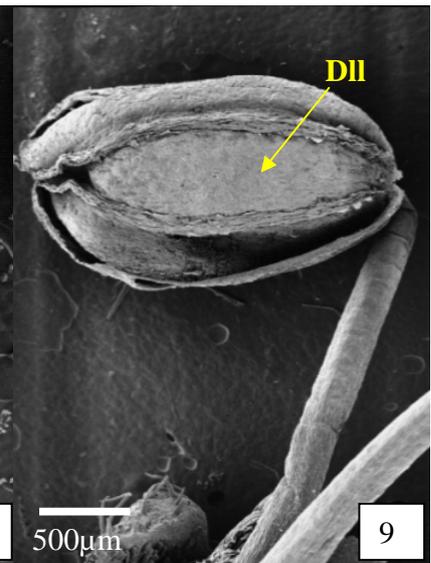
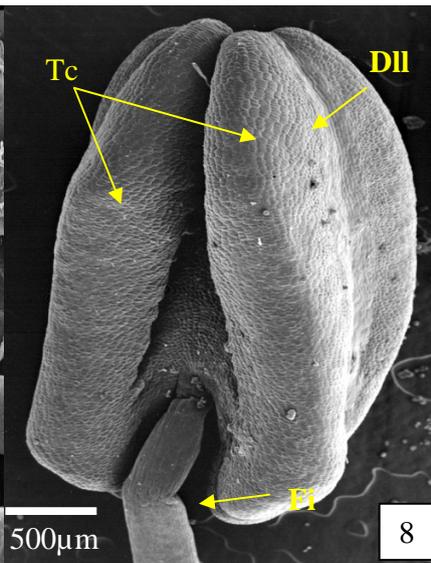
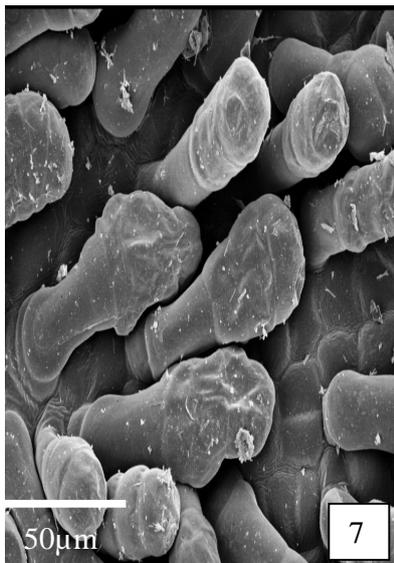
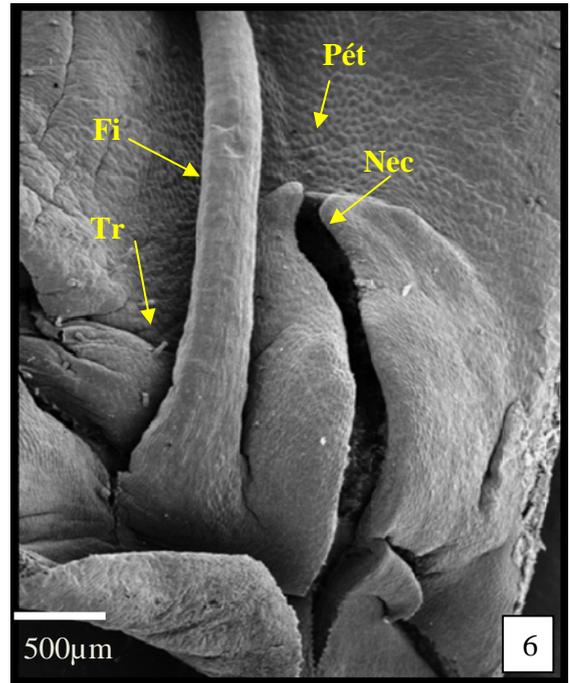


Figura 5. Flor hermafrodita en antesis vista de frente y botón floral de *Capsicum pubescens*. Cáliz con margen dentado (**Ca**), corola (**C**), androceo (**A**), gineceo (**Gi**) y pedicelo pubescente (**Pe**). Figura 6. Nectario abierto (**Nec**) en la base del pétalo, pétalo (**Pét**), filamento (**Fi**) y Tricomos (**Tr**) en la base del pétalo; 35X. Figura 7. Acercamiento a los tricomas en pétalo; 500X. Figura 8. Estambre con antera basifija no dehiscente mostrando línea de dehiscencia longitudinal latrorsa (**DII**), dos tecas (**Tc**) y filamento (**Fi**); 50X. Figura 9. Antera casi dehiscente mostrando línea de dehiscencia (**DII**); 35X.

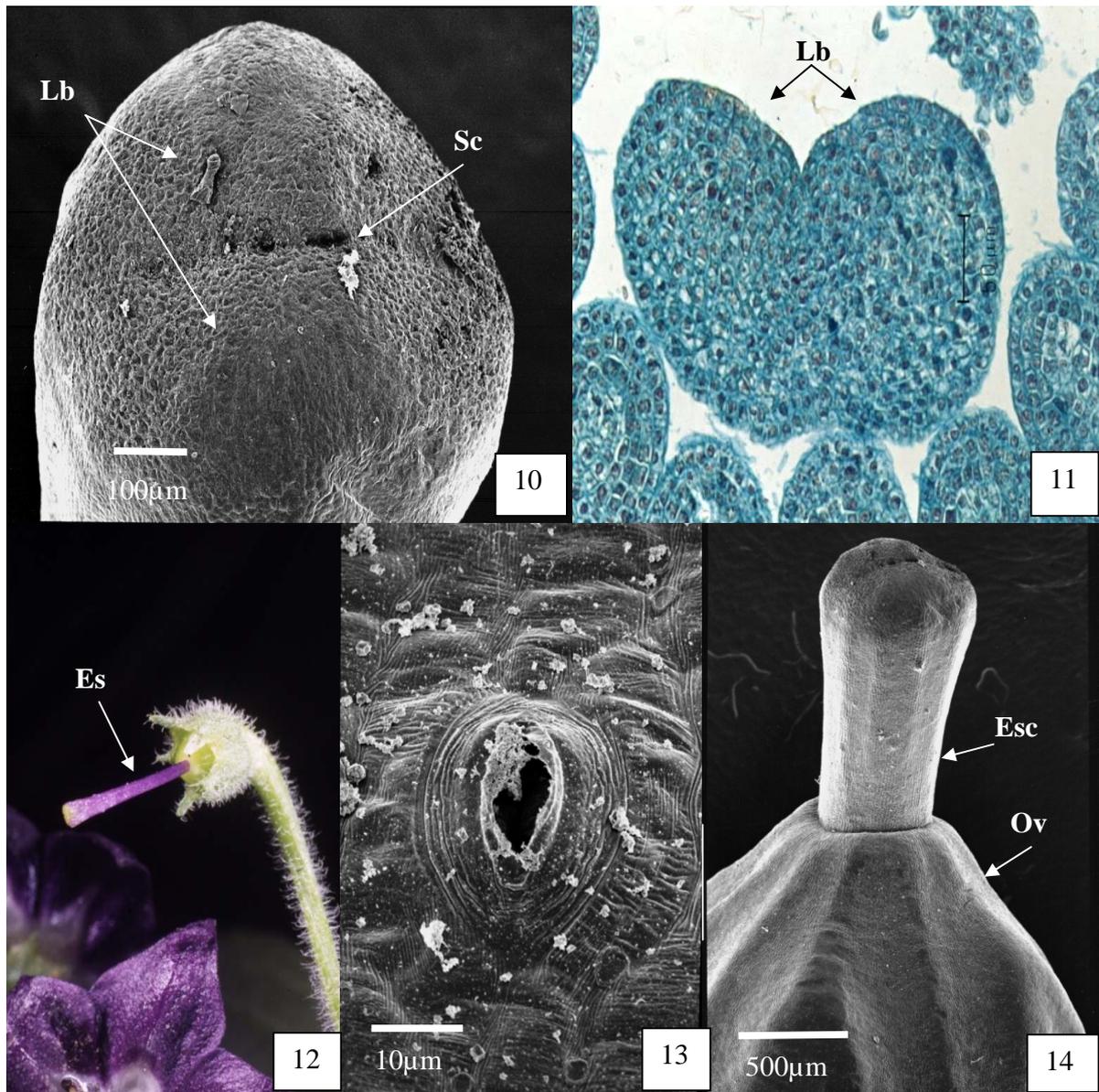


Figura 10. Estigma bilobulado (**Lb**), con surco central (**Sc**); 150X. Figura 11. Corte transversal de estigma mostrando los dos lóbulos (**Lb**) 100X Campo claro. Figura 12. Estilo largo de forma cilíndrica en fruto (**Es**). Figura 13. Estoma abierto en el estilo; 2000X. Figura 14. Gineceo con estilo corto (**Esc**) y ovario (**Ov**); 50X.

HISTOLOGIA DEL PERIANTO

Los sépalos tienen una epidermis adaxial, formada por células cuadrangulares, presentando tricomas largos; en el mesófilo se encuentran abundantes cloroplastos sobre todo en los estratos cercanos a la epidermis adaxial además de la presencia de numerosas células idioblásticas: unas saturadas de arenas cristalinas otras con drusas y algunas con cristales poligonales. El haz vascular es de tipo colateral, la pared celular de dos estratos del mesófilo cercanos a la epidermis abaxial se observan muy lignificados dando una coloración roja al aplicar la técnica de rojo 'O' de aceite (López et al., 2005) (Figura 15). La epidermis abaxial se observa con células cuadrangulares ligeramente de mayor tamaño con respecto a las células de la epidermis adaxial presentando un gran número de tricomas de tipo glandular (Figura 16).

Los pétalos están formados por una epidermis adaxial, un parénquima formado de 4 a 5 estratos con abundantes gránulos de almidón y una epidermis abaxial (Figura 17).

ANDROCEO

MICROSPORANGIO

Las anteras son tetrasporangiadas (Figura 18); el desarrollo de la pared de la antera es de tipo dicotiledóneo. El estrato parietal primario se divide en forma periclinal para dar origen a dos capas parietales secundarias; la capa parietal secundaria interna se diferenciará directamente en tapete (Figura 19) y el estrato parietal secundario externo se divide nuevamente periclinalmente para dar origen al endotecio y una capa media. Finalmente la capa media se divide periclinalmente para formar dos capas medias (Figura 20).

La pared del microesporangio joven queda constituido por una epidermis de células rectangulares con núcleos prominentes, un endotecio con células cúbicas, dos capas medias que se observan delgadas en comparación a las otras capas, un tapete externo originado por la capa parietal primaria de tipo glandular, binucleado formado por células cúbicas (Figura 21). El tapete interno deriva del tejido conectivo es binucleado y glandular como el tapete externo, anatómicamente está formado por células radialmente alargadas, escaso citoplasma, una gran vacuola que desplaza los núcleos hacia un extremo de la pared; de modo que quedan en una posición opuesta al tejido esporógeno.

Comparativamente las células del tapete interno son de mayor tamaño respecto a las células del tapete externo (Figura 22).

Conforme se desarrolla la antera hacia un estadio más avanzado, la antera experimenta grandes cambios, la cutícula se observa engrosada, la epidermis con taninos, el endotecio desarrolla engrosamientos secundarios en su pared en forma helicoidal (Figura 23), y se involucra en la dehiscencia de la antera. Las capas medias se adelgaza considerablemente, la capa media cercana al tapete es la primera que se consume, la capa media restante permanece en ocasiones hasta la dehiscencia. Finalmente, el tapete después de haber cumplido con su función de nutrición de las microsporas y formación de la exina se consume.

El tejido conectivo ubicado entre los microesporangios tiene células vacuoladas, de gran tamaño, que contienen abundantes cristales de tipo poligonal, drusas, agregaciones esféricas de cristales con estructuras radiales o concéntricas llamadas esferulitas, arenas de cristal y grandes depósitos de amiloplastos. El haz vascular se observa concéntrico anficribal, ya que el xilema queda rodeado por floema (Figura 24).

El tejido de reabsorción en posición subepidérmica en la zona del estomio, entre los lóculos adyacentes de la antera, (Figura 24) está formado, en un principio, por una hilera de 22 a 24 células de forma rectangular, con núcleos muy grandes y citoplasma densamente teñido, al desarrollarse los granos de polen estas células experimentan divisiones periclinales y llegan a formar de dos a tres estratos, los núcleos dejan de ser visibles al igual que las paredes celulares observándose arenas cristalinas (Figura 25). Cabe mencionar que al observar el grano de polen maduro fuera de la antera en el MEB se aprecian pequeñas drusas alrededor del grano de polen y en el estomio.

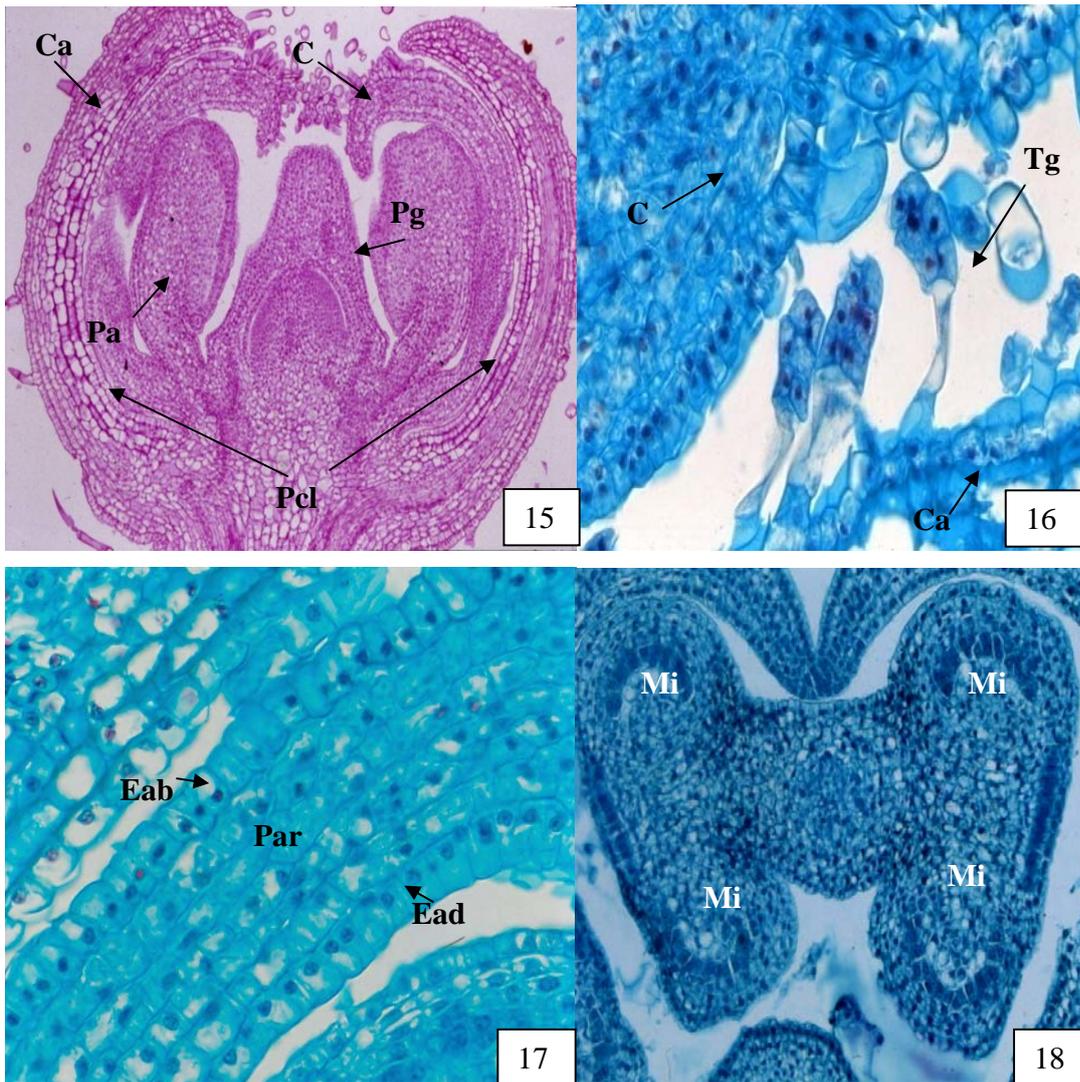


Figura 15. Corte longitudinal de botón floral en un estadio temprano de desarrollo mostrando Cáliz (**Ca**), Corola (**C**), primordios de antera (**Pa**) y primordio de gineceo (**Pg**); paredes celulares lignificadas (**Pcl**) 10X Campo claro. Figura 16. Corte transversal de botón floral mostrando epidermis adaxial del cáliz (**Ca**) con tricomas glandulares (**Tg**), Corola (**C**). 100X Campo claro. Figura 17. Corte transversal de pétalo mostrando epidermis adaxial (**Ead**), parénquima (**Par**) y epidermis abaxial (**Eab**). 100X Campo claro. Figura 18. Corte transversal de antera mostrando cuatro microsporangios (**Mi**) 50X Campo claro.

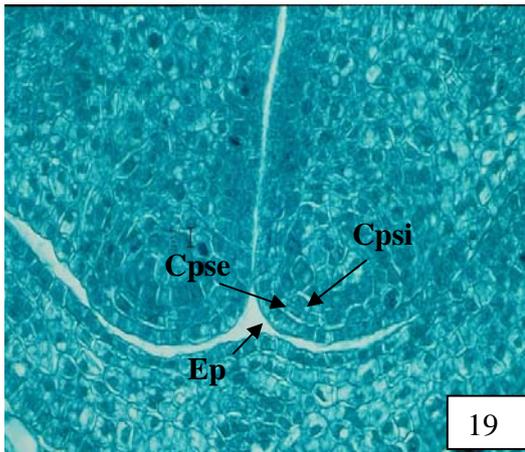


Figura 19. Corte transversal de la antera. Primera división de la capa parietal primaria. Epidermis (**Ep**), capa parietal secundaria externa (**Cpse**) y capa parietal secundaria interna (**Cpsi**) 100X campo claro.

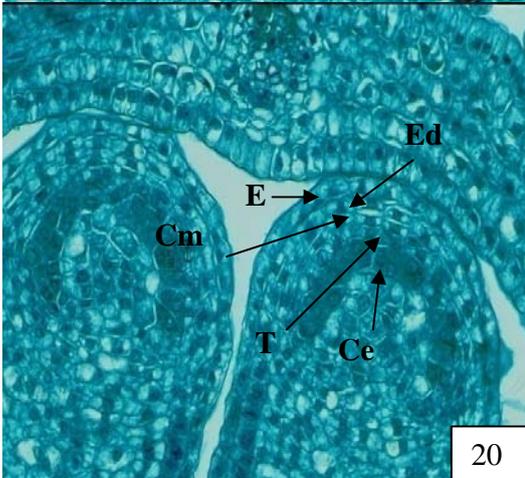


Figura 20. Corte transversal de la antera. Epidermis (**E**), endotecio (**Ed**), capa media (**Cm**), tapete (**T**) y células esporógenas (**Ce**) 100X campo claro.

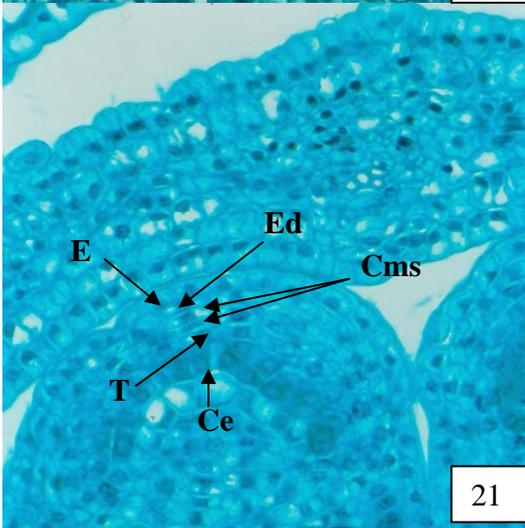


Figura 21. Corte transversal de la antera joven. Epidermis (**E**), endotecio (**Ed**), capas medias (**Cms**), tapete (**T**) y células esporógenas (**Ce**) 100X campo claro.

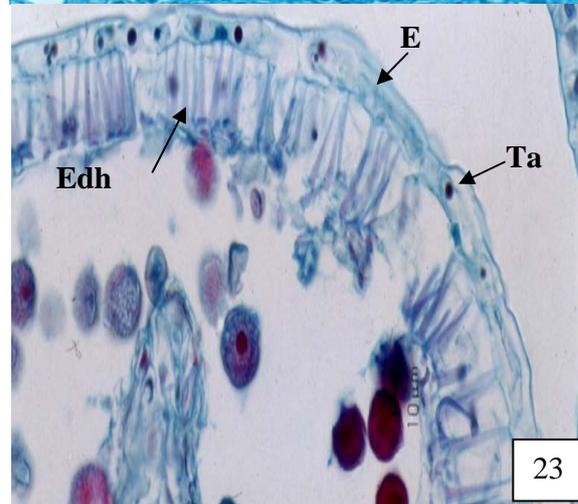
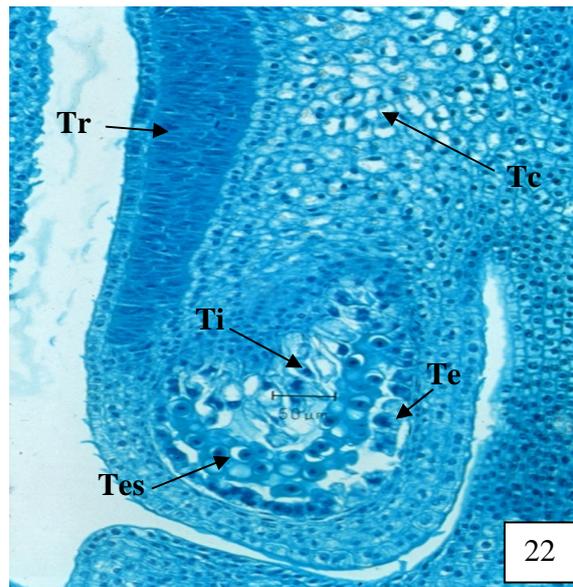


Figura 22. Corte transversal de antera mostrando tapete externo (**Te**) y tapete interno (**Ti**), tejido de reabsorci3n (**Tr**), tejido conectivo (**Tc**) y tejido esporog3no (**Tes**) 50X campo claro. Figura 23. Detalle de la pared de la antera madura mostrando epidermis (**E**) con taninos (**Ta**), engrosamientos en forma helicoidal en el endotecio (**Edh**). 200X campo claro.

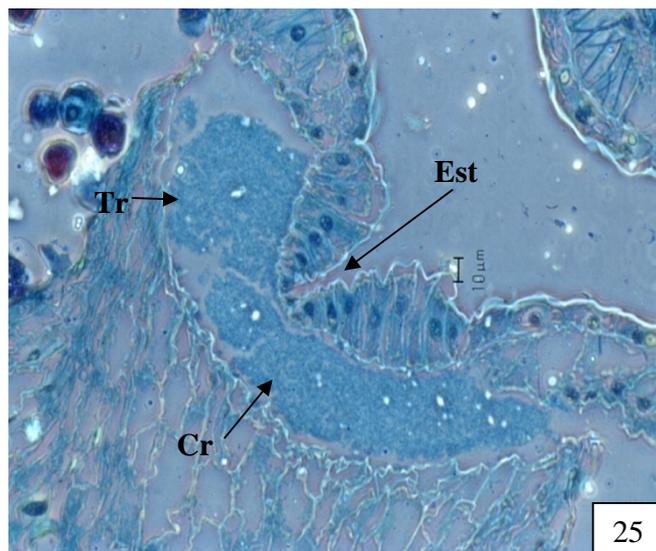


Figura 24. Corte transversal de antera. Tejido conectivo (**Tc**), haz vascular (**Hv**) y tejido de reabsorción (**Tr**), Filamento (**Fi**) 25X campo claro. Figura 25. Acercamiento del tejido de reabsorción (**Tr**) formado de cristales (**Cr**), el estomio se observa muy adelgazado preparándose para la dehiscencia (**Est**) 50X contraste de fases.

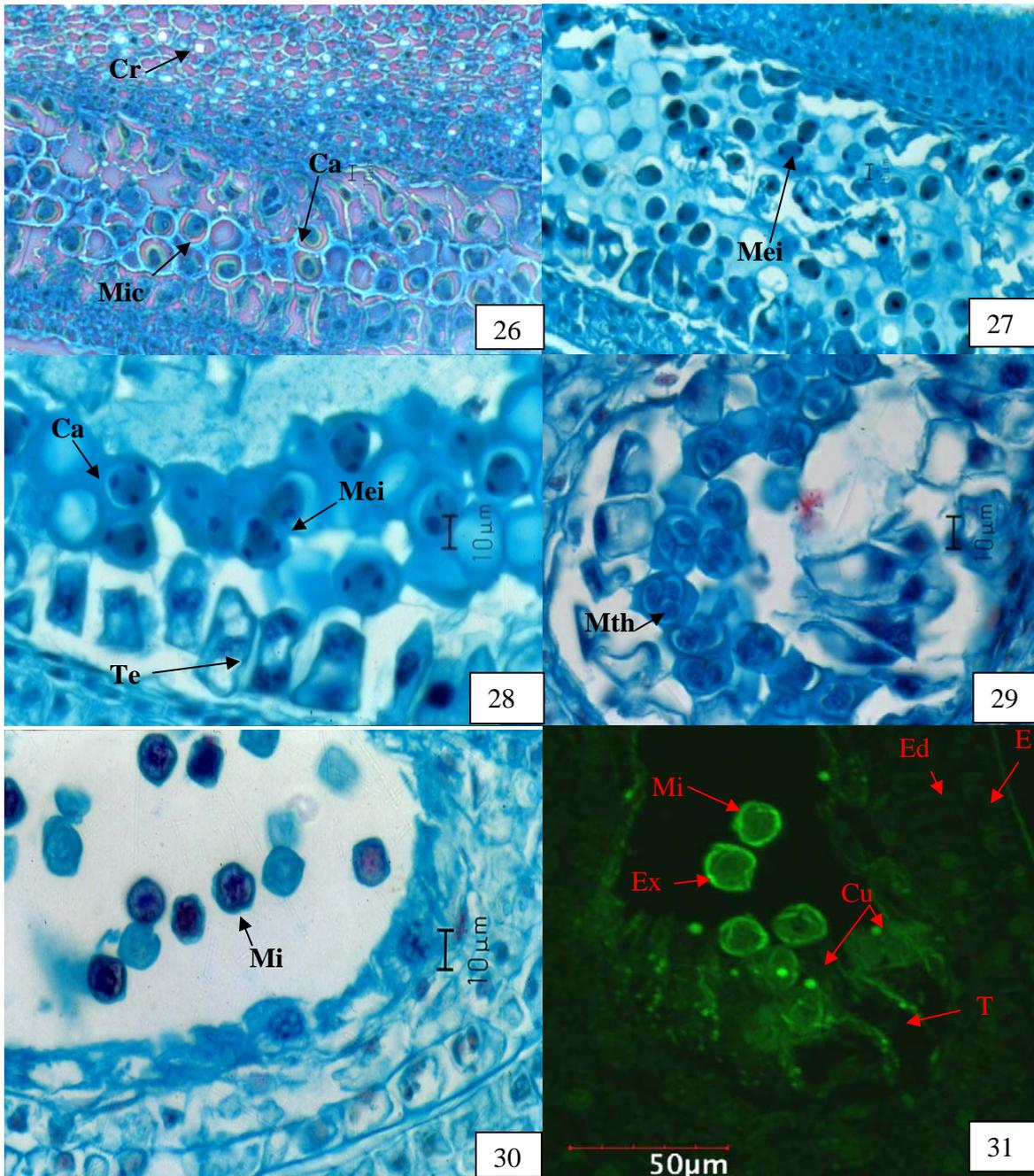
MICROESPOROGÉNESIS.

El tejido esporógeno es originado después de la primera división periclinal de las células arquesporales, las células que forman este tejido poseen una estructura isodiamétrica, núcleos prominentes y están densamente teñidas indicando una gran actividad metabólica. Los microesporocitos antes de entrar a la meiosis I se observan rodeados de calosa, una sustancia que se tiñe de verde-azul brillante (Figura 26). Al realizarse la meiosis I y la meiosis II (Figura 27), los meiocitos no presentaron formación de pared celular por tal motivo *Capsicum pubescens* presenta una citocinesis de tipo simultánea (Figura 28). Cabe mencionar que la meiosis en los microesporangios se presenta de forma asincrónica. El arreglo que presentan las microsporas en estadio de tétrada es de tipo tetraédrica (Figura 29).

Al degradarse la pared de calosa que mantiene unidas a las microsporas en tétradas, da lugar a cuatro microsporas que se observan con material genético que poco a poco se va concentrando en el centro (Figura 30). En este momento con la ayuda del microscopio confocal se observaron los cuerpos de Ubisch (orbículos) aportaciones que hace el tapete a la microespora (Figura 31) para la formación de la pared del grano de polen.

MICROGAMETOGÉNESIS

Al iniciarse la microgametogénesis se observó que en la microespora se forma una gran vacuola que ocupa la mayor parte del protoplasto desplazando al núcleo hacia la periferia (Figura 32), iniciándose así la primera mitosis quedando dos células, el de mayor tamaño que es la célula vegetativa y el otro de menor tamaño pertenece a la célula generatriz. En ese momento el grano de polen joven se observa saturado de gránulos de almidón (Figura 33). Al absorberse la gran vacuola los dos núcleos se posicionan al centro del grano de polen. El grano de polen se libera bicelular, tiene 3 colpos y 3 poros (Figura 34) por lo tanto y de acuerdo a Erdtman, (1967) se clasifica como tricolporado, tectado y microreticulado (Figura 35).



Figuras 26-31. Ontogenia de las microsporas. Figura 26. Microsporocitos (**Mic**) rodeados de calosa (**Ca**) y cristales en tejido conectivo (**Cr**) 100X contraste de fases. Figura 27. Meiocitos en meiosis I (**Mei**), 200X campo claro. Figura 28. Meiocitos en meiosis II (**Mei**), tapete externo (**Te**), calosa (**Ca**) 200X campo claro. Figura 29. Tetráda de microsporas en forma tetraédrica (**Mth**). 100X campo claro. Figura 30. Microsporas (**Mi**) con cromatina 100X campo claro. Figura 31. microsporas (**Mi**), Epidermis (**E**), endotecio (**Ed**), tapete (**T**), cuerpos de Ubish (**Cu**) y exina (**Ex**) microscopia confocal.

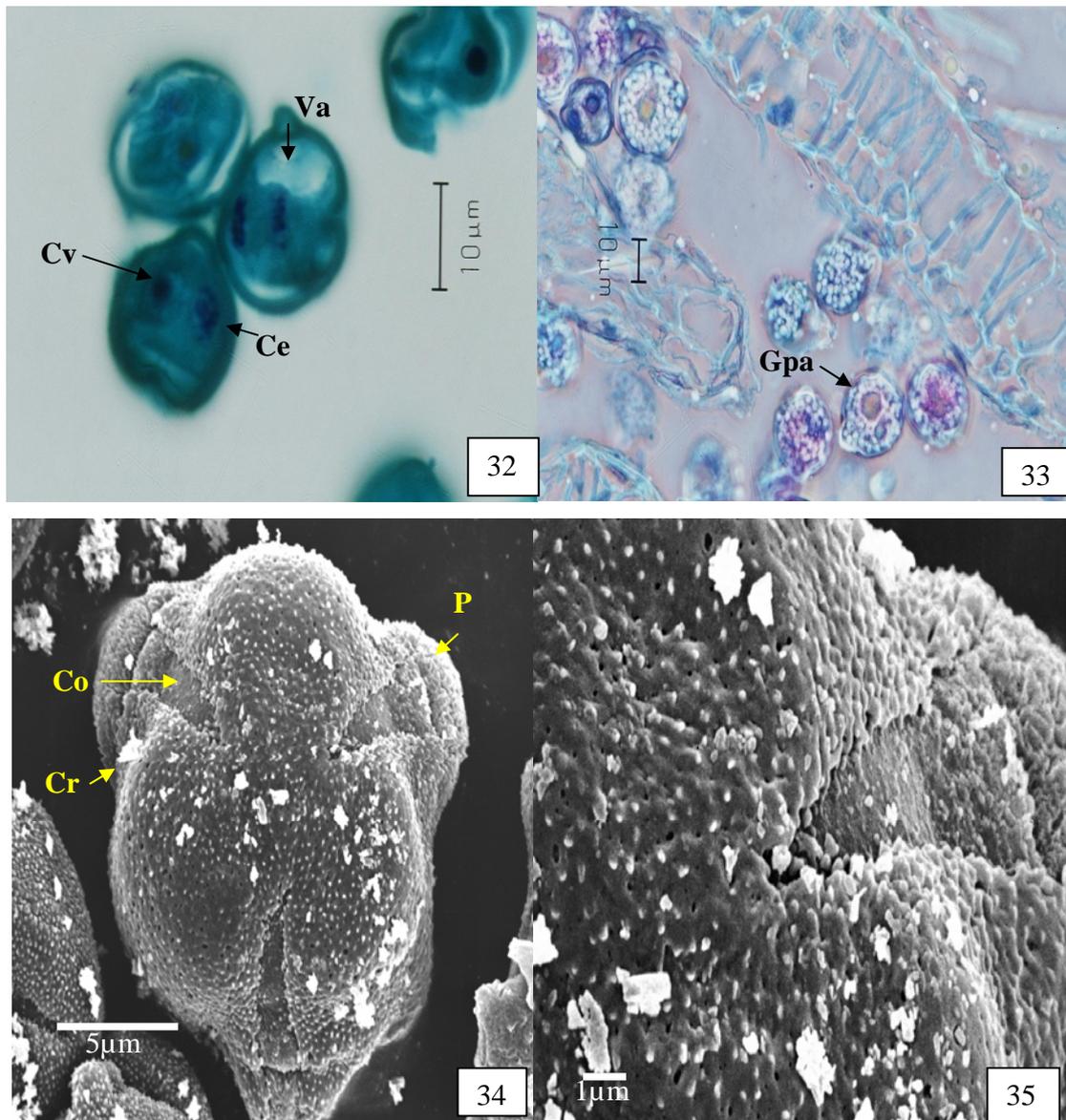


Figura 32. Grano de polen joven. Vacuola (**Va**), célula vegetativa (**Cv**), célula espermática (**Ce**) 500X campo claro. Figura 33. Granos de polen binucleados, saturados de amiloplastos (**Gpa**) 200X contraste de fases. Figura 34. Vista polar de granos de polen maduro colporado, triporado (**Po**), **Co**) y con Cristales (**Cr**); 3,500X. Figura 35. Acercamiento del grano de polen mostrando exina microreticulada, tectada y cristales en la superficie; 10,000X.

GINECEO

El estigma es glabro, capitado y sin papilas estigmáticas; el estilo es sólido, histológicamente está compuesto por una epidermis, un parénquima cortical y tejido de transmisión; el parénquima cortical contiene abundantes idioblastos saturados de arenas cristalinas, cristales poligonales y esferulitas (Figura 36) y la presencia de gran cantidad de amiloplastos; el tejido de transmisión, en corte longitudinal, presenta células alargadas claramente distinguibles por su forma rectangular (Figura 37), estas células se observan con citoplasma muy denso y núcleos grandes este tejido puede ser bi, tri o tetralobulado según sea el número de carpelos que lo constituyen (Figura 38). Después que la flor es polinizada el tejido de transmisión se observa colapsado (Figura 39).

La pared del ovario está formada por una epidermis externa con células rectangulares alargadas perfectamente alineadas y muy juntas, un parénquima con abundantes idioblastos saturados de arenas cristalinas y esferulitas, una epidermis interna con células cuadrangulares. Conforme va madurando el ovario las células subyacentes a la epidermis interna comienzan a incrementar su tamaño de 3 a 4 veces su tamaño inicial, formando una gran vacuola que desplaza los núcleos hacia la periferia (Figura 40). Posteriormente estas células idioblásticas de gran tamaño tendrán función secretora en el fruto.

Dentro del ovario crecen un gran número de primordios nucelares rodeados por una capa de células protodérmicas. Los primordios de óvulos se diferencian y crecen al igual que el tegumento, curveándose hasta constituir un óvulo anátropo que posee un solo tegumento pluriestratificado, con un funículo muy corto que los une a la placenta (Figura 41).

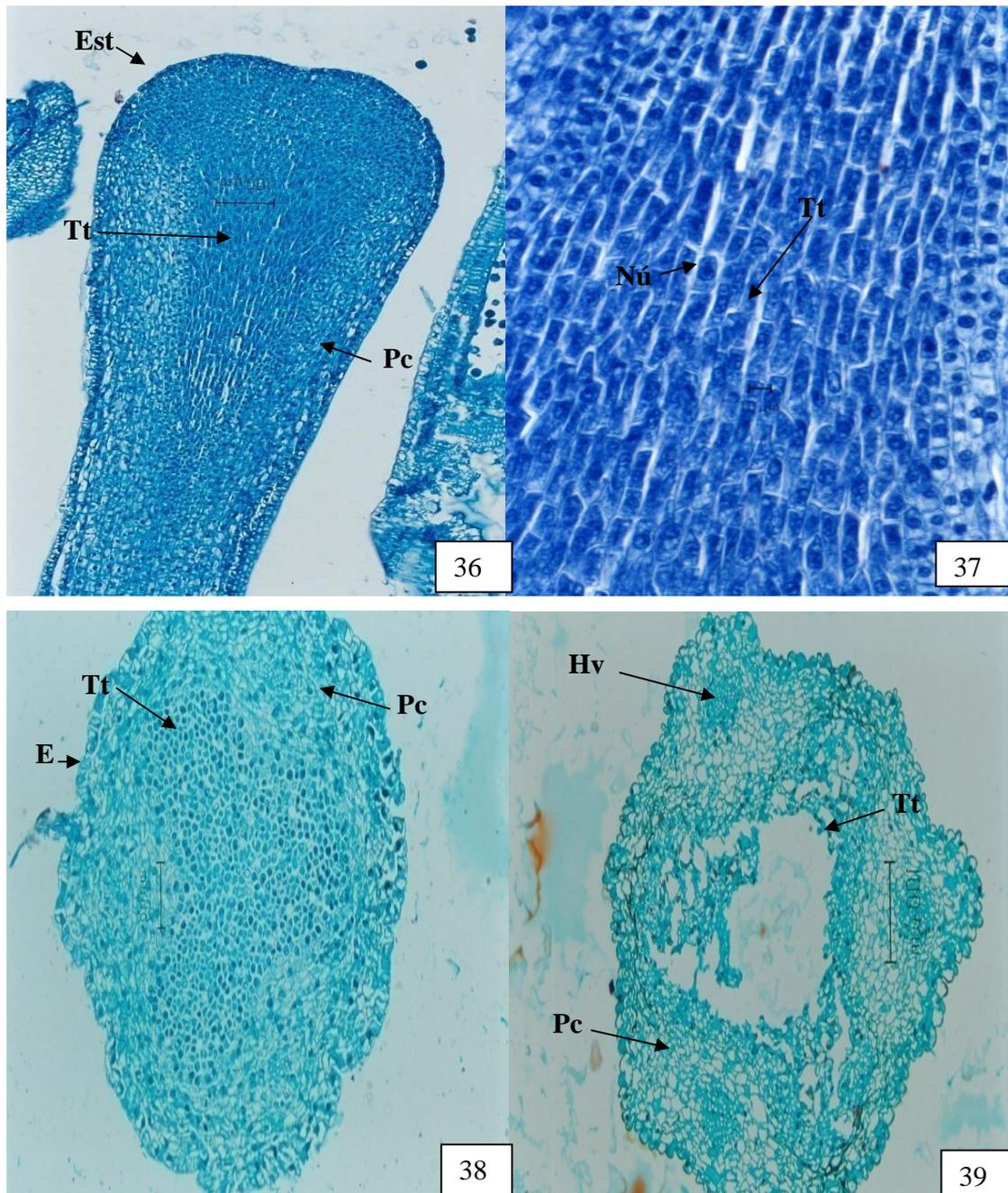
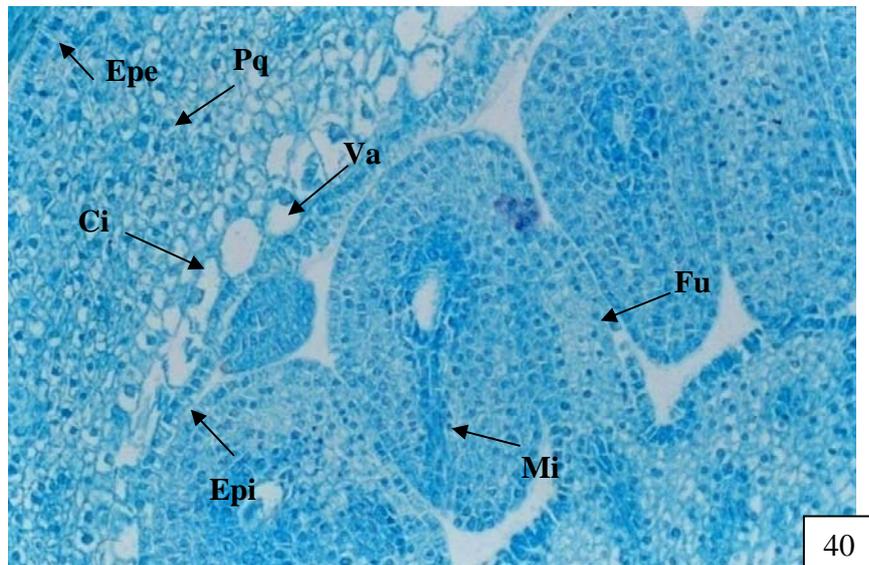
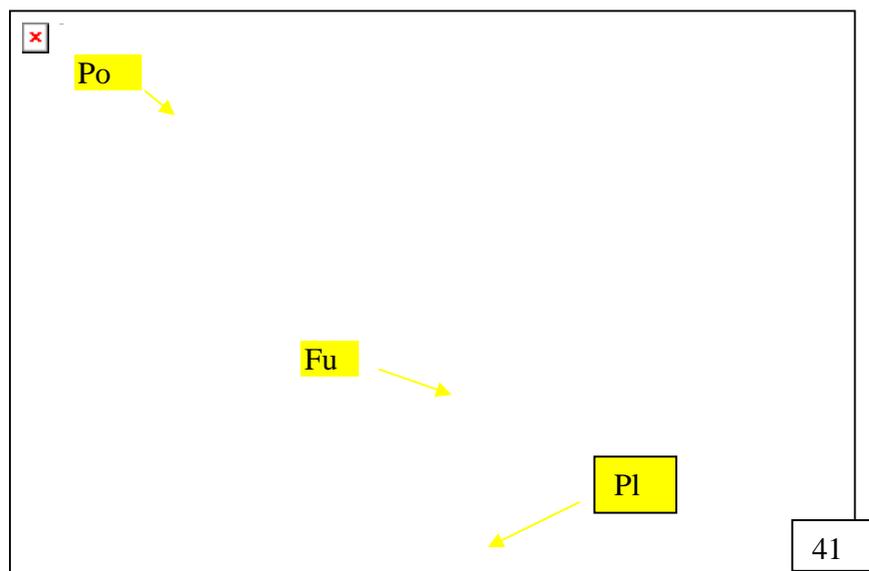


Figura 36. Corte longitudinal del estilo de flor casi en antesis. Estigma (**Est**), parénquima cortical (**Pc**), tejido de transmisión (**Tt**) 37.5X campo claro. Figura 37. Acercamiento del tejido de transmisión mostrando células densamente teñido (**Tt**), y núcleo de gran tamaño (**Nú**) 100X campo claro. Figura 38. Corte transversal del estilo de flor casi en antesis, epidermis (**E**), parénquima cortical (**Pc**), tejido de transmisión trilobulado (**Tt**) 50X campo claro. Figura 39. Corte transversal de estilo de flor ya fecundada observándose tejido de transmisión colapsado (**Tt**), parénquima cortical (**Pc**) y haz vascular (**Hv**) 50X campo claro.



40



41

Figura 40. Corte longitudinal de ovario. Epidermis externa (**Epe**), parénquima (**Pq**), células idioblásticas (**Ci**), epidermis interna (**Epi**), vacuola (**Va**), funículo (**Fu**) y micrópilo (**Mi**) 100X campo claro. Figura 41. Óvulo anátropo. Pared del ovario (**Po**) con idioblastos subyacentes a la epidermis interna. Funículo (**Fu**), placenta (**Pl**); 200X.

MEGASPOROGÉNESIS

En el primordio del óvulo la célula arqueosporial, de posición subepidérmica, se distingue tempranamente por ser de gran tamaño y poseer un núcleo muy prominente y citoplasma denso. Esta célula se diferencia directamente en la célula madre de la megaspora y el primordio del tegumento de igual manera se diferencia tempranamente envolviendo al primordio nucelar (Figura 42 y 43).

La célula madre de la megasporas experimenta una primera división meiótica (Figura 44) dando origen a una díada; en este momento el tegumento ha crecido tanto que ya envuelve a la nucela formando el micrópilo (Figura 45).

Posteriormente estas células experimentan una segunda división meiótica dando origen a cuatro células, de las cuales tres degeneran quedando una megaspora funcional en posición calazal, misma que da origen al saco embrionario.

MEGAGAMETOGÉNESIS

La megaspora funcional experimenta una primera división mitótica formándose una gran vacuola central que desplaza los núcleos. Uno de ellos hacia la región micropilar y el otro a la región calazal (Figura 46), posteriormente en cada uno de estos núcleos ocurre una segunda división mitótica dando origen a cuatro núcleos haploides (Figura 47); finalmente una tercera división mitótica da origen a ocho núcleos que forman al saco embrionario: tres antípodas (Figura 48), dos núcleos polares muy juntos ubicados en la célula central (Figura 49) y el aparato de huevo formado por dos células sinérgidas y una ovocélula. Estas células presentan una gran vacuola que desplaza sus núcleos hacia la región micropilar (Figura 50), en donde se forma el aparato filiforme y esta región se observa muy teñida (Figura 49). La ovocélula de gran tamaño se posiciona arriba de las sinérgidas (Figura 48). En un estadio más avanzado se observó que los núcleos polares se fusionan antes de que la flor sea polinizada y posteriormente darán origen a una triple fusión cuando se una con un núcleo espermático (Figura 51).

Por el número y posición de los núcleos al final del desarrollo del saco embrionario concluimos que *Capsicum pubescens* presenta saco embrionario del tipo *Polygonum*.

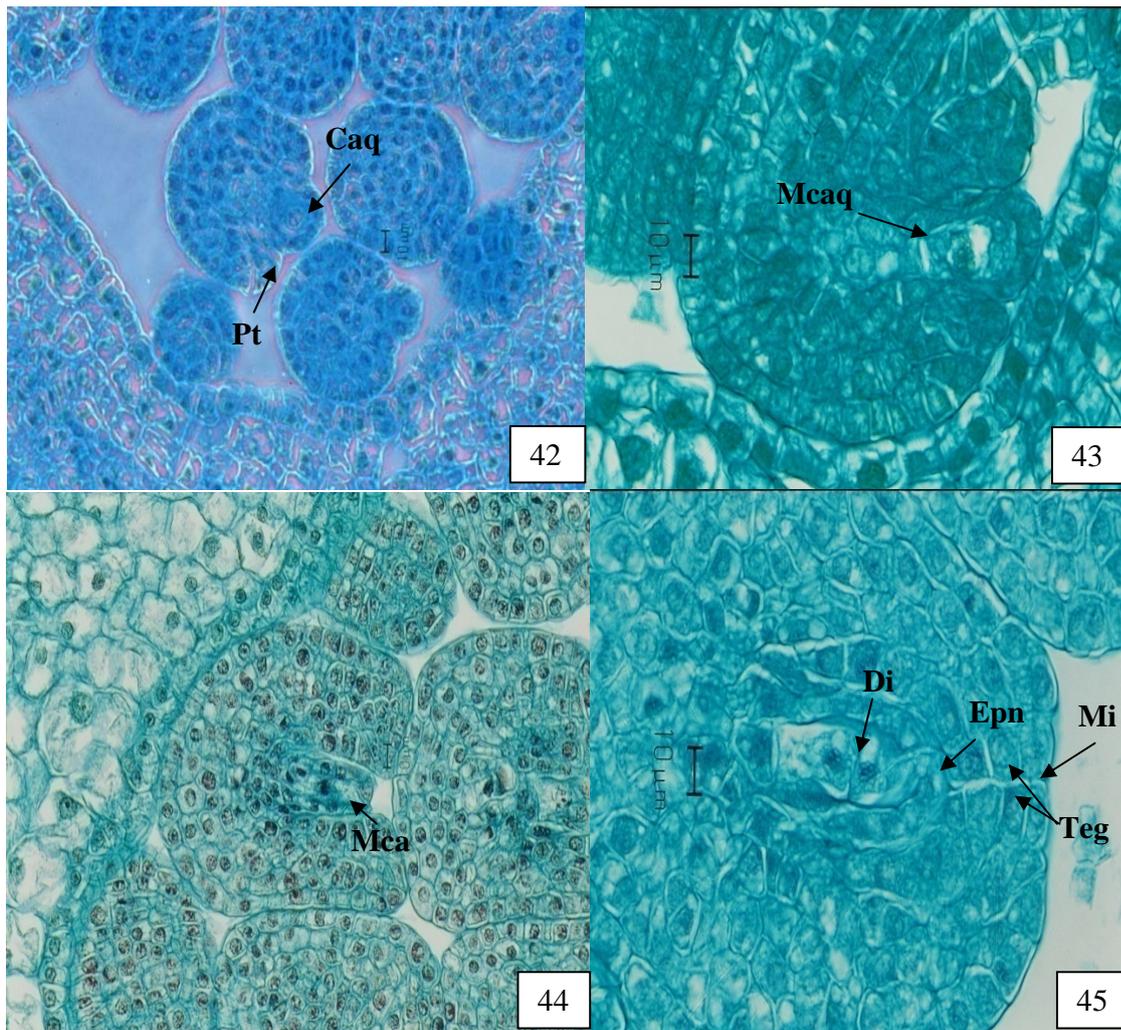
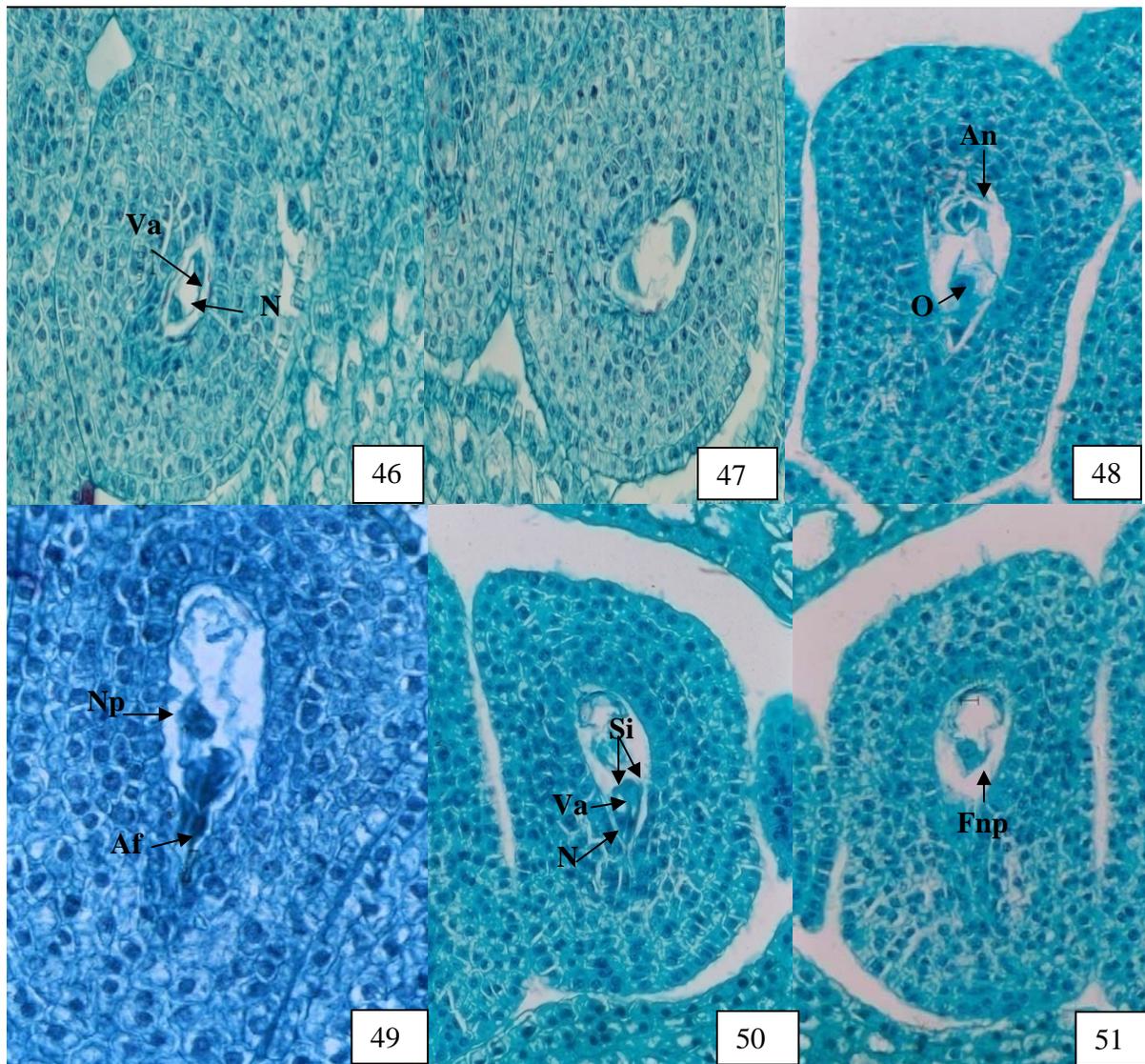


Figura 42. Primordio de óvulo mostrando la célula arquesporial (**Caq**) y primordio de tegumento (**Pt**) 200X contraste de fase. Figura 43. Célula arquesporial en estadio más avanzado (**Caq**) 100X campo claro. Figura 44. Óvulo en metafase I de la célula arquesporial (**Mca**). 100X Campo claro. Figura 45. Primera meiosis dando como resultado un diada (**Di**), epidermis nucelar (**Epn**), tegumento (**Teg**) y micrópilo (**Mi**) 200X campo claro.



Figuras 46 - 51. Ontogenia del saco embrionario. Figura 46. Primera división mitótica, núcleos desplazados por vacuola central (**Va**) 100X campo claro. Figura 47. Segunda división mitótica 100X campo claro. Figura 48. Antípodas (**An**) 100X campo claro. Figura 49. Núcleos polares (**Np**) y aparato filiforme (**Af**). 100X campo claro. Figura 50. Sinérgidas (**Si**); núcleos (**N**) y vacuola (**Va**) 100X campo claro. Figura 51. Fusión de los núcleos polares (**Fnp**). 100X campo claro.

DISTRIBUCIÓN DE CRISTALES EN EL BOTÓN FLORAL

Se observan células idioblásticas con cristales de diferentes tipos, en los verticilos florales de *Capsicum pubescens*, desde etapas muy tempranas. Los primeros cristales en observarse son arenas cristalinas; estos cristales se distribuyen en casi todos los verticilos siendo abundantes en cáliz y ovario, son visibles durante todo el desarrollo; en contraste de fases se observan muy brillantes (Figura 52 y 53). Las esferulitas son agregaciones esféricas de cristales con estructuras radiadas o concéntricas; se observan en la mayoría de los verticilos, en etapas muy tempranas, en tejido conectivo de la antera (Figura 54) pared del ovario (Figura 55). Con luz polarizada estas estructuras son muy brillantes y dejan de ser visibles (en antera) poco antes de la dehiscencia.

Los cristales poligonales son de forma rectangular y cuadrangular, se ubican principalmente en tejido conectivo, sin dejar de estar presentes en los otros verticilos pero en menor proporción; ocasionalmente se observan cristales poligonales y esferulitas en la misma célula. Los cristales poligonales se observan menos brillantes respecto a las otras estructuras cristalinas observadas (Figura 56).

Las drusas se observan escasamente en los verticilos durante todo el desarrollo. En la antera específicamente en el tejido de reabsorción se observa la formación de arenas cristalinas muy finas pero no se distinguen estructuras definidas como drusas; hasta el momento de la dehiscencia cuando es liberado el grano de polen se observan las drusas en estomio y en los granos de polen liberados, pareciera que las drusas se enmascararan (Figura 57).

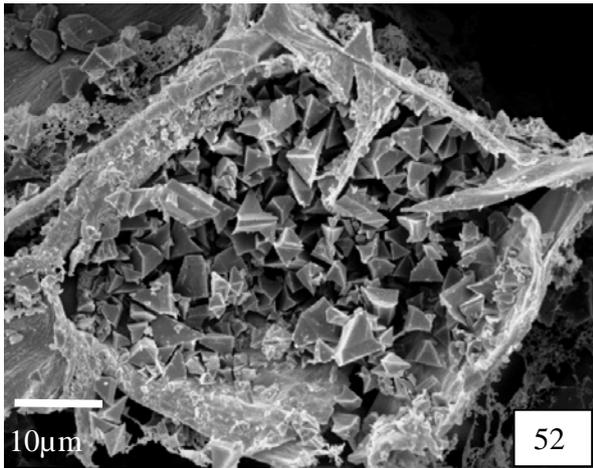
El androceo y gineceo son los verticilos que presentan la mayor concentración de cristales, siendo las anteras, las que presentan los cuatro tipos de cristales en mayor proporción (Ver cuadro 2).

Con la ayuda del microscopio de luz polarizada y contraste de fases se pueden observar estas estructuras cristalinas y otras estructuras como los engrosamientos en endotecio y los haces vascular (Figura 58).

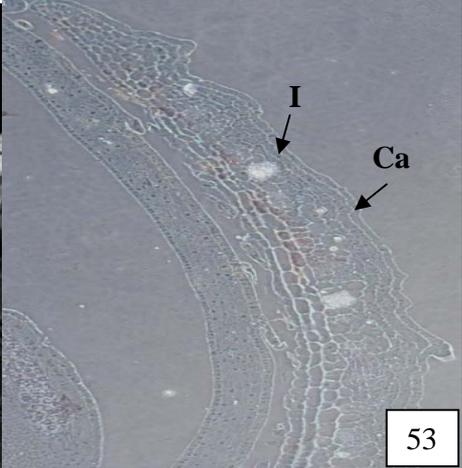
Cuadro 2. Localización, abundancia y tipos de cristales que se observaron en los verticilos del botón floral de *Capsicum pubescens*.

VERTICILLO FLORAL		ARENAS CRISTALINAS	ESFERULITAS	CRISTALES POLIGONALES	DRUSAS
CALIZ		XXX	X	X	X
COROLA		X	X		
ANDROCEO	TEJIDO CONECTIVO	X	XXX	XXX	XX
	ESTOMIO				XXX
GINECEO	ESTIGMA				
	ESTILO	X	X	X	X
	OVARIO	XXX	XX	XX	XX

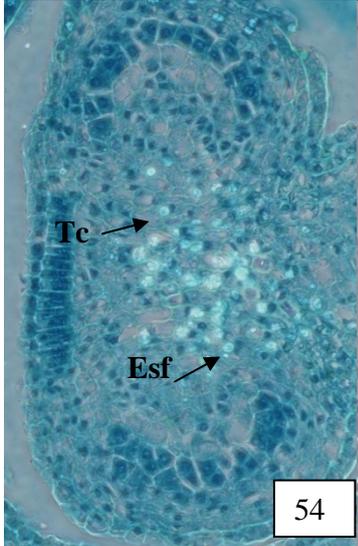
xxx = abundantes xx = regular x = escasos



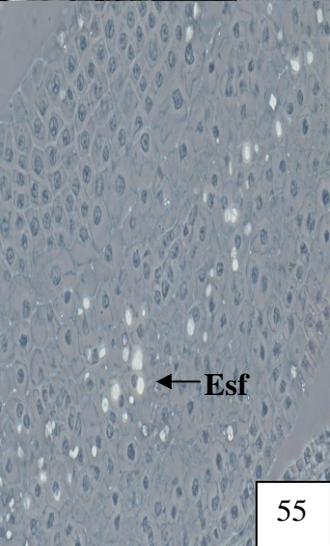
52



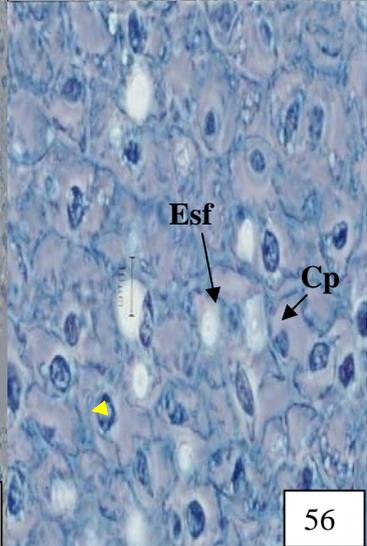
53



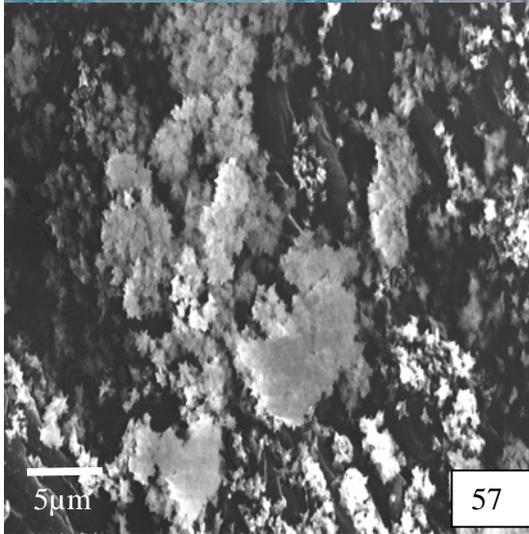
54



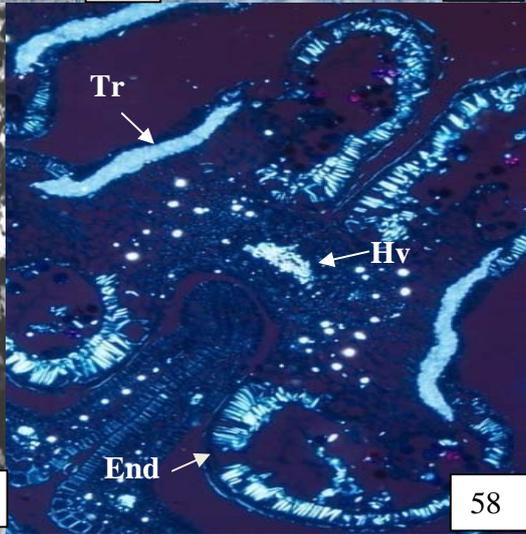
55



56



57



58

Figura 52. Idioblasto en cáliz lleno de arenas cristalinas; 1,500X. Figura 53. Corte longitudinal de botón floral mostrando idioblastos (**I**) con arenas cristalinas en sépalo (**Ca**) 25X. contraste de fases. Figura 54. Corte transversal de antera mostrando tejido conectivo (**Tc**) con abundantes esferulitas (**Esf**) 100X contraste de fases. Figura 55. Corte longitudinal de la pared del ovario mostrando esferulitas distribuidas en la parte media del parénquima. 100X contraste de fases. Figura 56. Tejido conectivo con cristales poligonales (**Cp**) y esferulitas (**Esf**). 250X contraste de fases. Figura 57. Estomio con drusas; 3,500X. Figura 58. Corte transversal de antera mostrando engrosamientos del endotecio de forma helicoidal (**End**), tejido de reabsorción y tejido conectivo con haz vascular (**Hv**) 25X Microscopía de luz polarizada.

DISCUSIÓN

FLOR

Las flores de *Capsicum pubescens* presentan algunas diferencias con respecto a las flores de las otras especies cultivadas de *Capsicum*; 5 pétalos parece ser el número constante en las especies silvestres, mientras que en las especies cultivadas varía entre 5-7 ó más como es el caso en *C. pubescens*; el color morado de la corola que presenta *C. pubescens* sólo es compartido con las especies silvestres *C. cardenasii* y *C. eximium*, para las otras especies generalmente predomina el color blanco. (Greenleaf, 1986).

La presencia de nectarios en la base de los pétalos parece estar únicamente presente en *C. pubescens*, para *C. baccatum*, *C. praetermissum*, *C. eximium* y *C. cardenasii* solo se describe una mancha de color amarillo en la garganta de la corola y no se indica si hay nectarios (Greenleaf, 1986), para el caso de *C. annuum*, Rabinowitch *et al.*, (1993) mencionan la presencia de nectarios en la parte basal del ovario.

El color de las anteras es otro carácter distintivo en las especies de *Capsicum*; el color morado o azulado que presenta *C. pubescens* es compartido con las especies *C. annuum var. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinenses*, y difiere de *C. baccatum* que tiene las anteras de color amarillo. (Greenleaf, 1986). Las anteras tetraesporangiadas y la dehiscencia longitudinal son una característica constante en el género (Nuez et al., 1996).

ANDROCEO

El patrón de desarrollo de la pared de la antera tipo dicotiledóneo encontrado en *Capsicum pubescens*, es característico de la familia Solanaceae, (Davis, 1966), sin embargo, este carácter es compartido sólo con algunos géneros de la familia como *Salpichroa* (Carrizo, 2000), *Lycium cestroides* Schltl. (Bernardello, 1983), dos especies de *Atropa* L. (Sharma *et al.*, 1987), algunas especies de *Solanum* L. (Siddiqui & Khan, 1988, citados por Carrizo, 2000).

Para el caso de *Capsicum* L., Dharamadhaj (1978) sólo menciona la presencia de 4 ó 5 capas de células entre la epidermis; dos capas medias efímeras y dos capas de endotecio. Por otro lado, la formación de la pared de la antera tipo básico está presente en un gran número de géneros de la familia como:

Withania somnifera (Davis, 1966), *Brugmansia* y *Datura*, (Carrizo, 1998), *Jaborosa* (Carrizo, 2000), *Nicandra physalodes* (Carrizo, 1999), variedades de *Nicotiana rustica* L. y *Nicotiana tabacum* L. (Jagannadham, 1988, citado por Carrizo, 2000). Con estos datos se puede decir que el patrón de desarrollo de la pared de la antera tipo dicotiledóneo no es el único en la familia.

El tapete externo tipo glandular, binucleado que presenta *Capsicum pubescens* es compartido con *Capsicum frutescens* L. var. *grossus* (Cochran, 1938), *Capsicum annuum* (Bhandari, 1984 citado por Batygina, 2002), *Capsicum annuum* L. var. *acuminatum*, *C. annuum* var. *grossum*, *C. annuum* var. *longum*, *C. baccatum* var. *pendulum*, *C. frutescens* L. var. *baccatum* y *C. frutescens* L. cv. Tabasco. (Dharamadhaj *et al.*, 1978), *Lycium europaeum*, *Solanum tuberosum* y *Withania somnifera* (citados por Davis, 1966).

En la familia, se reportan engrosamientos fibrosos de forma helicoidal en el endotecio (Manning, 1996), lo que coincide con lo observado en el endotecio de *Capsicum pubescens* al presentar el mismo tipo de engrosamientos; este carácter también se presenta en algunos miembros de la familia como en: *Capsicum* L. (Dharamadhaj y Prakash, 1978), *Datura* y *Brugmansia* (Carrizo, 1988), algunas especies de *Jaborosa* y *Salpichroa* (Carrizo, 2000); aunque cabe mencionar que en algunos miembros de la familia los engrosamientos se pueden presentar en endotecio, capa o capas medias y además en epidermis. La forma helicoidal de igual manera no es única en la familia, ya que pueden ser en forma de “U”, reticulado o de tipo anular.

La formación del tejido de reabsorción al que se le atribuye participación en la apertura de la antera está presente de una manera conspicua en *Capsicum pubescens*, ya que el número de células que conforman este tejido es de aproximadamente 22 a 24. Tomando en cuenta las mediciones hechas por D'Arcy (1996), quien midió la longitud tangencial del tejido de reabsorción formado en las anteras de algunos miembros de la familia Solanaceae, se registró para *Capsicum pubescens* un valor de 180 micrómetros siendo este el valor más alto reportado inclusive para especies del mismo género como *Capsicum annuum*.

MICROESPOROGÉNESIS

La microesporogénesis simultánea que se observa en *Capsicum pubescens* también se reporta para *Capsicum* L., y de igual manera las tétradas de la microspora de forma tetraédrica (Dharamadhaj, 1978).

MICROGAMETOGÉNESIS

La forma bicelular en la que se libera el grano de polen en *Capsicum pubescens* es compartida con *Capsicum* L., (Dharamadhaj y Prakash, 1978) y *Capsicum frutescens* L. (Cochran, 1938). Sin embargo, difiere en *Capsicum frutescens* L. va. Japonesa, ornamental jaspeada estudiada por Lengel (1960), quien reporta que la segunda mitosis se lleva a cabo en el grano de polen y se libera tricelular.

GINECEO

ESTIGMA

El estigma capitado, glabro y húmedo que presenta *Capsicum pubescens* se clasifica dentro del grupo IV (Heslop-Harrison y Shivana, 1977) por ser un estigma húmedo con fluido de secreción presente en la superficie durante el periodo receptivo y por presentar una superficie no papilosa; esta característica también se observa en especies de *Schizanthus* y *Datura* (Heslop-Harrison y Shivanna, 1977) y *Cestrum psittacinum* (Heslop-Harrison, 1977). Sin embargo, Rabinowitch *et al.*, 1993, mencionan que el estigma que presenta *C. annuum* está cubierto por una epidermis glandular papilosa que segrega un exudado de naturaleza compleja; esta característica es compartida con otros miembros de la familia que son clasificados según Heslop-Harrison y Shivanna (1977), en el grupo III por presentar estigma húmedo con superficie receptiva con papilas; cortas o medianas tal es el caso para *Cestrum*, *Fabiana*, *Lycopersicon*, *Nicotiana*, *Nicandra*, *Petunia*, *Physalis*, *Salpiglossis* y *Solanum*.

ESTILO

La presencia de tres longitudes diferentes en los estilos en *Capsicum pubescens* es una característica muy importante para discutir, ya que desde el punto de vista agronómico influye directamente en el amarre de frutos. En *Capsicum annuum* Muñoz y Pinto (1966, citados por Pérez *et al.*, 1997) sostienen que en las formas cultivadas el estilo es generalmente de mayor longitud que los filamentos y el estigma sobresale a las anteras; esta situación tiende a favorecer la polinización cruzada. Las flores con estilos largos son más fáciles de polinizar, en cambio las flores con estilos

cortos son más fértiles, debido a que no hay fallas en la caída del polen sobre el estigma en especies autocompatibles. También se menciona que la frecuencia con la cual el estigma sobrepasa las anteras es mayor en variedades de fruto pequeño y menos frecuente en variedades de frutos grandes. Smith (1932) reportó para el tomate, que durante periodos de vientos calientes, secos y baja humedad en el suelo, los estilos se alargan anormalmente antes de la antesis. En *Solanum melongena*, Quagliotti (1979) reporta que las flores con estilos cortos presentan un porcentaje alto de abortición, mientras que las flores con estilos medianos son más eficientes para amarrar frutos. En *Capsicum pubescens* los estilos son más largos en primavera-verano que en otoño-invierno (Urbizu, comunicación personal). Pichersgill (1969; citado por Chávez y Castillo, 1999), sostiene que cuando se comparan las variedades silvestres del género *Capsicum* con las variedades cultivadas se observa que las primeras tienen estilos largos excertos arriba de las anteras, mientras que en las plantas cultivadas el estigma está cerca o al nivel de las anteras, por lo que la autopolinización es más frecuente.

Por otra parte, la presencia de estomas de diferentes formas en el estilo de *Capsicum pubescens* es un carácter poco mencionado en los miembros de la familia, sólo se menciona la presencia de escasos estomas en el estilo de los géneros *Datura* L. y *Brugmansia* (Carrizo, 1998).

Los estilos sólidos presentes en *Capsicum pubescens* son generalmente característicos de la familia; sin embargo, en algunos géneros como *Datura* (Satina, 1944), *Brugmansia* y *Nicandra physalodes* (Carrizo, 1998, 1999) se describe la presencia de un canal estilar que corre a lo largo del tejido de transmisión aunque se aclara que este canal no está muy bien delimitado.

En la pared del ovario de *C. pubescens* el crecimiento de las células del parénquima, cercanas a la epidermis interna, es también reportado en *Capsicum annuum* L. Munting (1974), las llama células gigantes, y señala que en el fruto tendrán una función secretora.

Los óvulos anátropos, unitégmicos y tenuinucelados que presenta *C. pubescens* y el tipo de saco embrionario tipo *Polygonum* es compartido con la mayoría de las solanáceas (Davis, 1966), con *Capsicum frutescens* L. (Cochran, 1938), y *Capsicum annuum* L. var. y en otras seis variedades (Dharamadhaj,1978; Munting,1974). Para el caso de *Capsicum frutescens* L. var. japonesa ornamental jaspeada se reporta que el desarrollo del saco embrionario es tipo *Allium* (Lengel,1960).

La fusión de los núcleos polares antes de la polinización que se observa en *Capsicum pubescens* también es reportada por Cochran (1938) para *Capsicum frutescens* L.; la fusión de los núcleos

polares dará como resultado una triple fusión cuando el núcleo espermático se una para formar el endoespermo.

La presencia de cristales en tejido conectivo y estomio en *Capsicum pubescens* se describe de igual manera en *Capsicum annuum* L. (Honer y Wagner, 1980); sin embargo, los cristales que se forman en el estomio de *C. annuum* son drusas, lo que difiere en *C. pubescens* donde sólo se observan arenas cristalinas aunque cabe mencionar que al ser liberado el grano de polen de la antera y con la ayuda del MEB, se observan drusas de igual manera que en la línea de dehiscencia. Esta diferencia se puede deber a que las observaciones fueron hechas con un microscopio de luz con contraste de fases y pudiera ser el caso que las drusas se estuvieran enmascarando, mientras que Honer utilizó en su trabajo microscopía electrónica de transmisión. Para *Petunia*, y *Nicotiana tabacum* (Iwano *et al.*, 2004), se observó que los cristales que se encuentran en la antera (no describen formas) y en especial los que se liberan con el grano de polen juegan un papel específico en la polinización y germinación del grano de polen en la familia.

CONCLUSIONES

El propósito de esta tesis se cumplió ya que la microsporogénesis, microgametogénesis, megasporogénesis y megagametogénesis descritas en el presente trabajo aportan información básica que es de gran valor, ya que la mayoría de los trabajos embriológicos realizados para el género *Capsicum* carecen de datos detallados sobre estos procesos.

La presencia de nectarios en la cara adaxial de los pétalos de *Capsicum pubescens* se describe por primera vez en las especies cultivadas de *Capsicum*.

La formación de un tejido especializado que acumula cristales, que probablemente participan en la dehiscencia de la antera, es tema de estudio ya que estos cristales también pueden estar involucrados en la germinación del grano de polen de *Capsicum pubescens*.

La presencia de tres tamaños del estilo es una característica reportada en algunos miembros de la familia sin embargo, sería de interés práctico hacer estudios comparativos de las flores y correlacionar el tamaño del estilo con características del fruto tales como: amarre, número de lóculos, grosor del pericarpio, peso fresco, peso seco, número de semillas y poder así detectar si hay diferencias significativas.

BIBLIOGRAFÍA

- Barraza, A, F.V. 2000. Crecimiento del Chile Manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) en cuatro soluciones nutritivas bajo invernadero. Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura Universidad Autónoma Chapingo. México. 142p.
- Batygina, T.B. 2002. Embryology of Flowering Plants. Science Publishers, Inc. USA. 420pp.
- Bonner, J. L.,and Dickinson,H.G. 1989. Anther dehiscence in *Lycopersicon esculentum* Mill. New Phytol. 113:97-115.
- Carrizo,G. C. 1998. Sobre el androceo y el gineceo en la tribu *Datureae* (Solanaceae) y su implicancia taxonómica. Kurtziana. 26:33-53.
- Carrizo,G.C. 1999. Estudio morfo-anatómico de los verticilos florales fértiles en *Nicandra physalodes* (Solanaceae). Kurtziana. 27(1)173-185.
- Carrizo,G.C.2000. Histología de la antera en la tribu *Jaboroseae* (Solanaceae). Kurtziana.28(2):195-204.
- Cochran, H. L. 1938. A morphological study of flower and seed development in pepper. J. Agric. Res.56 395-417.
- Cronquist,A.1988. The Evolution and Classification of Flowering Plants. NYBG.USA.555pp.
- Chávez S., J. L. 1999. Diversidad morfológica e isoenzimática del chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) en México. Tesis de Doctor en Ciencias. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Especialidad en Genética. Colegio de Posgraduados. Montecillo, Texcoco, México 138p.
- Chávez, S., J. L. y Castillo, G.F. 1999. Variabilidad en caracteres morfológicos de colecta de chile manzano (*Capsicum pubescens* R.y P.) Revista Fitotecnia Mexico. 22. 27-41.
- Davis G.L. 1966. Systematic embryology of the Angiosperms. John Wiley and Sons. New York.
- D`Arcy, W., R. Keating and S. Buchmann. 1996. The calcium oxalate package or so called resorption tissue in some angiosperm anthers. En: W.G.D`Arcy and R. C. Keating. The anther, form, function and phylogeny: 159-191. Cambridge University Press.

- Dharamadhaj, P. and Prakash, N.1978. Development of the Anther and Ovule in *Capsicum* L. Aust. J. Bot., (26): 433-439.
- Erdtman G. 1966. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms. Hafner Publishing Co., New York. 553p.
- Greenleaf, H. W.1986. Pepper Breeding. Edited by Mark J. Bassett. Vegetable Crops Department. University of Florida. Gainesville, Florida. AVI Publishing Company 594p.
- Hernández-Verdugo, S., Dávila, A. P. y Oyama, K. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. Boletín Sociedad Botánica. México 64:65-84.
- Heslop-Harrison, Y. 1977. The pollen-stigma Interaction: Pollen-tube penetration in *Crocus*. Ann. Bot. 41: 913-922.
- Heslop-Harrison, and K.R. Shivanna. 1977. The receptive surface of the angiosperm stigma. Ann. Bot. 41:1233-1258.
- Hinojosa C., G.A. 1984 Fenología. Departamento de Irrigación, Universidad Autónoma de Chapingo, México. 64 pp.
- Horner, T.H. 1974. A comparative light and electron microscopic study of microsporogenesis in male-fertile and cytoplasmic male-sterile pepper (*Capsicum annuum*). Can. J. Bot. 52: 435-441.
- Horner, H.T. and Wagner, B.L. 1980. The association of druse crystals with the developing stomium of *Capsicum annuum* (Solanaceae) anthers. Amer. J. Bot. 67(9):1347-1360.
- Horner, T.H. and Wagner, L.B. 1992. Association of four different calcium crystals in the anther connective tissue and hypodermal stomium of *Capsicum annuum* (Solanaceae) during microsporogenesis. Amer. J. Bot. 79(5): 531-541.
- Iwano, M., Entani, T., Shiba, H., Takayama, S. and Isogai, A. 2004. Calcium Crystals in the anther of *Petunia*: the existence and biological significance in the pollination process. Plant Cell Physiol. 45(1):40-47.
- Jimenez, D.K. 2002. Embriología de *Pereskia lychnidiflora* (De Candolle, 1928) Cactaceae. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D. F.
- Jones, S. B. Jr. 1988. Sistemática Vegetal. McGraw Hill. 536p.
- Lengel, P.A. 1960. INTERNET: http://kb.osu.edu/aspaces/bitstream/1811/4665/1/V60N01_008pdf

- Lezama, C. I. 2004. Caracterización poscosecha de cinco híbridos de chile manzano. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. Chapingo, México.
- Long-Solis, J. 1998. *Capsicum* y Cultura: La historia del chilli. FCE. México, 202pp
- López, C. M., J. Márquez y G. M. Sánchez, 2005 Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 178p.
- López., R. 2003. Chilli. La especia del Nuevo Mundo. Ciencias. enero-marzo 69:66-75.
- Manning, J: 1996. Diversity of endothelial patterns in the angiosperms. En: W. G. D'Arcy and R. C. Keating (eds.). The anther, form, function and phylogeny: Cambridge University Press. 136-158
- Munting, A.J.1974. Development of flower and fruti of *Capsicum annuum* L. Act. Bot. Neerl. 23(4): 415-432.
- Nuez, F., Gil, R., Costa, J. 2003. El cultivo del pimiento, chiles y ajíes. Ed. Mundi-Prensa. Madrid 607pp
- Pozo C., O.1983. Logros y Aportaciones de la Investigación Agrícola en el cultivo del Chile INIA- S.A.R.H 58p.
- Palser, B.F. 1975. The bases of angiosperms phylogeny: embryology. Ann. Missouri Bot. Gard. 62:621-646.
- Pérez G. M., Castro, B. R. y Rivera, Y. M. 1996. Distribución, descripción morfológica y caracteres de interés agronómico en chile manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) Universidad Autónoma Chapingo. México 11 p.
- Pérez,G. M., Marquez, S. F. y Peña, L. A.1997. Mejoramiento Genético de Hortalizas. Universidad Autònoma Chapingo. México 380pp.
- Pérez G. M. y Castro, B. R. 1998. Guía para la producción intensiva de chile manzano. Boletín de Divulgación No. 1 Universidad Autónoma Chapingo. 17p.
- Quagliotti, L.1979. Floral biology of *Capsicum* and *Solanum melongena* en Hawkesj. G. The Biology and taxonomy of the Solanaceae. Academic Press.
- Rabinowitch,H.D., Fahn, A., Tal, M., and Lensky. 1993. Flower and nectar attributes of pepper (*Capsicum annuum* L.) plants in relation to their attractiveness to honeybees (*Apis mellifera* L.) Ann. Appl. Biol. (1993), 123. 221-232pp.

- Ramírez-Luna, E.; C. de la C. Castillo-Aguilar; E. Aceves-Navarro; E. Carrillo-Avila. 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.
- Rodríguez, B. y Porras, M. C. 1996. *Botánica Sistemática*. Universidad Autónoma Chapingo. 328p.
- Rojas, L. P. 1997. Influencia de la intensidad luminosa en el comportamiento vegetativo y reproductivo del Chile Manzano *Capsicum pubescens* R. y P. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo. México. 90p.
- Saborio, M. y Da Costa, C. 1992. Autoincompatibilidad en *Capsicum pubescens*. *Agronomía Costarricense*. 16(2):279-286.
- Satina, S. 1944. Periclinal chimeras in *Datura* in relation to development and structure (A) of the style and stigma (B) of calyx and corolla. *Amer. J. of Bot.* 31.
- Schmid, R. 1976. Filament histology and anther dehiscence. *Bot. J. of Lin. Soc.* 73: 493-502.
- Smith, O. 1932. Relation of temperature to anthesis and blossom drop of the tomato, together with a histological study of the pistils. *J. Agric. Res.* 44(2), 183-190.
- Trigiano, N. R. and Gray, J. D. 2005. *Plant Development and Biotechnology*. CRC. Press. USA 82p.