

GERMINACIÓN Y MORFOGÉNESIS *in vitro* EN EXPLANTES DE *Capsicum annuum*

GERMINATION AND *in vitro* MORPHOGENESIS IN *Capsicum annuum* EXPLANTS

Aguilar-Jiménez, D.^{1*}; Castillo-Méndez, G. K.⁴, España-Mejía, I.², Rodríguez-De-la-O, J. L.⁴,
Salgado-Bravo, R.¹, Herrera-Cárdenas, J. A.³

¹Programa Educativo de Agrobiotecnología. Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros.
Prolongación Reforma No. 168, Barrio de Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros, Puebla, México.
CP. 74420.

²Programa Educativo de Agricultura Sustentable y Protegida. Universidad Tecnológica de Izúcar de
Matamoros. Prolongación Reforma No. 168, Barrio de Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros,
Puebla, México. CP. 74420.

³Departamento de Investigación y Desarrollo, Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros.
Prolongación Reforma No. 168, Barrio de Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros, Puebla, México.
CP. 74420.

⁴Departamento de Fitotecnia, Área de Genética. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo,
Texcoco, Estado de México, México. CP. 56230.

*Autor para correspondencia: aguilard229@gmail.com

Recibido: 23/febrero/2025

Aceptado: 01/julio/2025

RESUMEN

El género *Capsicum* tiene mucha importancia alimentaria; incluye plantas silvestres, valiosas por tener genes con tolerancia a factores bióticos y abióticos adversos. Sin embargo, son especies recalcitrantes con problemas para su propagación por semilla al presentar poca viabilidad. Como objetivo, se propuso analizar la germinación de semillas y determinar el mejor explante para obtener respuestas morfogénicas *in vitro* de distintos *Capsicum annuum*. Para ello, se empleó el medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS) al 100 %, adicionando tiamina $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mio-inositol $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, sacarosa $30.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y ajustando el pH a 5.7 ± 0.01 antes de agregar agar $7.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ para germinación de semillas. Posteriormente, se tomaron ápices, cotiledones e hipocótilos a partir de las plántulas obtenidas *in vitro* y determinar si el tipo de *Capsicum* o explante influye en la obtención de respuestas morfogénicas con 6-bencilaminopurina (BAP) $5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y ácido indol-3-acético (AIA) $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Los resultados indican que el poder germinativo de las semillas de *Capsicum* depende del tipo de especie, y se

mantiene cuando se encuentran dentro del fruto. También, la mejor formación de brotes fue en *Capsicum annuum* (pico de pájaro) a partir de ápices de forma significativa, de acuerdo a la prueba de la Diferencia Mínima Significativa (DMS, $p=0.05$).

Palabras clave: Cultivo de ápices, Micropropagación, Plantas silvestres, Reguladores de crecimiento, Genotipo.

ABSTRACT

The *Capsicum* genus is of great nutritional importance; it includes wild plants, valuable for their genes that tolerate adverse biotic and abiotic factors. However, they are recalcitrant species with problems in propagating by seed due to their low viability. The objective was to analyze seed germination and determine the best explant to obtain *in vitro* morphogenic responses of different *Capsicum annuum*. For this purpose, the Murashige and Skoog (MS) culture medium was used at 100 %, adding $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ thiamine, $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ myo-inositol, $30.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ sucrose and adjusting the pH to 5.7 ± 0.01 before adding $7.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ agar for seed germination. Subsequently, apices, cotyledons and hypocotyls were taken from the seedlings obtained *in vitro* and to determine whether the type of *Capsicum* or explant influences the obtaining of morphogenic responses with 6-benzylaminopurine (BAP) $5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and indole-3-acetic acid (IAA) $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. The results indicate that the germination capacity of *Capsicum* seeds depends on the type of species, and is maintained when they are inside the fruit. Also, the best shoot formation was in *Capsicum annuum* (bird's beak) from apices significantly, according to the Least Significant Difference (LSD, $p=0.05$) test.

Key words: Shoot culture, Micropropagation, Wild plants, Growth regulators, Genotype.

INTRODUCCIÓN

Entre la familia *Solanaceae*, el género *Capsicum* comprende a un grupo de plantas con frutos muy característicos en cuanto a tamaño, color y grado de pungencia muy variable (Pozo et al., 1991 y Hernández-Verdugo et al., 2001). Sin embargo, las plantas del género *Capsicum* pueden ser erectas, postradas o compactas con ramificaciones dicotómicas, herbáceas a leñosas con forme maduran y generalmente con tallo único hasta tener de nueve a once hojas verdaderas. Con respecto a las hojas, su color va de verde tierno a verde oscuro, son simples, enteras y asimétricas, pudiendo variar su forma desde ovalada hasta oval lanceolada y pueden ser planas y suaves o arrugadas y lisas, pero también pueden presentar pubescencia a lo largo de las nervaduras (Long-Solís, 1998).

Por otra parte, Sanatombi y Sharma (2007) mencionan que el género *Capsicum* cuenta con aproximadamente 25 especies silvestres y 5 especies domesticadas; siendo *Capsicum annuum* la especie más domesticada y de mayor importancia en México y el mundo para su cultivo, debido a la riqueza genética que posee (Sanatombi y Sharma, 2007). Según SAGARPA (2016), esta especie se cultiva de manera principal en varios estados de nuestro país. No obstante, existen otras subespecies de *Capsicum* tipo silvestre, que pueden ser recursos fitogenéticos valiosos por el acervo de genes que poseen, los cuales, pueden brindar características agronómicas deseables en programas de mejoramiento genético, o como recurso gastronómico que genere fuentes de ingresos para contribuir a la economía local (Moreno-Pérez et al., 2011).

Sin embargo, en la Mixteca Poblana sólo se encuentra de forma silvestre en cerros y montañas, y en algunos casos, en el jardín de alguna ama de casa. También, son plantas que presentan problemas agronómicos para su cultivo comercial y que posiblemente pueden tener semillas con baja viabilidad para germinar (Nuez et al. 1996; Otroshy et al., 2011), lo cual dificulta aún más, contar con plantas suficientes para iniciar su cultivo a mayor escala. Por ello, se necesita de alguna estrategia tecnológica que permita su propagación eficiente para su aprovechamiento de forma sustentable, siendo el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, la herramienta tecnológica apropiada para el género *Capsicum* como ya se mencionó hace varios años (Ochoa-Alejo and Ramírez-Malangón, 2001; Santana-Buzzy et al., 2012).

Esta técnica consiste en cultivar células o tejidos vegetales en medios de cultivo adecuados y bajo condiciones controladas asépticamente (Gautheret, 1985). Algunos trabajos publicados con resultados exitosos para *Capsicum chinense* Jacq. cv. Umorok, se realizaron al cultivar ápices vegetales en medio de cultivo MS adicionado con 91.2 μM de zeatina (Z) ó 31.1 μM de 6-bencilaminopurina (BAP) con 4.7 μM de Kinetina (Kin) (Sanatombi y Sharma, 2008). Además, *Capsicum annuum* var. *annuum* (Jalapeño y Serrano), *Capsicum annuum* var. *glabriusculum/aviculare* (Piquin), y *Capsicum chinense* (Habanero) mediante la obtención de brotes de forma directa (organogénesis directa) a partir de tres explantes diferentes (cotiledón, hipocótilos y embrión), logrando una eficiencia alta en la regeneración de brotes por explante (14.6 brotes) mediante hipocótilos cultivados en un medio de cultivo de Murashige y Skoog con 0.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido indol-3-acético (AIA) y 5.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de BAP (Valadez-Bustos et al., 2009). También, *Capsicum annuum* L. ha sido propagado exitosamente mediante segmentos nodales *in vitro*, empleando BAP y ácido indol-butírico (AIB) (Otroshy et al. 2011).

Igualmente, se han empleado semillas como explantes *in vitro* para propagar *Capsicum baccatum* por Fidemann et al. (2016); y más recientemente, se menciona la propagación *in vitro* de *Capsicum annuum* (Jalapeño) a partir de semillas germinadas *in vitro* con nanopartículas de plata (AgNPs) y con AIA $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ más Kin $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ mediante organogénesis directa (Aguilar-Jiménez et al. 2021). No obstante, las especies del género *Capsicum* han mostrado dificultades para trabajarse en condiciones *in vitro*, en especial por problemas de tejidos necróticos, plantas cloróticas y defoliación (Santana-Buzzy et al., 2005, 2006 y 2012), posiblemente por presencia de etileno, situación que ha sido resuelta con aplicación de AgNO_3 (Aguilar-Jiménez y Rodríguez-De-la-O, 2020) ó de AgNPs (Aguilar-Jiménez et al., 2021). Aun así, no siempre se han obtenido las mismas respuestas morfogénicas (Sanatombi y Sharma, 2008; Bello-Bello et al., 2010; Gogoi et al., 2014; Fidemann et al., 2016; Barroso et al., 2017; Aguilar-Jiménez et al., 2021) ya que influyen varios factores como el genotipo, el tipo de explante, la edad de la planta, el tipo de fitorregulador y su concentración, principalmente (Rodríguez et al., 2007). Este estudio busca determinar las respuestas a la germinación y morfogénesis *in vitro* de diferentes especies de *Capsicum annuum*, con el fin de facilitar su propagación y conservación como alternativa sustentable en la Mixteca Poblana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del trabajo experimental

La realización del presente trabajo, se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Tecnológica de Izúcar de Matamoros, ubicada en Prolongación Reforma No. 168 Santiago Mihuacán, Izúcar de Matamoros, Puebla, México, C. P. 74420.

Material vegetal

Se realizó el establecimiento *in vitro* de semillas de *Capsicum annuum* (pico de pájaro) (T1), *Capsicum annuum* (diente de tlacuache) (T2), *Capsicum annuum* (silvestre oaxaco) (T3), *Capsicum annuum* L. var. aviculare (chiltepín) (T4) y *Capsicum annuum* L. var. glabriusculum (piquín) (T5) como variedades silvestres. Como variedades domesticadas fueron dos: semillas de *Capsicum annuum* var. annuum (jalapeño) proporcionadas por la empresa San Marcos (T6), y *Capsicum annuum* (guajillo) (T7) conseguida en el mercado local. Todas fueron resguardadas en bolsas de papel cuidadosamente identificadas, a temperatura ambiente y en obscuridad durante un año.

Condiciones de cultivo

Se emplearon las sales de Murashige y Skoog (MS) (1962) al 100 % de su concentración, adicionando tiamina $0.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mio-inositol $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, sacarosa $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y ajustando el pH a 5.7 ± 0.01 antes de agregar agar $7.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Posteriormente se vertieron 10 mL por tubo de ensayo de $14.5 \times 2.5 \text{ cm}$ marca KIMAX® para esterilizarse a 121°C durante 20 minutos. Una vez gelificado el medio de cultivo, se sembró al azar una semilla de cada *Capsicum annuum* por tubo de ensayo.

Establecimiento y viabilidad de semillas *in vitro* de distintos *Capsicum annuum*

Las semillas de cada planta se sometieron a un proceso de desinfectación de forma separada, la cual consistió en lavar con agua y detergente por un minuto, enjuagar con agua potable, colocar en etanol al 70 % durante 30 segundos, enjuagar con agua de ósmosis y después colocarse en una solución de hipoclorito de sodio al 10 % durante 10 minutos. Transcurrido ese tiempo, se llevaron a campana de flujo laminar en el área de siembra, se decantó la solución de hipoclorito de sodio y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril; en seguida se sembró una semilla por tubo de ensayo en el medio descrito anteriormente, las cuales se mantuvieron en el área de incubación entre $25\text{-}30^\circ\text{C}$ y con luz blanca artificial por cuatro semanas para valorar el porcentaje de germinación y contaminación por hongos y/o bacterias.

Respuestas morfogénicas *in vitro* en explantes de distintos *Capsicum annuum*

Se siguió la metodología propuesta por Valadez-Bustos et al. (2009) empleando las sales MS (1962) al 100 % de su concentración, adicionando sacarosa $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, BAP $5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, AIA $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, agar $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y ajustando el pH a 5.7 ± 0.1 antes de agregar agar. Una vez derretido el agar, se vertieron 10 mL por tubo de ensayo de $14.5 \times 2.5 \text{ cm}$ marca KIMAX® para esterilizarse a 121°C durante 20 minutos.

En seguida se sembraron ápices, hipocótilos y cotiledones de cada tipo de *Capsicum* spp., con tres repeticiones cada uno a partir de las plántulas obtenidas de semillas *in vitro*. Los recipientes *in vitro* se mantuvieron en el área de incubación entre $25\text{-}30^\circ\text{C}$ y con luz blanca artificial. Después de cuatro semanas, se registraron datos de respuestas morfogénicas (formación y longitud de brotes, raíz y tipo de callo) para determinar si dependen del tipo de *Capsicum* (silvestre vs domesticado) o del explante empleado.

Análisis estadístico

Para calcular el porcentaje de viabilidad de semillas de *Capsicum* spp., se consideró el número de semillas germinadas a partir de 10 tubos de ensayo con una semilla cada uno como el 100 %; elaborando gráficas en Microsoft Excel para la representación de los datos.

Los datos para respuestas morfogénicas a partir de ápices, cotiledones e hipocótilos de cada tipo de *Capsicum*, fue a las cuatro semanas de cultivo considerando tres repeticiones por explante, tomando un tubo de ensayo como unidad experimental con un explante cada uno. Los datos se sometieron a análisis de varianza y se aplicó la prueba de la Diferencia Mínima Significativa (DMS) ($p=0.05$) para definir la diferencia entre los efectos medios de los tratamientos. Para la presencia de callo se evaluó cualitativamente a través del sistema no paramétrico de cruces: +++ = presencia abundante, ++ = presencia moderada, + = presencia baja y - = ausencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

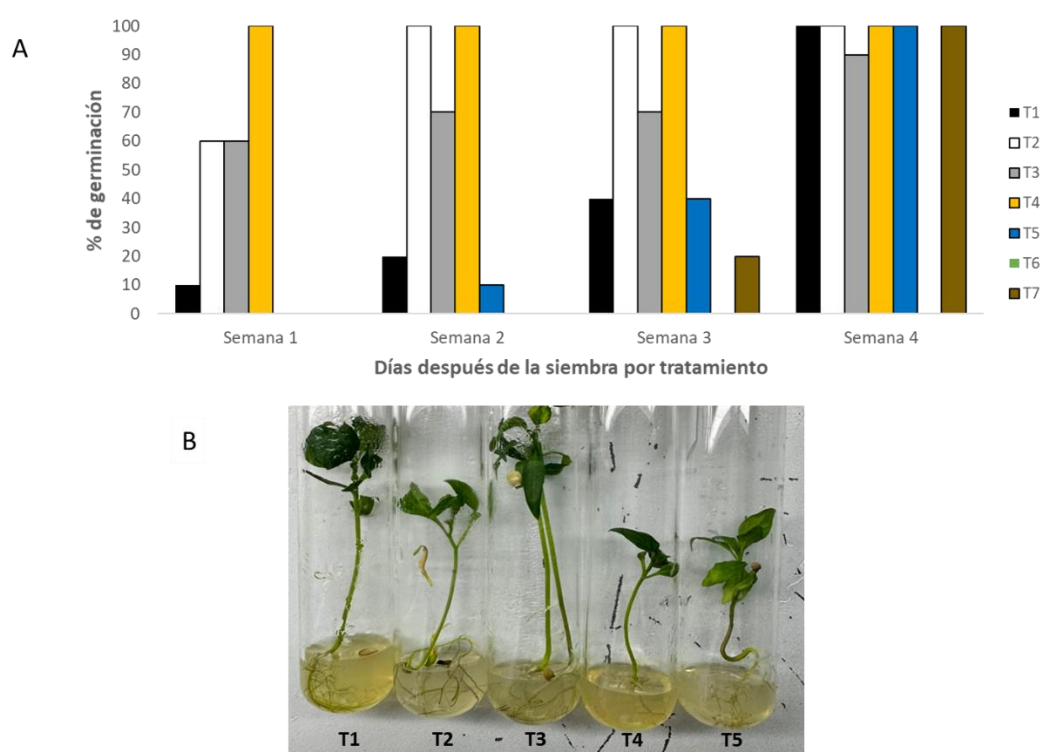
Establecimiento y germinación de semillas *in vitro* de distintos *Capsicum annuum*

El protocolo de desinfección de semillas fue eficiente, evitó la presencia de microorganismos contaminantes en los recipientes de cultivo independientemente del tipo de *Capsicum annuum*; por lo tanto, estos resultados son valiosos porque el protocolo de desinfección permite la obtención de material vegetal aséptico, y cuando no se resuelve dicha situación, puede resultar un problema para la continuidad de proyectos de cultivo vegetal en condiciones *in vitro*; aunando que la variedad o especie genética, puede influir en el protocolo de desinfección para el establecimiento *in vitro* (Aguilera-Arango et al., 2021).

Sin embargo, el presente estudio sugiere que no es necesario emplear otro protocolo de desinfección si la fuente de material vegetal es confiable, en este caso, las semillas se obtuvieron directamente de los frutos, excepto para “jalapeño”, las cuales se encontraban en su bolsa comercial y aun así no hubo crecimiento microbiano. A pesar de, sí hubo diferente respuesta con respecto a la germinación de semillas por especie, resultados que difieren con lo publicado por Nuez et al. (1996) y por Otrosby et al. (2011), quienes mencionan que estas especies de tipo silvestre pueden tener baja viabilidad de semillas; pues en este trabajo, *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* (chiltepín) fue la especie con mayor poder de germinación de semillas, alcanzando el 100 % de semillas germinadas en la primera semana de cultivo *in vitro*; seguida

de *Capsicum annuum* (diente de tlacuache) (T2). No obstante, a las cuatro semanas de cultivo *in vitro*, la mayoría de tipos de *Capsicum* lograron la germinación de semillas en 100 %, excepto *Capsicum annuum* var. *annuum* (jalapeño) con cero por ciento (0.0 %) (T6) y *Capsicum annuum* (silvestre oaxaco) (T3) con el 90 % de semillas germinadas (Figura 1). Por lo tanto, finalmente sí afectó la forma de obtener las semillas de esta variedad.

Figura 1. Respuesta de semillas de distintos *Capsicum annuum* establecidas *in vitro*. A) Porcentaje de semillas germinadas de distintos *Capsicum annuum* durante cuatro semanas de cultivo *in vitro*, B) Plántulas de distintos *Capsicum annuum* a partir de semillas germinadas a las dos semanas de cultivo *in vitro*.



Fuente: elaboración propia con base a resultados.

Esto indica que la germinación de semillas de diferentes *Capsicum annuum in vitro*, no precisamente depende de la presencia de reguladores de crecimiento vegetal (Aguilar-Jiménez et al. 2021), sino de la viabilidad de las semillas, la cual parece estar ligada a la especie vegetal y posiblemente a la condición física donde se encontraban. Pues la única especie que tuvo 0.0 % de germinación (jalapeño), sus semillas no se encontraban dentro del fruto como las demás; por lo tanto, el fruto puede jugar un papel importante en mantener mayor tiempo la viabilidad de semillas, resultados que coinciden con Alvarado-Vázquez et al., (2015), quienes mencionan que a mayor tiempo de almacenamiento de frutos rojos de candelilla (*Euphorbia antisiphylitica*

Zucc), se presentó mayor valor promedio de germinación. Así mismo, Hayano-Kanashiro et al. (2016), mencionan que plantas de *Capsicum annuum* posee compuestos con propiedades antioxidantes, como son carotenoides, alcaloides (capsaicinoides), compuestos fenólicos, ácido ascórbico y otros; los cuales, tal vez puedan estar reduciendo el efecto de productos tóxicos, que con el tiempo, se producen en semillas con metabolismo poco activo, acumulándose en las semillas hasta causar efectos letales al embrión (Doria, J., 2009), entre otros factores que influyen en la viabilidad de las semillas.

Esto puede significar, que los metabolitos presentes en la cáscara de frutos de *Capsicum annuum*, ayudan a conservar el poder germinativo de sus semillas, abriéndose otro tema de investigación en cuanto a metabolitos secundarios de frutos de *Capsicum*, el cual es poco conocida (De la Cruz-Ricardez et al., 2015). Además, este resultado también parece coincidir parcialmente con lo publicado por Gros-Balthazard et al. (2021), quienes mencionan haber encontrado semillas de palma datilera (*Phoenix dactylifera* L.) de más de 2,000 años de edad, las cuales germinaron y produjeron plantas viables. Por lo tanto, esta investigación parece sugerir que en las semillas y/o en los frutos se encuentra información por descubrir para entender qué eventos moleculares suceden en mantener la viabilidad de semillas durante largos periodos de tiempo y bajo ciertas condiciones ambientales.

Respuestas morfogénicas *in vitro* en explantes de distintos *Capsicum annuum*

La mejor respuesta significativamente (DMS, $p=0.05$) para formación de brotes estuvo determinada tanto por el tipo de especie como tipo de explante, siendo *Capsicum annuum* (pico de pájaro) (T1) quien favoreció mayor número de brotes (3.33 a) a partir de ápice, acompañado de callo tipo 2 en la base de los explantes con aspecto compacto y poco friable; seguido de *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* (chiltepín) (T4) a partir de hipocótilos (1.0 b), también acompañado de callo tipo 2 pero de aspecto friable y con estructuras globulares similares a protocormos. Resultados que no coinciden, en ningún explante, con lo publicado por Valadez-Bustos et al. (2009), quienes mencionan haber obtenido 7.1 brotes a partir de hipocótilos en “jalapeño” y hasta 10.5 brotes en 30 días de cultivo *in vitro* en “chiltepín”, con la diferencia que en este último fue a partir de embriones. Estos resultados (Cuadro 1) demuestran que los tipos de *Capsicum annuum*, silvestres o domesticados, tienen diferentes niveles de complejidad para su regeneración y propagación *in vitro*; posiblemente influya la cantidad de etileno que produzca cada especie (Santana-Buzzy et al., 2006), el cual causa daños por senescencia y

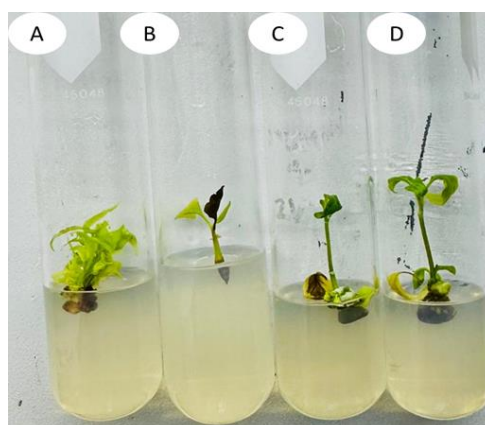
afecta la obtención de respuestas morfogénicas (Kumar et al., 1998; Aguilar-Jiménez et al., 2021) (Figura 2).

Cuadro 1. Respuestas morfogénicas *in vitro* en explantes de distintos *Capsicum annuum*.

Explante	Tratamiento	Número de brotes	Longitud de brotes	Tipo de callo
Ápice	T1	3.33 a	1.93 b	++
	T2	0.0 c	2.03 b	0
	T3	0.0 c	3.27 a	++
	T4	0.0 c	3.07 a	+
	T5	0.0 c	2.50 ab	++
	T6	0.0 c	0.0 c	0
	T7	0.0 c	2.0 b	++
Cotiledones	Todos los tratamientos sin respuesta			+ a ++ +
Hipocótilos	T3	0.0 c	0.0 c	++
	T4	1.0 b	0.1 c	++

Dentro de las filas, los resultados con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas (ANOVA unidireccional, DMS, $p = 0,05$). (Media aritmética $\pm$ Desviación estándar).
Fuente: elaboración propia con base a resultados.

Figura 2. Plantas *in vitro* de distintos *Capsicum annuum* a partir de ápices con posible daño por etileno. A) *Capsicum annuum* (pico de pájaro) (T1), B) *Capsicum annuum* (diente de tlacuache) (T2), C) *Capsicum annuum* (silvestre oaxaco) (T3), D) *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* (chiltepín) (T4).

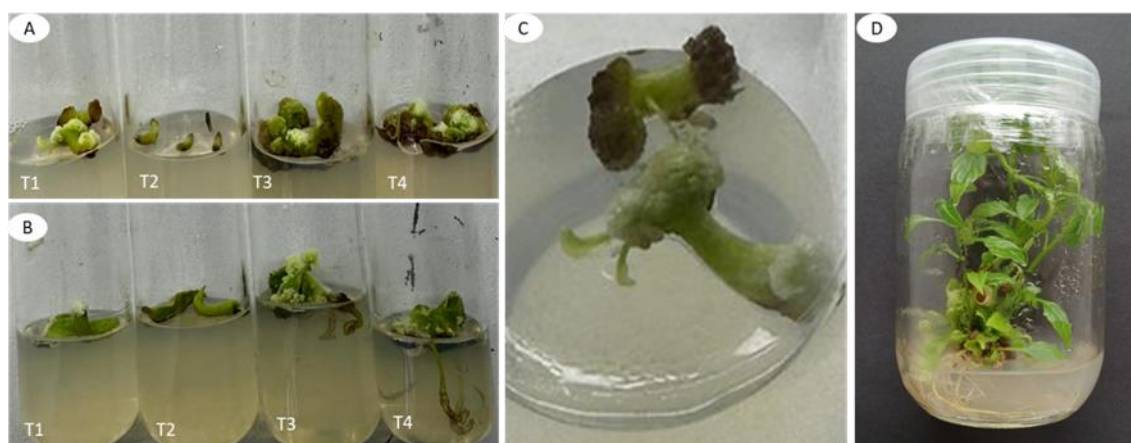


Fuente: elaboración propia con base a resultados.

Así mismo, Otrosky et al. (2011) mencionan haber micropropagado de forma exitosa a *Capsicum annuum* L. mediante segmentos nodales con BAP y ácido indol-butírico (AIB) (2.0 y 0.5 mg·L⁻¹, respectivamente). Esto sugiere que, es de suma importancia establecer un

protocolo de propagación *in vitro* para cada especie de *Capsicum* y en cada lugar, ya que el genotipo de cada planta influye en el éxito para obtener respuestas morfogénicas; en especial cuando se trata de plantas micropropagadas a partir de plántulas obtenidas de semillas cigóticas, las cuales tienen información genética que difiere entre ellas por ser plantas alógamas (Tamura et al., 1984). Lo anterior explica que en explantes de cotiledones e hipocótilos, no se hayan tenido respuestas morfogénicas favorables como menciona Valadez-Bustos et al. (2009) en diferentes especies de *Capsicum in vitro*, especialmente para las mismas especies como son *Capsicum annuum* var. *annuum* (Jalapeño), *C. annuum* var. *glabriusculum* y *C. annuum* var. *aviculare*, quienes mencionan la formación de primordios de brotes en explantes de cotiledones e hipocótilos a partir de 12 días de cultivo *in vitro*, así como la formación de brotes adventicios diferenciados en 30 días a partir de hipocótilos. En el presente trabajo, los explantes a partir de cotiledones e hipocótilos fueron los que menos respuestas morfogénicas generaron. La mayoría de explantes a partir de hipocótilos presentó formación de callo tipo 2 con estructuras globulares similares a embriones somáticos, y sólo *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* (chiltepín) (T4) favoreció la formación de brotes pequeños y algunas raíces. Así mismo, *Capsicum annuum* (silvestre oaxaco) (T3) y *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* (chiltepín) (T4), son las especies que mejor favorecieron la formación de callo y primordios de brotes a partir de cotiledones, al igual que la formación de raíces adventicias; y *Capsicum annuum* (diente de tlacuache) (T2) fue la especie que no tuvo respuesta en ninguno de los tres explantes sembrados (Figura 3).

Figura 3. Respuestas morfogénicas *in vitro* en explantes a partir de cotiledones e hipocótilos de distintos *Capsicum annuum*. A) Hipocótilos, B) Cotiledones, C) Formación de brotes y raíces en hipocótilos de *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* (chiltepín) (T4) y D) Crecimiento de brotes a partir de ápices de *Capsicum annuum* L. (pico de pájaro) después de dos meses de cultivo *in vitro*.



Fuente: Elaboración propia con base a resultados.

Por ello, no es conveniente confiar en un protocolo único para una especie determinada, sino valorarlo antes de pretender iniciar un proyecto a nivel comercial o productivo, lo cual permitirá realizar los ajustes necesarios para tener éxito.

CONCLUSIONES

El porcentaje y tiempo de germinación de semillas estuvieron determinados por el tipo de *Capsicum*. Las variedades silvestres, fueron las únicas que mantuvieron el 100 % de poder germinativo después de un año de ser recolectadas. Así mismo, la conservación de semillas adentro del fruto de *Capsicum annuum*, mantiene la viabilidad o poder germinativo de las mismas.

La formación y tipo de callo dependieron de la variedad y explante. La formación de brotes por explante, estuvo determinada significativamente por ápices sólo en una variedad silvestre (pico de pájaro); y el protocolo de micropropagación para especies y variedades de *Capsicum* sugerido, debe ajustarse a las necesidades de cada genotipo.

REFERENCIAS

- Aguilar-Jiménez, D., Herrera-López, H., Piña-Guillén, J., Salgado-Bravo, R., Pestryakov, A. & Bogdanchikova, N. (2021). Micropropagación de *Capsicum annuum* (Jalapeño) con aplicación de nanopartículas de plata. *Revista MIX-TEC*, 1(1), 29-47. <https://mixtec.utim.edu.mx/indexV1.php>.
- Aguilar-Jiménez, D. & Rodríguez-De-la-O, J. L. (2020). Efecto de nitrato de plata en la germinación *in vitro* de *Euphorbia nutans* Lag. *Bioteología Vegetal*, 20(4), 338-350. ISSN 2074-8647.
- Aguilera-Arango, G. A., Puentes-Díaz, C. L. & Rodríguez-Henao, E. (2021). Métodos de desinfección para el establecimiento *in vitro* de dos variedades de yuca para uso agroindustrial. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 8(3), 21-30. doi:10.53287/kdux7546xv19l.
- Alvarado-Vázquez, M. A., Foroughbakhch, R., Guzmán-Lucio, M. A., Rocha-Estrada, A., Hernández-Piñero, J. L., Cárdenas-Ávila, M. L. & Soto-García, B. M. (2015). Efecto de la madurez del fruto, peso de la semilla y tiempo de almacenamiento en la viabilidad y germinación de la semilla de candelilla (*Euphorbia antisiphylitica* Zucc.). *Phyton – International Journal of Experimental Botany*, 84(1), 70-79.

- Barroso, P. A., Rêgo, M. M., Rêgo, E. R. & Ferreira, K. T. C. (2017). Genetic effects of *in vitro* germination and plantlet development in chilli pepper. *Genetics and Molecular Research*, 16(3), gmr16038869. doi:10.4238/gmr16038869.
- Bello-Bello, J. J., Canto-Flick, A., Balam-Uc, E., Gómez-Uc, E., Robert, M. L., Iglesias-Andreu, L. G., & Santana-Buzzy, N. (2010). Improvement of *in vitro* proliferation and elongation of Habanero pepper shoots (*Capsicum chinense* Jacq.) by temporary immersion. *HortScience*, 45(7), 1093-1098. doi:10.21273/HORTSCI.45.7.1093.
- De la Cruz-Ricardez, D., Ortiz-García, C. F., Lagunes-Espinoza, L. del C., Torres-de la Cruz, M. & Hernández-Nataren, E. (2020). Compuestos fenólicos, carotenoides y capsaicinoides en frutos de *Capsicum* spp. de Tabasco, México. *Agrociencia*, 54(4), 505-519.
- Doria, J. (2009). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1), 74-85.
- Fidemann, T., Nascimento, L. B., Moraes, M. C., Bertão, M. R. & Fernández-Núñez, E. G. (2016). Optimizing *in vitro* germination of *Capsicum baccatum* L. seeds through a multifactorial experimental design. *American International Journal of Biology*, 4(2), 1-22. doi:10.15640/aijb.v4n2a1.
- Gautheret, R. (1985). History of plant tissue culture: A personal account. En: Vasil I (Ed) *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*. Academic Press, New York, p18-35.
- Gogoi, S., Acharjee, S. & Devi, J. (2014). *In vitro* plantlet regeneration of *Capsicum chinense* Jacq. cv. "Bhut jalakia": hottest chili of northeastern India. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 50(2), 235–241. doi:10.1007/s11627-013-9569-x.
- Gros-Balthazard, M., Flowers, J. M., Hazzouri, K. M., Ferrand, S., Aberlenc, F., Sallon, S., & Purugganan, M. D. (2021). The genomes of ancient date palms germinated from 2,000 y old seeds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(19), e2025337118. doi:10.1073/pnas.2025337118.
- Hayano-Kanashiro, C., Gámez-Meza, N. & Medina-Juárez, L. A. (2016). Wild pepper *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*: taxonomy, plant morphology, distribution, genetic diversity, genome sequencing, and phytochemical compounds. *Crop Science*, 56, 1–11. doi:10.2135/cropsci2014.11.0789.
- Hernández-Verdugo, S. Luna-Reyes, R. & Oyama, K. (2001). Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* from México. *Plant Systematics and Evolution*, 226, 129-142. doi:10.1007/s10722-004-2363-1.

- Kumar, P. P., Lakshmanan, P. & Thorpe, T. A. (1998). Regulation of morphogenesis in plant tissue culture by ethylene. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 34, 94–103.
- Long-Solis, J. (1998). *Capsicum* y cultura: La historia del chilli. Editorial Fondo de Cultura Económica (FCE). 2ª ed. México. 203 pp. ISBN: 9789681653804.
- Moreno-Pérez, E. C., Avendaño-Arrazate, C. H., Mora-Aguilar, R., Cadena-Iñiguez, J., Aguilar-Rincón, V. H. & Aguirre-Medina, J. F. (2011). Diversidad morfológica en colectas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) del centro-norte de México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17, 23-30. doi:10.5154/r.rchsh.2011.17.004.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology*, 15, 473-497. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- Nuez, F., Gil-Ortega, R. & Costa, J. (1996). El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Mundi-Prensa, México D.F.
- Ochoa-Alejo, N. & Ramírez-Malagón, R. (2001). *In vitro* chili pepper biotechnology. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 37(6), 701-729. doi:10.1007/s11627-001-0121-z.
- Otroshy, M., Moradi, K. & Khayam Nekouei, M. (2011). The effect of different cytokenins in propagation of *Capsicum annuum* L. by *in vitro* nodal cutting. *Trakia Journal of Sciences*, 9(3), 21-30. <http://www.uni-sz.bg>.
- Pozo, O., Montes, S. & Redondo, E. (1991). "Chile (*Capsicum* spp.)", en Ortega, R., Palomino, G., Castillo, E., González, V. Uvera, M. (eds.). Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos en México. Chapingo, México. Sociedad Mexicana de Fitogenética.
- Rodríguez, de la O. J. L., García, R. J. & Aguilar, D. N. (2007). Cultivo *in vitro* de células, tejidos y órganos vegetales. Manual de prácticas. U. A. Chapingo, pp:13-16.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) (2016). Atlas agroalimentario 2016. México. 62-64.
- Sanatombi, K. & Sharma, G. J. (2007). Micropropagation of *Capsicum annum* L. using axillary shoot explants, *Scientia Horticulturae*, 113, 96-99. 10.1016/j.scienta.2007.01.020.
- Sanatombi, K. & Sharma, G. J. (2008). *In vitro* propagation of *Capsicum chinense* Jacq. *Biologia plantarum*, 52(3), 517-520. doi:10.1007/s10535-008-0100-x.
- Santana-Buzzy, N., Bello-Bello, J. J., Iglesias-Andreu, L., Zúñiga-Aguilar, J.J., Canto-Flick, A., Avilés-Viñas, S. A., Lecona-Guzmán, C. A., Solís-Marroquín, D., Gómez-Uc, E., Balam-Uc, E., Arcos-Ortega, G. F. & Mijangos-Cortés, J. O. (2012). Tissue Culture of *Capsicum*

Species. Peppers: Botany, Production and Uses (ed. V.M. Russo). doi:10.1079/9781845937676.0072.

Santana-Buzzy, N., Canto-Flick, A., Barahona-Pérez, F., Montalvo-Peniche, M., Zapata-Castillo, P., Solís-Ruíz, A., Zaldívar-Colli, A., Gutiérrez-Alonso, O. & Miranda-Ham, M. de L. (2005). Regeneration of Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) Via Organogenesis. *HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science*, 40, 1829-1831. doi:10.21273/HORTSCI.40.6.1829.

Santana-Buzzy, N., Canto-Flick, A., Iglesias-Andreu, L., Montalvo-Peniche, M., López-Puc, G. & Barahona-Pérez, F. (2006). Improvement of *In Vitro* Culturing of Habanero Pepper by Inhibition of Ethylene Effects. *HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science*, 41, 405-409. doi: 10.21273/HORTSCI.41.2.405.

Tamura, Y., Nakamura, S., Fukui, H. & Tabata, M. (1984). Clonal propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni by Stem-tips culture. *Plant Cell Reports Japon*, 3(5), 183-185. doi:10.1007/BF00270195.

Valadez-Bustos, M. G., Aguado-Santacruz, G. A., Carrillo-Castañeda, G., Aguilar Rincón, V. H., Espitia-Rangel, E., Montes-Hernández, S., & Robledo-Paz, A. (2009). *In vitro* propagation and agronomic performance of regenerated chili pepper (*Capsicum* spp.) plants from commercially important genotypes. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 45(6), 650–658. doi:10.1007/s11627-009-9193-y.