

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

**INCREMENTO *IN VITRO* Y CARACTERIZACIÓN
DE GENOTIPOS AVANZADOS DE CALABAZA
(*Cucurbita pepo* L.)**

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

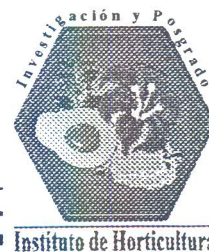
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

CÉSAR SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

Chapingo, Edo. de México. junio de 2005



**INCREMENTO *IN VITRO* Y CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPOS AVANZADOS DE
CALABAZA (*Cucurbita pepo* L.)**

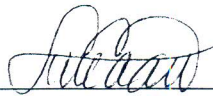
Tesis realizada por **César Sánchez Hernández** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

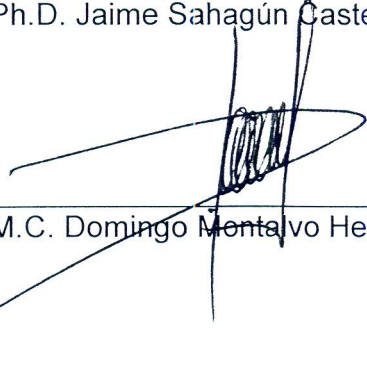
DIRECTOR:


Dr. Clemente Villanueva Verduzco

ASESOR:


Ph.D. Jaime Sahagún Castellanos

ASESOR:


M.C. Domingo Montaño Hernández

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico brindado durante la realización de mis estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo y en especial al Programa de Maestría en Ciencias en Horticultura del Departamento de Fitotecnia, por darme la oportunidad de continuar con mis estudios de posgrado y lograr una meta más en mi vida.

Al Dr. Clemente Villanueva Verduzco por la dirección del trabajo de investigación, porque siempre ha sido una excelente persona y por sus consejos para superarme cada día más.

Al Ph.D. Jaime Sahagún Castellanos por la revisión, aportaciones y sugerencias para mejorar el trabajo de investigación.

Al M.C. Domingo Montalvo Hernández por el tiempo dedicado a la revisión del presente trabajo de investigación y sus acertadas sugerencias para mejorar el mismo.

Al M.C. Isaías Gil Vázquez por facilitar las instalaciones del laboratorio de Biotecnología Sección cultivo de Tejidos del Departamento de Preparatoria Agrícola para realizar la investigación.

A la Ing. Irma Sánchez Cabrera por su apoyo en la fase de cultivo de tejidos y valiosa amistad.

A los técnicos Maximino Ramírez Ayala y Agustín por su valioso apoyo en la fase de campo.

A Roberto Cervantes, Gaby, Sherezada, Erick, Rocío y Aharon por su amistad y apoyo durante la investigación en laboratorio.

DEDICATORIA

A mis padres: Lorenzo Sánchez Bandala y Rosa Hernández Osorio por darme la oportunidad de conocer la vida, aconsejarme y guiarme en los momentos difíciles, esperando que este logro sea una satisfacción para ellos.

A mi tía Genoveva por el gran apoyo que siempre me ha brindado y sus consejos para ser cada día una mejor persona.

A mis hermanos: Pablo, Babys, Lourdes, Rosario, Renato, Claudia América, Miguel Ángel y Carmen. Porque juntos formamos parte de una gran familia, a ellos con afecto.

A mis sobrinos: Yesenia, Karen, Arlette Jaquelline, Fernando, Renato, Iridian, Bryan, Samira, Cristian, Galilea, Claudia Itzel.

A Feli López Cruz por los momentos agradables que hemos pasado durante mi estancia en la maestría, y porque siempre contaré con su amistad.

A mis amigos: Argelia García López, Luis Enrique Espinoza Torres, Alberto González Castellanos, Miguel Ángel Arreola Sánchez, Alejandro Manelik García López, Elizabeth Meza Castillo, Mónica Hernández Ramírez, Jim del C. Luna Sánchez, Monserrat y Mayra Hernández Cortéz por apoyarme a seguir a delante y por los momentos agradables.

Sinceramente

César Sánchez Hernández

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor del presente trabajo de investigación es Ingeniero Agrónomo especialista en Fitotecnia, realizó sus estudios en la Universidad Autónoma Chapingo durante el periodo de 1994-2001. El tema de tesis con el cual obtuvo el título de Ingeniero fue **Oportunidad de cosecha, métodos de trilla, almacenamiento y calidad fisiológica en semilla de frijol** (*Phaseolus vulgaris* L.).

Durante 2001 trabajó para el Centro Regional Universitario de Oriente (CRUO) de Huatusco, Veracruz perteneciente a la Universidad Autónoma Chapingo, misma que fue comisionada para realizar el censo cafetalero en el Estado de Oaxaca. Ingresó a la Maestría en Ciencias en Horticultura en Enero de 2004.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. OBJETIVOS.....	2
1.2. HIPÓTESIS.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Importancia del género <i>Cucurbita</i>	4
2.2. Origen geográfico y distribución de las calabazas.....	5
2.3. Herencia de algunos caracteres en <i>Cucurbita pepo</i> L.....	6
2.3.1. Hábito de crecimiento.....	6
2.3.2. Color del fruto.....	6
2.3.3. Semilla sin testa.....	8
2.4. Importancia de la descripción varietal.....	10
2.5. Descriptores varietales.....	11
2.6. Examen de distinción.....	14
2.7. Examen de homogeneidad.....	15
2.8. Examen de estabilidad.....	17
2.9. Elaboración de la descripción varietal.....	18
2.10. Literatura relacionada con la caracterización de <i>Cucurbita pepo</i> L.....	19
2.11. Cultivo de tejidos.....	20
2.11.1. Importancia.....	20
2.11.2. Morfogénesis y totipotencia.....	21
2.11.3. Organogénesis.....	22
2.11.4. Embriogénesis.....	23
2.11.5. Reguladores del crecimiento.....	23
2.11.5.1. Auxinas.....	23
2.11.5.2. Citocininas.....	24
2.11.5.3. Giberelinas.....	25
2.11.6. Antecedentes en Calabaza y otras Cucurbitáceas.....	25
2.11.7. Fases del proceso de multiplicación <i>in vitro</i>	26
2.11.8. Aclimatización de plántulas obtenidas <i>in vitro</i>	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1. Localización.....	30
3.2. Multiplicación <i>in vitro</i>	30
3.2.1. Desinfestación de la semilla.....	30
3.2.2. Medio de cultivo.....	31
3.2.3. Siembra de semilla en medio de cultivo.....	33
3.2.4. Fase de multiplicación.....	33
3.2.5. Fase de enraizamiento y elongación.....	34
3.3. Fase de aclimatización de plántulas obtenidas <i>in vitro</i>	34
3.3.1. Preadaptación.....	34
3.3.2. Sustrato.....	35
3.3.3. Desinfección de charolas.....	35
3.3.4. Transplante de plántulas obtenidas <i>in vitro</i> a charolas.....	35
3.3.5. Aclimatización.....	35
3.3.6. Transplante a invernadero.....	36
3.3.7. Fertilización.....	37
3.3.8. Polinización controlada.....	37
3.3.9. Cosecha de frutos en invernadero.....	38
3.4. Fase de campo.....	38
3.4.1. Clima.....	39
3.4.2. Precipitación.....	39
3.4.3. Temperatura.....	39

3.4.4. Suelo.....	40
3.4.5. Material vegetal utilizado.....	40
3.4.6. Siembra de semilla obtenida en invernadero.....	40
3.4.7. Labores culturales.....	41
3.4.8. Plagas y enfermedades.....	41
3.4.9. Cosecha.....	42
3.5. Caracteres evaluados.....	42
3.5.1. Días a antesis.....	42
3.5.2. Número de hojas maduras.....	42
3.5.3. Longitud de la guía principal.....	43
3.5.4. Longitud de entrenudos.....	43
3.5.5. Número de ramas primarias.....	43
3.5.6. Largo y ancho de pedúnculo	43
3.5.7. Peso de fruto y rendimiento por hectárea.....	44
3.5.8. Alto y ancho de fruto.....	44
3.5.9. Forma del fruto.....	44
3.5.10. Textura externa del fruto.....	44
3.5.11. Dureza de la cáscara del fruto.....	44
3.5.12. Largo y ancho de semilla.....	45
3.5.13. Número y peso de semillas por fruto.....	45
3.5.14. Rendimiento de semilla por hectárea.....	45
3.5.15. Grosor de pulpa.....	45
3.5.16. Sabor de pulpa.....	45
3.5.17. Color de pulpa.....	45
3.5.18. Separación de la semilla y placenta de la pulpa.....	46
3.6. Unidades Calor Acumuladas.....	46
3.7. Diseño de tratamientos y experimental.....	46
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
4.1. Multiplicación <i>in vitro</i> de los dos genotipos.....	48
4.1.1. Número de brotes por subcultivo.....	48
4.2. Aclimatización de plántulas provenientes de <i>in vitro</i> en charolas.....	52
4.3. Aclimatización en invernadero.....	55
4.4. Resumen de los resultados del incremento <i>in vitro</i>	56
4.5. Caracterización de la variedad 'Brujita'.....	56
4.5.1. Estado de plántula.....	57
4.5.1.1. Forma y características de los cotiledones.....	57
4.5.2. Etapa vegetativa.....	57
4.5.2.1. Longitud del tallo y número de hojas maduras.....	57
4.5.2.2. Longitud de entrenudos y altura al 6to nudo	58
4.5.2.3. Número de flores femeninas y masculinas.....	58
4.5.2.4. Días a floración.....	59
4.5.2.5. Longitud del peciolo.....	59
4.5.2.6. Ramificación.....	60
4.5.3. Caracteres cualitativos.....	61
4.5.3.1. Extremo, características, color y jaspeado del pedúnculo.....	61
4.5.3.2. Forma y color del fruto.....	62
4.5.3.3. Tamaño de la cicatriz floral	62
4.5.3.4. Dureza y textura de la cáscara del fruto.....	62
4.5.3.5. Facilidad de extracción de la semilla.....	63
4.5.3.6. Color y sabor de pulpa.....	63
4.5.3.7. Color del tallo y zarcillos.....	64
4.5.3.8. Tamaño del limbo.....	64
4.5.4. Caracteres cuantitativos.....	66
4.5.4.1. Número de frutos por planta.....	66
4.5.4.2. Peso, largo y ancho de fruto.....	66
4.5.4.3. Grosor y longitud de pedúnculo.....	66
4.5.4.4. Número de acanaladuras.....	67

4.5.4.5. Grosor de pulpa y diámetro de la cavidad del fruto.....	67
4.5.4.6. Peso de semilla por fruto.....	67
4.5.4.7. Peso de 100 semillas.....	68
4.5.4.8. Largo y ancho de semilla.....	68
4.5.5. Identidad de la variedad 'Brujita'.....	69
4.5.5.1. La novedad.....	70
4.5.6. Examen de distinción, homogeneidad y estabilidad.....	71
4.5.6.1. Examen de distinción.....	71
4.5.6.2. Examen de homogeneidad.....	73
4.5.6.2.1. Análisis de los estadísticos descriptivos en caracteres cuantitativos.....	73
4.5.6.2.2. Análisis de las frecuencias de los descriptores cualitativos.....	73
4.5.6.3. Análisis de estabilidad.....	74
4.5.7. Mantenimiento varietal.....	74
4.5.8. Correlaciones fenotípicas.....	76
4.5.9. Resumen de la caracterización de la variedad 'Brujita'.....	77
4.6. Caracterización de la variedad de guía corta <i>Round zucchini st</i>	79
4.6.1. Etapa vegetativa.....	79
4.6.1.1. Longitud del tallo y número de hojas maduras.....	79
4.6.1.2. Longitud de entrenudos y altura al 6to nudo.....	80
4.6.1.3. Número de flores femeninas y masculinas.....	80
4.6.1.4. Días a floración.....	81
4.6.1.5. Longitud de peciolo.....	81
4.6.1.6. Ramificación.....	81
4.6.2. Caracteres cualitativos de planta adulta y frutos.....	82
4.6.2.1. Extremo, características, color y jaspeado del pedúnculo.....	82
4.6.2.2. Forma y color del fruto.....	83
4.6.2.3. Tamaño de la cicatriz floral.....	83
4.6.2.4. Dureza y textura de la cáscara del fruto.....	83
4.6.2.5. Facilidad de extracción de la semilla.....	83
4.6.2.6. Color y sabor de pulpa.....	84
4.6.2.7. Color del tallo y zarcillos.....	84
4.6.2.8. Tamaño del limbo.....	84
4.6.3. Caracteres cuantitativos de fruto.....	86
4.6.3.1. Número de frutos por planta.....	86
4.6.3.2. Peso, largo y ancho de fruto.....	86
4.6.3.3. Grosor y longitud de pedúnculo.....	86
4.6.3.4. Grosor de pulpa y diámetro de la cavidad del fruto.....	86
4.6.3.5. Peso de semilla por fruto.....	87
4.6.3.6. Peso de 100 semillas.....	87
4.6.3.7. Largo y ancho de semilla.....	87
4.6.4. Identidad de la variedad de guía corta <i>Round zucchini sin testa</i>	88
4.6.5. La novedad.....	89
4.6.6. Examen de distinción de la variedad de guía corta <i>Round Z</i>	89
4.6.7. Examen de homogeneidad de la variedad de guía corta <i>Round Z</i>	92
4.6.7.1. Análisis de los estadísticos descriptivos en caracteres cuantitativos.....	92
4.6.7.2. Análisis de las frecuencias de los descriptores cualitativos.....	92
4.6.8. Análisis de estabilidad de la variedad de guía corta <i>Round Z</i>	93
4.6.9. Mantenimiento varietal para la variedad de guía corta <i>Round Z</i>	93
4.6.10. Correlaciones fenotípicas.....	94
4.6.11. Resumen de la caracterización de la variedad de guía corta <i>Round Z</i>	96
4.7. Caracterización de la variedad de guía <i>Round Zucchini semilla sin testa</i>	96
4.7.1. Etapa vegetativa.....	97
4.7.1.1. Longitud del tallo y número de hojas maduras.....	97
4.7.1.2. Longitud de entrenudos, número de nudos y altura al 6to nudo.....	97
4.7.1.3. Número de flores femeninas y masculinas.....	98
4.7.1.4. Días a floración.....	98
4.7.1.5. Longitud del peciolo.....	98

4.7.1.6. Ramificación.....	99
4.7.2. Caracteres cualitativos de planta adulta y frutos.....	100
4.7.2.1. Extremo, características, color y jaspeado del pedúnculo.....	100
4.7.2.2. Forma y color del fruto.....	100
4.7.2.3. Tamaño de la cicatriz floral.....	100
4.7.2.4. Dureza y textura de la cáscara del fruto.....	101
4.7.2.5. Facilidad de extracción de la semilla.....	101
4.7.2.6. Color y sabor de pulpa.....	101
4.7.2.7. Color del tallo y zarcillos.....	102
4.7.2.8. Tamaño del limbo.....	102
4.7.3. Caracteres cuantitativos de fruto.....	102
4.7.3.1. Número de frutos por planta.....	102
4.7.3.2. Peso, largo y ancho de fruto.....	103
4.7.3.3. Grosor y longitud de pedúnculo.....	104
4.7.3.4. Grosor de pulpa y diámetro de la cavidad del fruto.....	104
4.7.3.5. Peso de semilla por fruto.....	104
4.7.3.6. Peso de 100 semillas.....	104
4.7.3.7. Largo y ancho de semilla.....	104
4.7.4. Identidad de la variedad de guía <i>Round Zucchini</i>	106
4.7.5. La novedad.....	107
4.7.6. Examen de distinción de la variedad de guía <i>Round Zucchini</i>	107
4.7.7. Examen de homogeneidad de la variedad de guía <i>Round Zucchini</i>	110
4.7.7.1. Análisis de los estadísticos descriptivos en caracteres cuantitativos.....	110
4.7.7.2. Análisis de las frecuencias de los descriptores cualitativos.....	110
4.7.8. Análisis de estabilidad de la variedad de guía <i>Round Zucchini</i>	111
4.7.9. Mantenimiento varietal.....	111
4.7.10. Correlaciones fenotípicas.....	112
4.7.11. Resumen de la caracterización de la variedad de guía <i>Round Zucchini</i>	114
V. CONCLUSIONES.....	115
VI. LITERATURA CITADA.....	117

ÍNDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Especie, sitio arqueológico, antigüedad y probable centro de origen de las especies cultivadas de <i>Cucurbita</i>	5
Cuadro 2. Herencia de algunos caracteres en <i>C. pepo</i> y <i>C. maxima</i>	10
Cuadro 3. Número máximo aceptable de plantas atípicas en variedades autógamas y de propagación vegetativa con respecto al tamaño de muestra.....	16
Cuadro 4. Algunas características de una variedad de calabaza <i>C. pepo</i> var. 'Round Zucchini'.....	19
Cuadro 5. Soluciones Stock (madre) y sus componentes empleados para preparar el medio de cultivo MS (Murashige and Skoog, 1962).....	32
Cuadro 6. Análisis de varianza del número de brotes por fecha de subcultivo <i>in vitro</i> de dos variedades de calabaza (<i>Cucurbita pepo</i> L.). Chapingo, México. 2004.....	48
Cuadro 7. Prueba de comparación de medias tukey ($\alpha=0.05$) del número de brotes por variedad en medio de cultivo MS + 1.0 mg·L ⁻¹ de BAP. Chapingo, México. 2004.....	49
Cuadro 8. Prueba de comparación de medias tukey ($\alpha=0.05$) del número de brotes por fecha de subcultivo en medio de cultivo MS + 1.0 mg·L ⁻¹ de BAP.....	50
Cuadro 9. Cuadrados medios de plantas aclimatizadas, altura de planta y número de hojas de de dos variedades de calabaza provenientes de <i>in vitro</i>	52
Cuadro 10. Comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de sobrevivencia de plántulas de dos variedades de calabaza provenientes de <i>in vitro</i>	53
Cuadro 11. Comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de altura de planta de dos variedades de calabaza al final del proceso de aclimatización.....	54
Cuadro 12. Comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) del número de hojas de dos variedades de calabaza al final del proceso de aclimatización.....	55
Cuadro 13. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación para diez caracteres en etapa vegetativa de la variedad tipo 'brujita'.....	60
Cuadro 14. Unidades Calor Acumuladas (UCA) durante el ciclo biológico de la variedad 'Brujita' (3 de abril al 22 de julio del 2004).....	61
Cuadro 15. Frecuencias relativas de 17 caracteres cualitativos de la var. tipo 'brujita'.....	65
Cuadro 16. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de 11 caracteres de rendimiento de la var. tipo 'brujita'. Chapingo, México. 2004.....	69
Cuadro 17. Comparación de descriptores cuantitativos de la var. 'Brujita' con dos variedades de referencia del programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.....	71
Cuadro 18. Comparación de descriptores cualitativos de la var. 'Brujita' con dos variedades de referencia del programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.....	72
Cuadro 19. Comparación de algunas características de la variedad 'Brujita' con variedades experimentales del Programa de Mejoramiento Genético de calabazas de la UACH.....	76
Cuadro 20. Correlaciones fenotípicas de 9 caracteres en la variedad 'Brujita'. Chapingo, México. 2004.....	77
Cuadro 21. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de diez caracteres en etapa vegetativa de la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	82
Cuadro 22. Frecuencias relativas de 18 caracteres cualitativos de la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa. Chapingo, México. 2004.....	85
Cuadro 23. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación (%) de 11 caracteres de rendimiento de la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	88
Cuadro 24. Comparación de descriptores cuantitativos de la var. de guía corta <i>Round Zucchini</i> con dos variedades de referencia del Programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.....	90
Cuadro 25. Comparación de descriptores cualitativos de la var. de guía corta <i>Round Zucchini</i> con dos variedades de referencia del Programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.....	91
Cuadro 26. Comparación de algunas características de la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa con variedades de calabaza (<i>Cucurbita pepo</i> L.).....	94
Cuadro 27. Correlaciones fenotípicas de 10 caracteres en la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa. Chapingo, México. 2004.....	95
Cuadro 28. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de diez caracteres en etapa vegetativa de la variedad de guía <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	99
Cuadro 29. Frecuencias relativas de 19 caracteres cualitativos de la variedad de guía <i>Round</i>	

<i>Zucchini</i> de semilla sin testa. Chapingo, México. 2004.....	103
Cuadro 30. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación (%) de 11 caracteres de rendimiento de la var. de guía <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	105
Cuadro 31. Comparación de descriptores cuantitativos de la var. de guía <i>Round Zucchini</i> con dos variedades de referencia del programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.....	108
Cuadro 32. Comparación de descriptores cualitativos de la var. de guía <i>Round Zucchini</i> con dos variedades de referencia del programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.....	109
Cuadro 33. Comparación de algunas características de la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa con variedades de calabaza (<i>Cucurbita pepo</i> L.).....	112
Cuadro 34. Correlaciones fenotípicas de 10 caracteres en la variedad de guía <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa. Chapingo, México. 2004.....	113

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Esquema que ilustra el cambio de color de fruto en cinco formas representativas de <i>C. pepo</i> L.....	8
Figura 2. Enjuague de las semillas de calabaza.....	30
Figura 3. Siembra de semilla de calabaza en medio de cultivo MS.....	33
Figura 4. Formación de brotes de calabaza en medio MS + 1.0 mg/L ⁻¹ de BAP.....	33
Figura 5. Aclimatización de plántulas obtenidas <i>in vitro</i>	36
Figura 6. Cosecha de frutos de calabaza <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa en invernadero.....	38
Figura 7. Color de pulpa de la variedad <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	38
Figura 8. Tasa de multiplicación de calabaza (<i>Cucurbita pepo</i> L.) <i>in vitro</i>	52
Figura 9. Cotiledones de la variedad brujita.....	57
Figura 10. Flor masculina y femenina de la variedad brujita.....	59
Figura 11. Frutos de la variedad brujita en las ramificaciones.....	60
Figura 12. Jaspeado del pedúnculo de la variedad brujita.....	61
Figura 13. Cicatriz floral de la variedad brujita.....	62
Figura 14. Color de pulpa de la variedad brujita.....	63
Figura 15. Color de tallo de la variedad brujita.....	64
Figura 16. Limbo de la variedad brujita.....	64
Figura 17. Número de frutos de la variedad brujita.....	66
Figura 18. Largo y ancho de fruto de la variedad brujita.....	66
Figura 19. Número de acanaladuras de la variedad brujita.....	67
Figura 20. Grosor de pulpa de la variedad brujita.....	67
Figura 21. Peso de semilla de la variedad brujita.....	67
Figura 22. Largo y ancho de semilla de la variedad brujita.....	68
Figura 23. Flor masculina y femenina de la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	80
Figura 24. Ramificación de la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	82
Figura 25. Forma del fruto de la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	80
Figura 26. Zarcillos en la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	84
Figura 27. Limbo en la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	84
Figura 28. Largo y ancho de fruto en la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	87
Figura 29. Peso de semilla sin testa en la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i>	88
Figura 30. Ancho de semilla en la variedad de guía corta <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	88
Figura 31. Largo y ancho de fruto en la variedad de guía <i>Round Zucchini</i> de semilla sin testa.....	105
Figura 32. Aspecto de semilla sin testa en la variedad de guía <i>Round Zucchini</i>	106

INCREMENTO *IN VITRO* Y CARACTERIZACIÓN DE GENOTIPOS AVANZADOS DE CALABAZA (*Cucurbita pepo* L.)

IN VITRO INCREASE AND CHARACTERIZATION OF ADVANCED SQUASH (*Cucurbita pepo* L.) GENOTYPES

César Sánchez Hernández¹, Clemente Villanueva Verduzco²

RESUMEN

El presente estudio se realizó con la finalidad de generar información relacionada con la micropropagación *in vitro* de dos genotipos de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) y su caracterización varietal. El incremento *in vitro* se realizó en el laboratorio de Biotecnología sección cultivo de tejidos del Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, México durante marzo-julio de 2003 y la caracterización de las variedades de marzo-agosto en el año 2004. Se empleó el medio de cultivo básico de Murashige y Skoog (MS, 1962) complementado con 1.0 g·L⁻¹ de 6-Bencilaminopurina (BAP). Los resultados del incremento *in vitro* indicaron que existen diferencias en la tasa de multiplicación entre genotipos, siendo de 3.2 brotes por yema (explanje) en la variedad *Round Zucchini* de semilla sin testa y 2.7 brotes en la variedad *Brujita*, cada 22 días. El proceso de aclimatización de *in vitro* a invernadero logró una sobrevivencia de 90% de plántulas en la variedad *Brujita* y 76% en la variedad *Round Zucchini* de semilla sin testa en un periodo de 20 días.

Las características de la variedad *Brujita* fueron: planta arbustiva con tallos angulares, 20 entrenudos separados a 3.13 cm, cinco ramas primarias, presenta jaspeado de tallo y pedúnculo, 60 días a 50% de floración masculina y femenina y 110 días a madurez fisiológica de fruto, aparición de la primera flor femenina en el sexto nudo de la guía principal y la masculina en el primer nudo, cambio de coloración del fruto verde a naranja a los 35 días postantesis, 18 acanaladuras paralelas y longitudinales en el fruto, peso promedio de fruto 1839 g, fruto de forma elíptica transversal ancha, con cicatriz floral grande, semilla color crema en toda su superficie, 404 semillas por fruto, 100 semillas pesan 13 g (7.69 semillas por gramo), rendimiento de fruto maduro (54.48 t·ha⁻¹) y semilla (1410 kg·ha⁻¹, en peso fresco) a una densidad de 24 691 plantas·ha⁻¹.

La variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa presenta tallos angulares de color verde claro, 27 entrenudos separados a 4.45 cm, 64 días a 50% de floración masculina y femenina y 123 días a madurez fisiológica de fruto, aparición de la primera flor femenina en el noveno nudo de la guía principal y la masculina en el primer nudo, fruto liso de color verde oscuro, pesa 1235 g, semilla lisa color verde marrón, 296 semillas por fruto, peso de 100 semillas 15 g (6.66 semillas por gramo), rendimiento de fruto maduro (36.61 t·ha⁻¹) y semilla (1330 kg·ha⁻¹, en peso fresco) a una densidad de 29 629 plantas·ha⁻¹.

La variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa presenta 34 entrenudos separados a 5.69 cm, 66 días a 50% de floración masculina y femenina y 125 días a madurez fisiológica de fruto, aparición de la primera flor femenina en el doceavo nudo de la guía principal y la masculina en el primer nudo, fruto color verde oscuro costillado, pesa 1415 g, semilla lisa (55%) y pellejada (45%), peso de 100 semillas 16.5 g (6 semillas por gramo), rendimiento de fruto maduro (41.95 t·ha⁻¹) y semilla (1509.89 kg·ha⁻¹, en peso fresco) a una densidad de 29 629 plantas·ha⁻¹.

Palabras clave: Organogénesis, aclimatización, caracterización, semilla sin testa.

¹Tesista

²Director

SUMMARY

The present study was carried out to obtain information related to *in vitro* micropropagation of two squash (*Cucurbita pepo* L.) genotypes and their varietal characterization. The *in vitro* increase of these genotypes was carried out via organogenesis in the laboratory in the Biotechnology tissue cultivation section of the Agricultural Preparatory School at Chapingo Autonomous University, Mexico from March to July of 2003 and the characterization of the varieties was carried out from March to August of 2004. The Murashige and Skoog (MS, 1962) basic cultivation medium, supplemented with 1.0 g·L⁻¹ of 6-Bencilaminopurina (BAP), was used. The results of the *in vitro* increase indicated that differences exist in the multiplication rate among genotypes, with the naked seed *Round Zucchini* variety having 3.2 buds on the *Brujita* variety having 2.7 buds every 22 days. The acclimatization process used from *in vitro* to greenhouse had a 90% survival rate of plantlets in the *Brujita* variety and a 76% survival rate in the naked seed *Round Zucchini* variety during a 20 day period.

The characteristics of the *Brujita* variety were: bushlike plants with angular stems, twenty internodes separated by 3.13 cm, five primary branches, spotted peduncles and main stems, 50% of masculine and feminine flowers in bloom after 60 days, physiological fruit ripeness after 110 days, appearance of the first feminine flower at the sixth node of the main stem and the appearance of the masculine flower at the first node, change of fruit color from green to orange after 35 days postantesis, 18 parallel and longitudinal grooves in the fruit, and average fruit weight to 1839 g, a wide transversal elliptic fruit shape, big floral scar, seeds that are completely cream colored on the surface, 404 seeds per fruit, a weight of 13 g for 100 seeds, a ripe fruit yield of 54.48 t·ha⁻¹ and fresh seed weight of 1410 kg·ha⁻¹, at a density of 24 691 plants per ha⁻¹.

The naked seed short main stem *Round Zucchini* variety has light green colored angular stem, 27 internodes separated by 4.45 cm, 50% of masculine and feminine flowers in bloom after 64 days, physiological fruit ripeness after 123 days, appearance of the first feminine flower at the ninth node of the main stem and of the first masculine flower at the first node, dark green colored flat fruit, fruit weight of 1235 g, brownish green colored smooth seeds, 296 seeds per fruit, a weight of 15 g for 100 seeds (6.66 seeds per gram), a ripe fruit yield of 36.61 t·ha⁻¹ and fresh seed weight of 1330 kg·ha⁻¹, at a density of 29 629 plants per ha⁻¹.

The naked seed short stem *Round Zucchini* variety has thirty-four internodes separated by 5.69 cm, 50% of masculine and feminine flowers in bloom after 66 days, physiological fruit ripeness after 125 days, appearance of the first feminine flower at the twelfth node of the main stem and the first masculine flower at the first node, dark green colored green ribbed fruit, fruit weight of 1415 g, 55% smooth seeds and 45% wrinkled seeds, weight of 16.5 g for 100 seeds (6 seeds per gram), a ripe fruit yield of 41.95 t·ha⁻¹ and fresh seed weight of 1509.89 kg·ha⁻¹, at a density of 29 629 plants per ha⁻¹.

Words key: Organogenesis, acclimatization, characterization, naked seed.

¹Thesis author

²Director of thesis

I. INTRODUCCIÓN

El principal objetivo del mejoramiento fitogenético de plantas es la creación y liberación de variedades mejoradas, por tal razón constantemente se están obteniendo nuevas variedades que son superiores en ciertas características cualitativas y cuantitativas a las ya existentes. La semilla de esas variedades debe estar a disposición del productor agrícola, quién al comprar dicha semilla certificada debe tener la seguridad de su identidad varietal, pureza genética, fisiológica, física y sanitaria (McDonald y Pardee, 1985).

La descripción varietal es una herramienta importante empleada por la industria de semillas para caracterizar y mantener la identidad y pureza varietal de los lotes de semilla, durante varios ciclos de multiplicación consecutivo; y en particular, cuando el progreso en el mejoramiento genético alcanza un nivel donde las diferencias entre las variedades son cada vez mínimas, o cuando se trata de variedades nuevas con las cuáles no están muy familiarizados los encargados del registro, mantenimiento y control de la identidad y pureza genética (Smith y Register, 1998). Las nuevas variedades antes de ser liberadas deben ser descritas con la finalidad de determinar su identidad varietal y se describirán de acuerdo con sus características pertinentes en el área de su adaptación. Un aspecto importante de cualquier variedad sobresaliente es su uniformidad, aunque se debe reconocer que ésta mostrará alguna variación en varios atributos agronómicos importantes. Los rasgos morfológicos y las variaciones esperadas dentro de una nueva obtención vegetal deben ser descritos correctamente

como una guía para su registro, mantenimiento y multiplicación de semillas (Kelly, 1988).

Cuando una nueva variedad ha sido creada y se piensa liberarla, se parte de una limitada cantidad de semilla que debe ser incrementada para satisfacer las necesidades del mercado. Sembrar esta semilla, la cual es escasa se corre el riesgo de que se pierda, además de que se requerirían varios ciclos de cultivo para obtener suficiente cantidad de semilla; una opción para incrementar el número de plantas en poco tiempo es el empleo de la micropropagación *in vitro*, donde a partir de un ápice de planta seleccionada, es posible producir una infinidad de nuevas plantas, las cuáles conservan las características genéticas de la planta original.

Como resultado del trabajo de investigación del proyecto calabazas a cargo del Dr. Clemente Villanueva Verduzco, profesor investigador del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, se obtuvieron dos variedades experimentales promisorias de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) tipo 'Round Zucchini' productora de semilla sin testa y una denominada tipo brujita, de las cuáles se pretende realizar su correspondiente descripción varietal y registro oficial.

1.1. OBJETIVOS

1. Incrementar *in vitro* dos genotipos avanzados de calabaza (*Cucurbita pepo* L.), tipo 'Round Zucchini' productora de semilla sin testa y uno tipo 'Brujita' y su aclimatización para contar con plantas suficientes en invernadero que produzcan fruto y semilla misma que servirá para caracterizar a ambos materiales en condiciones de campo.

2. Caracterizar morfológica y agronómicamente ambas variedades en el Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo. Y al mismo tiempo, obtener la mayor cantidad de semilla posible de ambas variedades a fin de que integren la categoría de semilla básica, la cual servirá para realizar incrementos masivos de la misma.

1.2. HIPÓTESIS

- 1) Con el empleo de la técnica de multiplicación *in vitro* es posible obtener numerosas plántulas de calabaza en poco tiempo.
- 2) Los genotipos de calabaza descritos son diferentes en una o más características cualitativas o cuantitativas de las variedades comerciales actuales. Además, son nuevas, homogéneas y estables. Así, con la semilla que se obtenga en invernadero de plántulas incrementadas *in vitro* y la que resulte de las polinizaciones controladas durante el ciclo de caracterización, se contará con semilla suficiente para realizar los incrementos masivos de semilla de ambos genotipos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia del género *Cucurbita*

Históricamente la calabaza ha formado parte de la dieta de muchos pueblos americanos (Montes, 1991; Lira, 1995; Pérez *et al.*, 1997; Nuez *et al.*, 2000); no obstante, a excepción de las variedades mejoradas para la producción de verdura (*Cucurbita pepo* L.), son escasos los esfuerzos encaminados a generar variedades con alto potencial de producción de fruto maduro y semilla. En México en el año agrícola 1999 se sembró un total de 12 003 ha en condiciones de temporal (97 %), y se registró una producción de 5 794 toneladas cosechadas en 11 309 ha, con un rendimiento promedio de 0.512 toneladas ha⁻¹ (SAGARPA, 2001).

El cultivo de la calabaza ha tenido primordial importancia en el desarrollo de las primeras civilizaciones de América, y es muy popular en México y en la mayoría de los países americanos donde existen variedades criollas para una determinada región (Pérez *et al.*, 1997).

Las Cucurbitáceas se utilizan principalmente por sus frutos y se les incluye en la categoría de hortalizas. En algunas regiones del sur y sureste de México se comen las puntas de los tallos (León, 1987), los cuáles contienen calcio (18 mg) y fósforo (21 mg). Las flores y los frutos tiernos y maduros también son ricos en tiamina (0.05 mg), riboflavina (0.05 mg) y ácido ascórbico (10 mg) (Lira, 1995). En México, *Cucurbita pepo* L. es la única especie de calabaza que se cultiva a nivel comercial para su aprovechamiento como verdura, destinándose gran parte de la producción para la exportación a los Estados Unidos y Canadá principalmente (Pérez *et al.*, 1997).

2.2. Origen geográfico y distribución de las calabazas

La familia Cucurbitaceae comprende 90 géneros y 750 especies. El género *Cucurbita* cuenta con aproximadamente 27 especies silvestres y cinco cultivadas (Montes, 1991).

El Cuadro 1 presenta una lista de las cinco especies cultivadas del género, indicando el sitio arqueológico, su antigüedad y el probable centro de origen.

Cuadro 1. Especie, sitio arqueológico, antigüedad y probable centro de origen de las especies cultivadas de *Cucurbita*.

Especie	Sitio arqueológico	Antigüedad	Probable centro de origen
<i>C. pepo</i>	Cuevas de Ocampo, Tamaulipas, México.	7 000 a.C.	México (Altiplano)
<i>C. moschata</i>	Huaca Prieta, Perú.	3 000 a.C.	Centroamérica y Sur de Norteamérica
<i>C. argyrosperma</i>	Valle de Ica, Perú.	600 d.C.	América del Sur
<i>C. mixta</i>	Cuevas de Ocampo, Tamaulipas, México.	1 000 d.C.	Centroamérica y Sur de México
<i>C. ficifolia</i>	Huaca Prieta, Perú	3 000 a.C.	Altiplano de Centroamérica

Fuente: Cutler y Whitaker, 1961.

En general, la adaptación de las cuatro especies mesoamericanas es la siguiente: *C. argyrosperma* y *C. moschata* en lugares cálidos y con altitud menor a 1 800 msnm; *C. pepo* en lugares con altitud más elevada (mayor de 1 000 msnm) y *C. ficifolia*, en altitudes mayores de 1 300 msnm (Montes, 1991).

2.3. Herencia de algunos caracteres en *Cucurbita* sp

2.3.1. Hábito de crecimiento

En el género *Cucurbita* se presentan dos tipos de hábito: de mata y de guía (Whitaker y Davis, 1962). La herencia de este carácter aún no está bien aclarada y los investigadores que han trabajado al respecto han obtenido resultados diferentes. La herencia del carácter hábito de mata en *Cucurbita pepo* L., es debida a un gen mayor dominante y un número indeterminado de genes modificadores (Whitaker y Davis, 1962). Por otro lado Denna y Munger (1963) estudiando la herencia de este carácter en *C. pepo* y *C. maxima*, encontraron que el hábito de mata es completamente dominante sobre el hábito de guía en las etapas iniciales de desarrollo de la planta, pero esta dominancia completa cambia a una dominancia incompleta conforme avanza el desarrollo de la planta hacia su estado adulto. Estos autores le han llamado a este fenómeno “desarrollo reversible de dominancia”.

2.3.2. Color de fruto y tallo

Cucurbita pepo L. esta considerada quizá como la especie mas polimórfica en cuanto a características de fruto en el reino vegetal. Varios genes han sido identificados, los cuáles afectan el color de fruto y/o planta. El color oscuro de tallo es dominante a color claro y esta conferido por un gene simple en una serie alélica múltiple, d/d para tallo claro, D^s/D^s y D^s/d para tallo oscuro, y D/- para tallo y frutos oscuros (Paris, 2000).

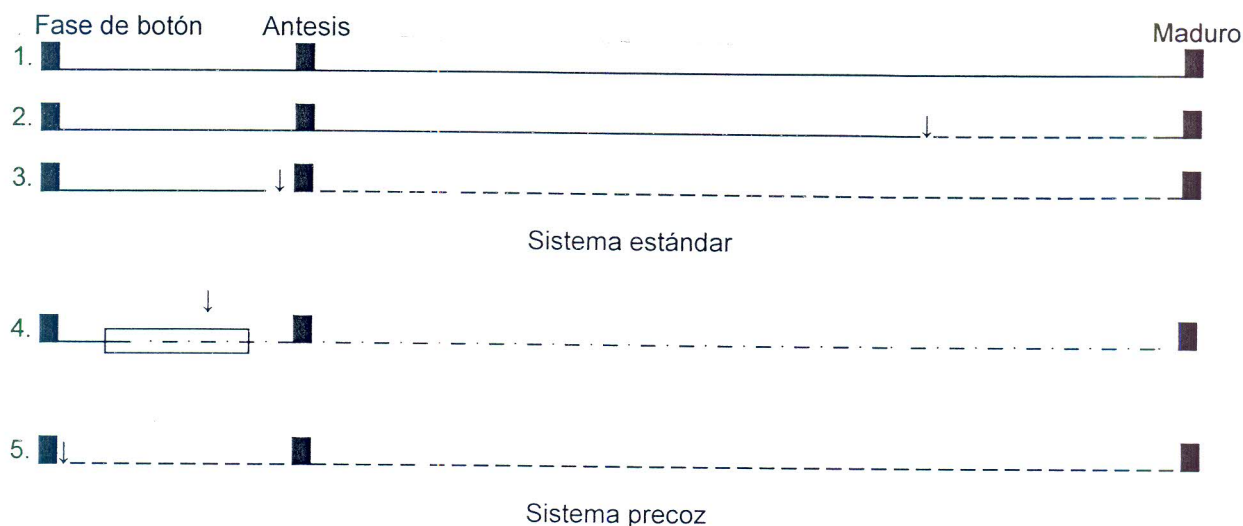
El rango de colores de la cáscara del fruto va de verde hasta amarillo y anaranjado, así como intensidades de color desde casi negro hasta casi blanco. Generalmente, bajo la influencia del alelo normal B⁺, los ovarios de *C. pepo* son de color verde antes de antesis, pero después de antesis cambian a una gran variedad de colores y patrones,

dependiendo de la constitución genética de la planta. Se han identificado varios genes que determinan el color externo del fruto, uno de estos el gene Y determina que la cáscara del ovario pierda su pigmentación verde algún tiempo después de antesis, cambiando su coloración a amarillo o anaranjado.

El cambio de color producido por el gene Y se ha caracterizado ultraestructuralmente donde se demuestra la conversión de cloroplastos en cromoplastos. Menos variación se ha reportado para el color de la pulpa del fruto de *C. pepo* L. El rango de colores descritos va desde anaranjado hasta casi blanco y se ha identificado claramente que el color de la pulpa del fruto esta controlado por un solo factor genético, además para que se lleve a cabo el color de la cáscara del fruto el alelo B incrementa la coloración naranja y el contenido de carotenoides de la pulpa (Schaffer, *et al.*, 1986).

Se observan seis diferencias básicas en el color externo del fruto: blanco, verde, gris, crema, amarillo y anaranjado. Estos colores son persistentes cambiando únicamente en intensidad, pero pueden combinarse dando frutos bicolors o manchados durante el desarrollo de los mismos. Los tipos de frutos de calabaza bicolors amarillo y verde son genéticamente inestables y la mutación que provocan estos colores es reversible, pudiéndose lograr por autofecundación y selección de líneas, frutos de solamente color amarillo (Shifriss, 1949).

Shifriss (1981) propone un esquema (Figura 1) que ilustra el cambio de color externo del fruto en cinco formas diferentes en *C. pepo* L.



_____ : Verde; _____ : color que cambia al verde; _____ : bicolor.

↓ Cambio de color verde por (anaranjado, amarillo, crema, blanco)

□ Estado de desarrollo en el cual los genes precoces están sujetos a la plasticidad fenotípica.

Figura 1. Esquema que ilustra el cambio de color de fruto en cinco formas representativas de *C. pepo* L.

2.3.3. Semilla sin testa

Las semillas tostadas de calabaza (*Cucurbita pepo* L) sin testa son una popular botana en los países balcánicos incluyendo Yugoslavia, así como en Austria, Hungría y Slovenia. Al principio sólo las semillas con testa se encontraban disponibles, pero debido a la carencia de aceite comestible en Europa durante la primera y segunda guerra mundial se extrajo aceite mediante presión a las semillas sin testa.

Las semillas sin testa aparecieron como una mutación en un lugar desconocido en Europa Central hace aproximadamente 100 años, éstas substituyeron a las semillas de calabaza normales en Austria desde hace 50 años. Styria, una provincia de la región sudeste de Austria, es la principal zona productora de calabaza productora de semilla sin testa para la extracción de aceite. La característica de la semilla sin testa de esta región es que sabe a nuez y el color verde marrón que resulta del brillo y reflexión de

las protoclorofilas derivadas de la capa cloroenquimatosa de la semilla. En 1998 la Comunidad Europea reconoció oficialmente el aceite de semilla de calabaza "Styrian Pumpkin-Seed Oil d.g.A." con estampilla de origen (Winkler, 2000).

El mutante de semilla desnuda en *C. pepo* puede ocurrir espontáneamente o ser inducida. En este mutante la semilla es completa, pero no existe el engrosamiento y lignificación de las paredes celulares de la testa. La lignificación en la testa de la semilla está controlada por dos genes: uno principal para la lignificación y un gen complementario para que ésta se produzca (Heinisch y Ruthenberg, 1950; citado por Whitaker y Davis, 1962). Diferentes genes para el carácter semilla desnuda pueden ocurrir en diferentes especies y cultivares; por ejemplo, se encontraron segregantes con semilla desnuda en varias cruza con híbridos poliploides de semilla normal en la cruza de *C. maxima* x *C. mixta*, y se le consideró un gen no relacionado al de *C. pepo* (Robinson *et al.*, 1976). Los cultivares de *C. pepo* con semilla normal, tienen 38 y 33 % de aceite y proteína, respectivamente; mientras que su mutante de semilla desnuda, contiene 48.5 y 33.5 %, de aceite y proteína, respectivamente (Curtis, 1948; Whitaker, 1962).

En México, Martínez *et al.* (1996) reportaron el contenido de aceite de dos accesiones de calabaza de semilla sin testa con valores de 35.0 y 37.0 %. Por su parte, Abak *et al.* (1997) citados por Winkler (2000), evaluaron cuatro líneas de calabaza de semilla sin testa durante abril y mayo en Turquía y reportaron 39-40 % de aceite. Mientras que el contenido promedio de aceite de la variedad 'Gleisdorf Ölkürbits' en Gleisdorf Austria durante un periodo de cinco años fue de 45.8 %.

Cuadro 2. Herencia de algunos caracteres en *C. pepo* y *C. maxima*.

Caracteres	F ₁	Segregación en la F ₂
Forma del fruto		
Disco vs esfera	Disco	3 disco: 1 esfera
Superficie del fruto		
Medio rugoso vs liso	Rugoso	3 rugosos: 1 liso
Muy rugoso vs liso	Rugoso	15 rugosos: 1 liso
Color externo del fruto		
Blanco vs rayas verdes	Blanco	3 blancos: 1 rayado
Blanco vs amarillo	Blanco	3 blancos: 1 amarillo
Amarillo vs verde	Amarillo	3 amarillos: 1 verde
Blanco vs verde	Blanco	13 blancos: 3 verdes
Cáscara del fruto		
Dura vs suave	Dura	3 duras: 1 suave
Semilla		
Con testa vs sin testa	Con testa	15 con testa: 1 sin testa

Fuente: Whitaker y Robinson (1986).

2.4. Importancia de la descripción varietal

La utilidad de una descripción varietal se puede determinar por la precisión que requieran los objetivos de sus usuarios. Para los estudios genéticos y evolutivos que se realizan básicamente en los bancos de germoplasma, se precisan datos, tomados con exactitud, de muchas características botánicas; la descripción varietal empleada por los fitomejoradores con fines de promoción comercial, en cambio, sólo necesitan realzar las características de interés agronómico y comercial de importancia para el agricultor. Entre estos dos extremos se encuentra la descripción varietal que se utiliza en la industria de semillas, cuyos objetivos son: controlar la purezas genética y física de cada variedad e infundir credibilidad en el comercio de semillas (CIAT, 1983).

Se considera a la descripción varietal como un conjunto de observaciones que permiten caracterizar y distinguir a una población de plantas que constituyen una variedad. Debido a que la misma posee diferentes rasgos, es imprescindible que cada variedad sea adecuadamente identificada en todas sus características agronómicas y morfológicas esenciales (Muñoz *et al.*, 1993).

2.5. Descriptores varietales

Al hablar de descriptores varietales, es necesario abrir un espacio previo para hacer referencia a conceptos como el de variedad, ya que en éste descansa en gran medida el significado práctico de lo que es un descriptor. La Asociación de Agencias Oficiales de Certificación de Semillas de los Estados Unidos, AOSCA (1997), consideró como variedad “una subdivisión de una clase diferente, uniforme y estable”, estableciendo que es diferente en el sentido en que la variedad se puede identificar por una o más características morfológicas, físicas o de otro tipo que las distingue de las otras variedades conocidas; uniforme porque se puede describir la variación de las características esenciales y típicas y estable en la medida en que la variedad permanezca sin cambios; así tendrá un grado razonable de confiabilidad en sus características esenciales y típicas, y en su uniformidad, al reproducirla según lo exigen las diferentes categorías de la variedad.

La descripción varietal es el conjunto de observaciones que permiten distinguir y caracterizar a una población de plantas que constituyen una variedad. Basados en el hecho que cada variedad posee una serie de rasgos diferenciales, es necesario identificar adecuadamente todas sus características morfológicas y agronómicas esenciales, e identificarlas con un nombre (Muñoz, 1983).

La descripción varietal la debe realizar el fitomejorador; para ello se debe lograr un muestreo adecuado de plantas y ambientes, sin confundirla con el ideotipo que él pretende lograr en su proceso de selección. Debe considerar a los descriptores como un criterio amplio, de modo que permita definir la identidad, uniformidad y estabilidad de una variedad. Por tanto, la eliminación de plantas de otras variedades, así como de segregantes de la misma variedad en el campo, requiere de un patrón de referencia, que permita, en forma confiable, decidir que fenotipos pertenecen a la variedad; pues corresponde al productor de semillas mantener los genotipos generados por el fitomejorador, durante las sucesivas generaciones de incrementos de semillas a que se debe someter una variedad después de su liberación (Poey, 1982).

La descripción varietal es una “fotografía”, o conjunto de observaciones por escrito del fenotipo, que permiten distinguir y caracterizar a una población de plantas que constituyen una variedad (Poey, 1980). Al realizarse la descripción varietal sobre el fenotipo, el cual es función de los efectos del genotipo, el ambiente y la interacción de ambos ($F=G+A+GA$), es importante distinguir cada efecto para evitar cambios en la identidad genética debido a la eliminación de plantas supuestamente fuera de tipo y que sólo son diferentes por efectos ambientales. Los caracteres descriptivos deben diferenciarse en los que son fijos de los que son variables. Los fijos dependen generalmente de uno o pocos genes que determinan una característica de distribución discreta; es decir, de fácil diferenciación entre las plantas, como por ejemplo, el color de la flor en frijol, los colores de los granos del maíz y sorgo, y la presencia de aristas en el arroz. Los caracteres determinados por este mecanismo se llaman cualitativos y las modificaciones que experimentan por acción del ambiente son pocas. Por lo que son muy utilizados en la multiplicación y en las normas de certificación de semillas. Además

los descriptores cualitativos son más confiables porque están menos influenciados por el ambiente. Es decir, dentro de una misma localidad y en cualquier localidad estos caracteres se pueden identificar fácilmente. Sin embargo, es posible que se acepte dentro de la definición de la variedad algunas segregaciones genéticas o la mezcla de otros fenotipos diferentes, por lo que se debe cuantificar la variación posible esperada aunque ésta sea muy baja. Por el contrario, los caracteres descriptivos variables dependen generalmente, de un número mayor de genes y se manifiestan genotípicamente como una distribución continua donde aparece un ámbito variable en la expresión fenotípica. Estos caracteres reciben el nombre de cuantitativos y son más afectados por el ambiente, por ejemplo, la altura de planta en maíz y sorgo, el número de hojas en el arroz. Los caracteres cuantitativos son útiles en el mantenimiento de la variedad y en la producción de la semilla original (CIAT, 1983).

Requisitos de la UPOV (Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales) para la protección de variedades:

En años anteriores cada país tenía sus propias reglas para la descripción de variedades y por consiguiente los criterios técnicos para otorgar los derechos también eran diferentes de un país a otro y la falta de concordancia causó muchos problemas, especialmente cuando un fitomejorador solicitaba protección para su variedad en dos o más países, ya que una variedad considerada distinta, uniforme y estable en un país, podría ser rechazada en otro, y viceversa. Por lo tanto era urgente estandarizar las reglas, y la responsabilidad la asumió la UPOV con la adopción del convenio de la convención internacional de 1961 para la protección de nuevas variedades de plantas, el cual fue revisado en 1978 y 1991 (UPOV, 2000).

En el convenio internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales, se indica que la protección se concederá después de un examen a la variedad. Para tal fin, la UPOV ha publicado los principios rectores o normas de ensayo (“UPOV Test Guidelines”) para la comprobación y ejecución del examen de los caracteres distintivos, la homogeneidad y la estabilidad de las nuevas variedades vegetales. Con estos “Principios Rectores” los países miembros poseen una base común para el examen de las variedades y para establecer descriptores de ellas en un modelo normalizado que facilita la cooperación internacional en materia de examen entre los servicios de los países miembros de la Unión. Los Principios Rectores son documentos que prepara la UPOV, con la participación de expertos en identificación varietal de los países miembros. Los documentos son para cada especie o género en donde se describe o se detalla la metodología precisa para describir y poder comprobar la existencia de caracteres distintivos de la variedad, la homogeneidad y la estabilidad de la misma. Los artículos siete, ocho y nueve del convenio de la UPOV de 1991, consideran otro aspecto relevante como es la novedad, que sirve para asegurar que la variedad no ha sido explotada comercialmente; por consiguiente, no se requiere una evaluación técnica, pero sí una evaluación legal.

2.6. Examen de distinción

Para el examen de la distinción la UPOV (1979 y 2000), establece en los convenios de 1978 y 1991, lo siguiente: de acuerdo al artículo 7 del convenio de 1991 y con arreglo del artículo 6.1 inciso a de 1978, en el acta quedó establecido que la variedad deberá distinguirse claramente por uno o varios caracteres importantes de cualquier otra variedad, cuya existencia sea notoriamente conocida en el momento en que se solicite

la protección. Los caracteres que permiten definir y distinguir la variedad deben ser susceptibles de reconocimiento y descripción precisa. Por consiguiente, en los convenios plantean que se confirme la distinción de una variedad antes de otorgar el derecho a su obtentor.

Para comprobar la distinción se compara la variedad candidato en estudio con todas las variedades que constituyen la colección de referencia y el examen de distinción, normalmente será conducido en un lugar de prueba, si cualquier característica de la variedad no es observada en aquel lugar, la variedad puede ser evaluada en un lugar adicional.

2.7. Examen de homogeneidad

De conformidad con el artículo 6.1 inciso c del convenio de 1978 de la UPOV, la variedad deberá ser suficientemente homogénea, teniendo en cuenta las particularidades que presente su reproducción (sexual o multiplicación vegetativa). Para ello, las plantas atípicas resultante de una mezcla accidental, mutaciones o de otras causas deben ser suficientemente limitadas para que la distinción pueda describirse y evaluarse con precisión y su estabilidad quede garantizada. Para esto, se determina cierta tolerancia que variará en función del sistema de reproducción de la variedad, multiplicación vegetativa, autogamia o alogamia. El número de plantas atípicas, no deberá sobrepasar la tolerancia, salvo que se indique lo contrario en los correspondientes “Principios Rectores” para el examen. Para las variedades de multiplicación vegetativa y variedades estrictamente autógamas y con base a la experiencia adquirida, el número máximo aceptable de plantas atípicas en las muestras de distintos tamaños se indica en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Número máximo aceptable de plantas atípicas en variedades autóгамas y de propagación vegetativa con respecto al tamaño de muestra.

Tamaño de muestra	Número máximo de plantas atípicas
≤ 5	0
6 – 35	1
36 – 82	2
83 – 137	3

Fuente: UPOV, 1979.

Las variedades principalmente autóгамas son aquellas que sin ser estrictamente autóгамas se tratan como tales a efectos del examen. Para estas variedades, se requiere un mayor grado de tolerancia, y se duplica el número máximo de plantas atípicas que se muestra en el Cuadro 3 para las variedades de multiplicación vegetativa y para las variedades estrictamente autóгамas. Por el contrario las variedades sintéticas y de polinización abierta (alóгамas) presentan mayor variación que las variedades propagadas vegetativamente, autóгамas o líneas de varios ciclos de autofecundación formadoras de híbridos, por lo que muchas veces es difícil distinguir plantas fuera de tipo. Por lo que no hay tolerancias fijas, pero hay límites de tolerancias relativas al compararlas con variedades conocidas. Esto significa que la variedad candidata no debe estar estadísticamente más desuniforme que la variedad de referencia. En la evaluación de estos materiales, con respecto a los caracteres medidos se utilizan como criterios de comparación la desviación típica o la varianza; se considera que una variedad no es homogénea en cuanto al carácter medido de que se trate, si su varianza es superior a 1.6 veces la media de las varianzas de las variedades

utilizadas para la comparación. En los caracteres observados visualmente deben ser tratados de la misma manera que los caracteres medidos.

El número de plantas visualmente diferentes de las de la variedad no debe ser significativamente superior (probabilidad de error del 5 %) al número hallado en variedades ya conocidas (UPOV, 1979).

El coeficiente de variación es un estimador estadístico de dispersión, que mide la variabilidad presente en los parámetros de distribución continua con diferentes unidades de medida y para la descripción varietal permite comparar variables en las cuáles se han utilizado medidas diferentes; además permite conocer la variabilidad de los caracteres; indicando así la confiabilidad de cada uno de ellos para fines de identificación varietal, con base en su homogeneidad (Rivas, 1988).

2.8. Examen de estabilidad

De acuerdo con el artículo 9 del convenio de 1991, con arreglo al artículo 6.1 inciso d del convenio de 1978 de la UPOV, una variedad será considerada estable, si las características relevantes permanecen sin cambios, después de ser propagadas. Las características relevantes son al menos características usadas para la prueba de distinción, en la cual se incluye la descripción de la variedad. Usualmente no es posible que en un periodo de 2 a 3 años, se realice la prueba de estabilidad y se obtengan resultados confiables como en el examen de distinción y uniformidad. Por lo general, cuando una muestra presentada haya demostrado ser homogénea, el material también puede considerarse estable. Una variedad estable deberá mostrar cambios pequeños de un ciclo al otro en sus atributos fenotípicos cuando se reproduzca para su mantenimiento, para multiplicación de semilla o ambos. Esta estabilidad en tiempo y

espacio es altamente deseable y contribuirá a una rápida adopción de los agricultores (UPOV, 2000).

Bajo el sistema de la UPOV, se seleccionan características (descriptorios) que son convenientes para la descripción varietal y para los exámenes de distinción, uniformidad y estabilidad y no por su valor comercial. La superioridad o uso no es un criterio de protección, por ejemplo, características como el valor económico o presentación pueden cambiar por la época o el país, ya que las características de valor comercial, como el rendimiento, están influenciados en gran medida por el ambiente, por este motivo la UPOV evita incluir estas características en las guías técnicas; pero si una característica de valor comercial cumple con los requisitos básicos, ésta puede usarse para el examen de distinción (UPOV, 2000).

2.9. Elaboración de la descripción varietal

Las guías técnicas de la UPOV son una serie de tablas con las características que se deben medir para la descripción varietal, que ayudan a los fitomejoradores a solicitar la concesión de sus derechos para protección e inscripción en un catálogo nacional y regional de sus variedades.

2.10. Literatura relacionada con caracterización en *Cucurbita pepo* L.

De la descripción agronómica y morfológica de colectas de calabazas criollas de *Cucurbita pepo* L., Martínez y García (1998) encontraron positivas las correlaciones ancho de semilla y peso de fruto ($r = 0.51^*$), peso de cien semillas y peso de fruto ($r = 0.53^{**}$), longitud de semilla con peso de fruto ($r = 0.63^*$), peso de cien semillas ($r = 0.57^*$) y ancho de semilla ($r = 0.54^{**}$), ancho de fruto con días a floración ($r = 0.64^*$),

grosor de pulpa con dureza de la cáscara del fruto ($r = 0.46^*$), días a floración con grosor de pedúnculo ($r = 0.47^*$) y número de frutos ($r = 0.51^*$).

Bajo domesticación se ha cambiado la proporción del sexo en las poblaciones cultivadas de *Cucurbita pepo* L., pues el número de flores masculinas supera al número de flores femeninas; a pesar de ello, también se ha mantenido una adecuada cantidad de flores femeninas con la finalidad de asegurar una buena polinización y consecuentemente una alta producción de frutos y semillas (Reyes, 1976).

El mismo autor presenta las medias para algunas características de una población de *C. pepo* var. 'Round Zucchini', evaluada bajo riego en Chapingo, México (Cuadro 4). Adicionalmente señaló que el número promedio de días a floración es de 55; al inicio de la floración hay mayor producción de flores masculinas, pero 15 o 20 días antes de la terminación de la floración el número de flores masculinas disminuye manteniéndose constante el de flores femeninas.

Cuadro 4. Algunas características de una variedad de calabaza *C. pepo* var. 'Round Zucchini'.

Características por planta	Cantidad
Número de flores masculinas	61.48
Número de flores femeninas	8.28
Relación flores masculinas/femeninas	7.42
Número de frutos	3.90
Rendimiento de frutos (kg)	5.94
Peso de fruto (kg)	1.45
Largo de fruto (cm)	11.77
Ancho de fruto (cm)	15.51
Número de semillas por fruto	324.75
Peso de 100 semillas (g)	14.59

Fuente: Reyes (1976).

2.11. CULTIVO DE TEJIDOS

2.11.1. Importancia

La producción masiva y relativamente rápida de plantas sanas y de alta calidad genética, es una de las aplicaciones del cultivo de tejidos vegetales. Con esta técnica se puede lograr en poco tiempo y de manera sostenida en cualquier época del año, la producción de plantas vigorosas y sobre todo libres de plagas y enfermedades. A partir de un ápice de planta seleccionada, es posible producir una infinidad de nuevas plantas, las cuáles conservan las características de la planta original (Robles, 1993).

La producción de plantas mediante cultivo de tejidos comprende una secuencia de cinco fases principales que van desde la selección de la planta de la cual se obtendrá el explante, cosecha del mismo, establecimiento en el medio de cultivo, multiplicación y aclimatación del material propagado para su trasplante en invernadero (Pierik, 1990; Montoya, 1991).

2.11.2. Morfogénesis y totipotencia

La morfogénesis se define como la génesis o iniciación de la forma de los organismos vivos. A nivel celular implica tres acontecimientos: la división celular, el crecimiento celular y la diferenciación celular (Salisbury y Ross, 1994). La regulación genética de la morfogénesis puede ocurrir en varios niveles: transcripción, post-transcripción, traducción y post-traducción. El conocimiento del control genético del crecimiento y diferenciación en los sistemas de morfogénesis *in vitro* es necesario para manipularlo en la dirección deseada y lograr un eficiente uso de la tecnología del cultivo de células y tejidos (Powell y Caligari, 1987; Zhang y Qifeng, 1993).

La totipotencia celular, se define como la capacidad de las células somáticas de regenerar el fenotipo de la planta de la cual se derivan. El proceso de diferenciación no implica pérdida del material genético; sino la expresión diferencial de sus genes modulada por factores internos y externos. En principio, la mayoría de células vegetales se consideran totipotentes, es decir, que una célula no embrionaria tiene el potencial de diferenciarse en una célula embrionaria y proseguir todos los estados del desarrollo para producir una planta completa, pero no es excluyente, que ciertas células vegetales sufran inactivación irreversible en el transcurso de la diferenciación, anulando la totipotencia.

La totipotencia puede manifestarse por dos rutas alternativas: 1) organogénesis, es decir, la diferenciación de meristemos caulinares y/o radicales; y 2) embriogénesis, es decir, la formación de embriones somáticos siguiendo las fases del embrión cigótico (Segura, 1993).

Aún cuando todas las células de un organismo tienen el mismo genotipo, hay notables diferencias en la habilidad para regenerarse en cultivo *in vitro*, entre células y entre órganos (Ammirato, 1986). En biología del desarrollo, competencia indica que una célula o tejido es capaz de recibir y/o responder a estímulos específicos con una respuesta específica (Lindón, 1990; Henry *et al.*, 1994).

El desarrollo de una planta completa a partir de una célula, requiere la determinación de muchos tipos de células y su organización dentro de un modelo, y cuando la respuesta morfogénica es inducida, es seguida por diferenciación y desarrollo (Henry *et al.*, 1994).

2.11.3. Organogénesis

Para que la organogénesis ocurra, se deben producir cambios que conduzcan a la organización celular. Torpe (1980) propuso que este proceso involucra diferenciación celular y reacción a señales específicas (Liz y Jarret, 1991). Según Pierik (1990) se distinguen cuatro etapas en el proceso: 1) desdiferenciación de células diferenciadas, 2) división celular, 3) iniciación de órganos, y 4) desarrollo de órganos. Una función primaria de la mitosis en la organogénesis, es la formación de un número de células en división activa, las cuáles son capaces de responder a las señales del desarrollo. Las regiones localizadas de células en división activa –meristemoides- se componen de células pequeñas, isodiamétricas, con un citoplasma denso, vacuolas pequeñas y núcleos prominentes y con varios organelos y grandes cantidades de almidón. La mayoría de meristemoides son estructuras monopolares, semejantes a meristemas verdaderos y poseen conexiones vasculares con el callo o tejido circundante. Bajo condiciones de cultivo apropiadas, desarrollan yemas y raíces primarias (Ammirato, 1986; Litz y Jarret, 1991).

2.11.4. Embriogénesis

El proceso de embriogénesis se inicia con la desdiferenciación de las células ya diferenciadas, seguida por la división celular no dirigida que da origen a una masa no diferenciada de células parenquimáticas vacuolazas (callo); éstas se transforman en células ricas en citoplasma que se hacen embriogénicas por influencia de auxinas. El desarrollo de un embrión, a partir de una célula embriogénica, se consigue generalmente en ausencia de auxinas en el medio de cultivo (Pierik, 1990).

2.11.4. Reguladores del crecimiento

El desarrollo vegetal, tanto en el aspecto de crecimiento como en el de diferenciación de órganos, se encuentra regulado por la acción de sustancias químicas que activan o inhiben determinados procesos fisiológicos interactuando entre sí. Los fitorreguladores son compuestos químicos capaces de intervenir en el metabolismo, actúan en muy pequeñas concentraciones para activar o inhibir algún proceso del desarrollo. Los fitorreguladores pueden ser naturales, si los produce la propia planta, o sintéticos. Los reguladores del crecimiento son compuestos orgánicos originados en la misma planta (endógenos), en pequeñas cantidades, que fomentan, inhiben o modifican de alguna manera cualquier proceso fisiológico vegetal. Las hormonas son fitorreguladores naturales que tienen acción en la planta en un lugar distinto de donde se produce. Las hormonas vegetales se pueden agrupar en: auxinas, citocininas, giberelinas y ácido abscísico (Casarrubias y Delgado, 1998).

2.11.5.1. Auxinas

La auxina natural, ácido indolacético (AIA), es sintetizado a partir del triptofano en el primordio de hoja y en hojas jóvenes (Davies, 1995). Es un grupo de compuestos caracterizados por su capacidad para inducir alargamiento o extensión de las células de las regiones meristemáticas en concentraciones bajas; no obstante, en una concentración relativamente alta causa inhibición de estos fenómenos. Dentro de este grupo el más usado es el ácido indolacético (AIA), se tienen también los siguientes compuestos (Casarrubias y Delgado, 1998):

- Ácido naftalenacético (ANA)
- Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)

- Ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T)
- Ácido indolbutírico (AIB)
- Ácido para-clorofenoxiacético (PCPA)
- Ácido 2-metil, 4-clorofenoxiacético (MCPA)

2.11.5.2. Citocininas

Las citocininas tienen la habilidad de inducir la división celular en cultivo de tejidos, solamente en presencia de auxina, en los casos en que no se requiere un suplemento exógeno de auxina, se asume que el sistema está sintetizando la auxina (Krikorian, 1995). A este grupo pertenecen sustancias que producen una mayor actividad en el ritmo de división celular por mitosis, por lo cual se les ha llamado hormonas de la división celular. Aún se desconoce el mecanismo de acción de las citocininas, aunque quizás actúan a nivel molecular o de los genes. En la actualidad se sabe que las citocininas pueden incorporarse a los ácidos nucleicos de las células. También retarda el envejecimiento o senescencia de los órganos y de los fenómenos propios de ésta. Dentro de este grupo se ubican las siguientes sustancias (Casarrubias y Delgado, 1998):

- 6-furfurilaminopurina (kinetinas)
- 6-bencilaminopurina (BAP)
- N₆ – 2 isopentoniladenina (2iP)
- Zeatina (ZEA)
- Furfuriladenina (cinetinas)
- Isopentonil adenosina (IPA)

La diferenciación de yemas o brotes se logra por subcultivos en medios que contengan una alta relación citocinina/auxina, mientras que, para la diferenciación de raíces se requieren medios con una baja relación citosina/auxina. En medios con citosina puede ocurrir la organogénesis directa (Torpe, 1982; Pierik, 1990; Litz y Jaret, 1991).

2.11.5.3. Giberelinas

Las giberelinas son compuestos muy estables y de rápida distribución por el floema de las plantas vasculares, junto con otros compuestos producto de la fotosíntesis. Son sintetizadas en los ápices de los tallos y en hojas jóvenes y se mueven en forma basipétala, pueden transportarse hacia el ápice; hay evidencias de que también son sintetizadas en la raíz. Las funciones que se les atribuyen a las giberelinas son (Casarrubias y Delgado, 1998):

1. Inducir la producción de amilasa, misma que pone la energía a disposición de la célula.
2. Producir un crecimiento normal en plantas genéticamente enanas, ya que las giberelinas alargan los entrenudos.
3. Inducir la germinación semillas y yemas.

2.11.6. Antecedentes en calabaza y otras Cucurbitáceas

Schroeder (1968), usó tejidos de las paredes del pericarpio de un fruto fresco de *Cucurbita pepo* L. variedad 'Zucchini', la cual había sido cultivada *in vitro* bajo condiciones estériles por cerca de 30 meses, el tejido se transfirió a medio de cultivo Murashige and Skoog (1962) adicionado con bencil adenina, en el cual se observó crecimiento de callos (masa amorfa de células), que posteriormente se diferenciaron en

plántulas completas, lo cual indicó que cada célula tiene la totipotencialidad de generar un nuevo individuo.

Whener y Locy (1981) con explantes de hipocótilos y cotiledones de plántulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) germinadas *in vitro* bajo condiciones altamente asépticas y sembradas en medio de cultivo MS (Murashige and Skoog, 1962), al cual le adicionaron $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de Bencil Adenina (BA), $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de Ácido Indolacético + 3 % de sacarosa, logrando obtener plántulas completas.

Pink y Walkey (1984), emplearon la técnica de cultivo de tejidos para obtener una rápida multiplicación de clones de *Cucurbita pepo* L. Cultivar 'Cinderella', el cual mostró excelente resistencia al Virus Mosaico del Pepino (CMV). Obtuvieron meristemos de plántulas germinadas *in vitro* bajo completa desinfección y los sembraron en medio de cultivo MS (Murashige and Skoog, 1962), al cual le adicionaron $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de BA y subcultivando cada tres semanas en promedio, obtuvieron excelentes resultados.

Lee y Thomas (1985) sembraron yemas axilares de calabaza búfalo (*Cucurbita foetidissima* HBK.) en medio de cultivo MS (Murashige and Skoog, 1962), suplementado con $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de BA y $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de Ácido Naftalenacético. Lograron obtener plántulas vigorosas que posteriormente fueron trasplantadas exitosamente a invernadero en sustrato estéril.

2.11.7. Fases del proceso de multiplicación *in vitro* (Murashige, 1974; Pierik, 1990)

Fase 0: Se refiere a lo que ocurre antes de que comience el cultivo *in vitro*. Esto es, la elección y mantenimiento adecuado de la planta madre seleccionada.

Fase 1: Realizar el aislamiento estéril de los explantes sean meristemas, ápices del vástago o segmentos meristemáticos de la planta seleccionada, y establecimiento del cultivo aséptico.

Fase 2: Es la fase de multiplicación. El primer objetivo en ella es conseguir la propagación sin perder la estabilidad genética. En esta fase se requiere llevar a cabo un crecimiento y desarrollo sin contaminación por microorganismos. Los ápices perfectamente desinfectados se siembran en un medio de cultivo artificial y bajo condiciones controladas de iluminación, temperatura y humedad relativa.

Fase 3: Preparación de las plantas para salir del medio de cultivo.

Fase 4: Comprende la transferencia desde el tubo de ensayo al suelo previo paso de las plántulas por un proceso de aclimatización. Las plántulas obtenidas *in vitro* se sacan del medio de cultivo, se les quita el agar que sería un medio de contaminación por hongos, posteriormente se plantan en sustrato estéril y se pasan al invernadero; donde gradualmente se exponen a las condiciones naturales de luz, temperatura y humedad.

2.11.8. Aclimatización

Los términos de aclimatación y aclimatización se refieren a cualquier cambio en la estructura o función del organismo que le permite encajar mejor en las condiciones del ambiente. La aclimatación es un proceso regulado por la naturaleza, mientras que la aclimatización es regulada por el hombre. Estas definiciones fueron aceptadas en "The Environmental Conditioning Symposium of 1977, in Chicago III" (Brainerd y Fuchigami, 1981).

Una planta que se ha originado *in vitro*, difiere en muchos aspectos de las que se originan *in vivo*. Así, las plantas obtenidas en medio de cultivo tienen generalmente la

cutícula (capa de cera) escasamente desarrollada, debido a la alta humedad relativa (90-100%) que se tiene *in vitro*. Como consecuencia, cuando se transfiere la planta al suelo, se produce una transpiración cuticular adicional, ya que la humedad del aire en las condiciones *in vivo* es más baja. Las hojas de una planta producida *in vitro*, son frecuentemente finas, blandas y fotosintéticamente poco activas; y por consiguiente mal adaptadas a las condiciones que se encuentran *in vivo*. Las plantas procedentes de cultivo de tejidos tienen las células en empalizada, que son las que deben utilizar la luz, más pequeñas y en menor cantidad. Los estomas de las plantas *in vitro* pueden no ser suficientemente operativos; y al permanecer abiertos, cuando la planta ha pasado al suelo, puede ser el origen de un importante estrés hídrico, durante las primeras horas de aclimatación. Es importante tener en cuenta que las plantas *in vitro* han sido criadas como heterótrofas, pero deben comportarse como autótrofas *in vivo*: el azúcar debe ser producido por medio de la fotosíntesis (Pierik, 1990).

Las raíces que se han originado *in vitro* son vulnerables y no funcionan de forma adecuada *in vivo* (no tienen, o tienen pocos pelos radicales), por lo que mueren rápidamente debiendo ser sustituidas por nuevas raíces subterráneas. Un desarrollo pobre del sistema radical hace que el crecimiento *in vivo* se haga muy difícil, especialmente cuando hay una elevada transpiración (Ammirato, *et al.*, 1990; Vasil y Thorpe, 1994). A nivel comercial el proceso de aclimatación es necesario debido a que el material producido *in vitro* no está capacitado para tolerar un cambio a condiciones *in vivo*. En relación a esto, Read y Fellman (1985) proponen diseñar cámaras de crecimiento con altas humedades relativas dentro del invernadero, sugiriendo para ello que dichas cámaras cuenten con un sistema de niebla especial,

que emita un tamaño de partícula de agua que permita su adecuada dispersión en el aire; un sistema de microaspersión y luz para poder controlar intensidades lumínicas.

Recomendaciones para transplantar las plantas obtenidas *in vitro* del medio de cultivo al suelo u otro sustrato estéril:

- 1) Evitar infecciones por hongos y bacterias. El agar (con azúcar) debe ser completamente eliminado y utilizar suelo esterilizado de preferencia con vapor.
- 2) Para evitar daños a las raíces, es recomendable plantar en suelo finamente tamizado ó algún sustrato como Peat-Moss[®].
- 3) Regar las plántulas recién transplantadas con una solución de fungicida.
- 4) Si se tienen las posibilidades, se deben instalar cortinas de humedad con sistemas de niebla automáticos (Ammirato *et al.*, 1990; Pierik, 1990; Vasil y Thorpe, 1994).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

La presente investigación se realizó en dos etapas, la primera (abril-diciembre de 2003) correspondió al incremento de dos genotipos mediante micropropagación en el laboratorio de Biotecnología sección cultivo de tejidos del Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo; y la aclimatización de las plantas obtenidas *in vitro* en invernadero hasta obtener semilla. La segunda etapa (abril-agosto 2004) consistió en establecer dos lotes en el Campo Agrícola Experimental San Martín de la Universidad Autónoma Chapingo geográficamente localizado a 19° 32' de latitud norte y 98° 51' de longitud oeste del meridiano de Greenwich a una altura de 2240 msnm (García, 1988), con la semilla cosechada de las plantas obtenidas *in vitro* para llevar a cabo la caracterización de los materiales, controlando la polinización vía autofecundación para garantizar la identidad de los genotipos y obtener semilla suficiente para que en un ciclo de cultivo posterior se pueda realizar un incremento masivo de la misma.

3.2. MULTIPLICACIÓN *IN VITRO*

3.2.1. Desinfestación de la semilla

Se usaron 5 semillas de cada genotipo y se envolvieron en un trozo de tela (manta de cielo), se amarraron y después se llevaron a lavar con agua corriente limpia y jabón (detergente) en un vaso de precipitado durante 10 minutos (Figura 2). Luego se



sumergieron en una solución con 1 g·L⁻¹ de los fungicidas BENLATE®, CAPTAN® y TECTO® 60 por 25 minutos. Transcurrido este tiempo se enjuagaron y el material se

llevó a la campana de flujo laminar donde las semillas se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio (CLORALEX®) al 25 % (v/v) adicionado con 20 gotas de MYCRODIN® y 2 gotas de TWEEN 20® durante 20 minutos; finalmente se pasaron a una solución de peróxido de hidrógeno al 3 % durante 20 minutos, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se procedió a sembrar las semillas en medio de cultivo MS. En el caso de la variedad tipo 'Brujita' se procedió a eliminar la cáscara antes de sembrarla en el medio de cultivo.

3.2.2. Medio de cultivo

Se empleó el medio de cultivo básico de Murashige y Skoog (1962). Para preparar 1 litro de medio de cultivo MS se agregaron 500 ml de agua desionizada en una jarra de plástico con capacidad de tres litros, posteriormente se incorporaron 30 g de sacarosa, y se procedió a disolver el azúcar con ayuda de un agitador magnético, una vez disuelta la sacarosa se añadieron las soluciones madre en el siguiente orden: 20 ml de solución A, 5 ml de cada una de las soluciones B a la G (Cuadro 5), mas $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de 6-Bencilaminopurina (BAP), luego se aforó a 1 litro y se calibró el pH a 5.7 ± 0.1 con soluciones de HCL 1N y 0.1N; NaOH 1N y 0.1N para bajarlo o subirlo en caso de requerirse un ajuste grande y pequeño, respectivamente; una vez ajustado el pH se agregaron $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de agar-agar. Por último se calentó el medio de cultivo en un horno de microondas durante 7 minutos aproximadamente que es el tiempo que tarde en hervir la solución y disolverse el agar-agar. Posteriormente se colocó 25 ml de medio de cultivo en cada frasco gerber y después se esterilizaron en autoclave marca Felisa® durante 20 minutos a $15 \text{ lb} \cdot \text{pulg}^{-2}$ a 121°C .

Cuadro 5. Soluciones Stock (madre) y sus componentes empleados para preparar el medio de cultivo MS (Murashige and Skoog, 1962).

Reactivos	MS (mg·L ⁻¹)	Vol. A añadir (por litro)	g·100 mL	g·L ⁻¹
Solución A		20 mL		
NH ₄ NO ₃	1650		8.25	82.5
KNO ₃	1900		9.5	95.0
Solución B		5 mL		
H ₃ BO ₃	6.2		0.12	1.2
KH ₂ PO ₄	170		3.4	34.0
KI	0.83		0.017	0.17
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.25		0.005	0.05
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.025		0.0005	0.005
Solución C		5 mL		
CaCl ₂ · 2H ₂ O	440		8.8	88.0
Solución D		5 mL		
MgSO ₄ · 7H ₂ O	370		7.4	74.0
MnSO ₄ · H ₂ O	22.3		0.45	4.46
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.6		0.17	1.72
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.025		0.0005	0.005
Solución E		5 mL		
Na ₂ EDTA	37.3		0.746	7.46
FeSO ₄ · 7H ₂ O	27.8		0.6	5.56
Solución F		5 mL		
Tiamina · HCl	0.1		0.002	0.02
Ácido nicotínico	0.5		0.01	0.10
Piridoxina (vit. B6)	0.5		0.01	0.10
Glicina	2.0		0.04	0.40
Solución G		5 mL		
Myo-inositol	100		2.0	20.0

Fuente: Murillo y Gil, 2002.

3.2.3. Siembra de la semilla en medio de cultivo

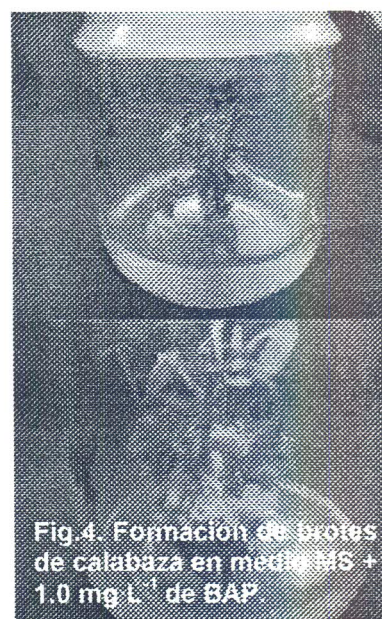
Esta actividad se realizó previo proceso de desinfección de la semilla. Se sembraron dos semillas por frasco en medio de cultivo MS dentro de la campana de flujo laminar; posteriormente se procedió a colocar una banda de Agapack® o Parafilm® alrededor del cuello del frasco, para cubrir el vacío entre el frasco y su tapa con la finalidad de evitar contaminación del material sembrado. Luego, los frascos se



llevaron a un cuarto de incubación a una temperatura promedio de 26 ± 2 °C, con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 de oscuridad (Figura 3).

3.2.4. Fase de multiplicación

Una vez que la semilla germinó y expuso la yema se procedió a eliminar las hojas cotiledonares y se cortó la yema apical con una longitud de 2.0 cm la cual se transfirió a medio de cultivo MS adicionado con $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ de 6-Bencilaminopurina (BAP), responsable de la diferenciación de órganos (organogénesis directa) (Figura 4). Esta actividad se realizó cada 4 semanas en promedio, el cual corresponde al tiempo en que las plantas han agotado las reservas del medio de cultivo. Pasado este tiempo, se volvió a repetir esta actividad hasta obtener la cantidad de plantas deseadas.



Pueden realizarse tantos subcultivos como sean necesarios, previa etapa de multiplicación para inducir la formación de nuevos brotes hasta tener el número

deseado de plantas. Así como para esperar la época ideal del año (sin riesgos de heladas) para su aclimatización en invernadero y su producción en campo.

3.2.5. Fase de enraizamiento y elongación

Una vez que las plantas estuvieron completamente formadas se empleó el medio de cultivo MS sin la hormona BAP, para promover el enraizamiento y elongación de los brotes y obtener las plantas completas *in vitro*.

3.3. Fase de aclimatización de las plántulas obtenidas *in vitro*

3.3.1. Preadaptación

Una vez que las plántulas obtenidas *in vitro* habían desarrollado raíces y se habían elongado, se trasladaron a un invernadero del Campo Agrícola Experimental de Chapingo, procurando realizar esta actividad por la mañana para no dañarlas por el calor. Ya dentro del invernadero, a los frascos se les eliminó la cinta de Agapack® y se les aflojó la tapa ligeramente, evitando que los rayos del sol llegaran directamente a las plántulas, pues la cutícula de las hojas es muy delgada y no contiene ceras y se pueden dañar por exceso de transpiración por lo cual se colocaron bajo malla sombra durante dos días, con la finalidad de que las plantas comenzaran a adaptarse a condiciones diferentes a las existentes en el laboratorio donde estaban a temperatura y fotoperiodo estables.

3.3.2. Sustrato

Se utilizó PEAT MOSS® esterilizado durante una hora a 15 lb·pulg⁻² a 121 °C, para evitar contaminación al momento del transplante. No se recomienda utilizar productos

de composta o vermicomposta ya que estos tienen un pH demasiado ácido y provoca quemadura y muerte de plántulas, a no ser de que sean mezclados con suelo o PEAT-MOSS® en proporción 1:3, respectivamente y se les incremente el pH a 6.0 adicionando agua con cal.

3.3.3. Desinfección de charolas

Se utilizaron charolas de plástico de 45 x 35 x 11 cm como contenedores, las cuales se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (CLORALEX®) al 10 % durante un día.

3.3.4. Transplante de las plántulas del medio de cultivo a las charolas

Antes de transplantar las plántulas obtenidas *in vitro* a las charolas, se procedió a eliminar completamente el medio de cultivo (agar) de las raíces, para lo cual se colocaron las plántulas en un bote con agua limpia de pozo profundo y se les eliminó el agar de las raíces manualmente procurando no dañar a las plántulas al realizar esta actividad. Posteriormente, las plántulas se sumergieron durante cinco minutos en otro bote que contenía una solución preparada con fungicida CAPTAN® 50 PH, a razón de 1 g·L⁻¹ de agua, con la finalidad de prevenir contaminaciones fungosas en las plantas.

3.3.5. Aclimatización

A cada charola se le depositó un promedio de 800 g de PEAT MOSS® esterilizado, el cual se humedeció con agua limpia de pozo profundo para después trasplantar 20 plántulas por charola, tratando de que todas quedaran a la misma distancia. Una vez



Fig 5. Aclimatización de plántulas obtenidas *in vitro*

realizado el trasplante en las charolas se procedió a dar un riego ligero con solución nutritiva empleando la fórmula de Steiner (1984) al 100 %, después la charola se introdujo al interior de una bolsa grande de plástico transparente y se le cerró la boca simulando un microinvernadero (Figura 5). Previo a esto, a las charolas se les colocó un arco de alambre galvanizado en cada extremo angosto, anclados en las esquinas internas de la charola, los cuáles se unieron con dos alambres (uno a cada lado) a $\frac{3}{4}$ de la altura de los arcos para darle forma. Es importante que el plástico en la parte de arriba del microinvernadero sea cóncava para que el agua al condensarse en esta parte precipite dentro de la charola y se recicle; y de esta manera se mantenga una alta humedad relativa. A los 8 días aproximadamente, conforme las plantas se fueron adaptando, se les hicieron dos agujeros de 2.5 cm de radio en los lados del plástico, y cada tres días otros dos hasta destapar completamente la charola.

3.3.6. Transplante a invernadero

A los 20 días en promedio las plantas obtenidas *in vitro* se encontraban aclimatizadas y listas para ser transplantadas, en este caso se transplantaron en invernadero porque en campo abierto se corría el riesgo de heladas, debido a que las plantas se transplantaron el día 15 de agosto de 2003. Las plantas se sacaban de la charola en cuadritos de 10 x 10 cm de cepellón con la finalidad de que las raíces no se maltrataran; posteriormente se trasplantaban en una cepa de 20 x 20 cm en cama de arena de tezontle y se les aplicaba un riego ligero.

3.3.7. Fertilización

Esta se proporcionó mediante el riego por goteo con la solución universal de Steiner al 100 %, para incrementar el vigor de las plantas y minimizar el estrés debido al cambio de ambiente de laboratorio a invernadero.

3.3.8. Polinización controlada

Una vez que las plantas transplantadas en el invernadero llegaron a la fase de floración, se procedió a la autofecundación manual controlada, con la finalidad de fijar genéticamente las características del genotipo y evitar que éstas se perdieran al cruzarse con plantas de otros genotipos que también se encontraban establecidos dentro del invernadero, lo anterior a través de polinizadores (abejas). Aunque el material de interés se encontraba en el invernadero, en ocasiones presentan aberturas que facilitan el acceso de polinizadores.

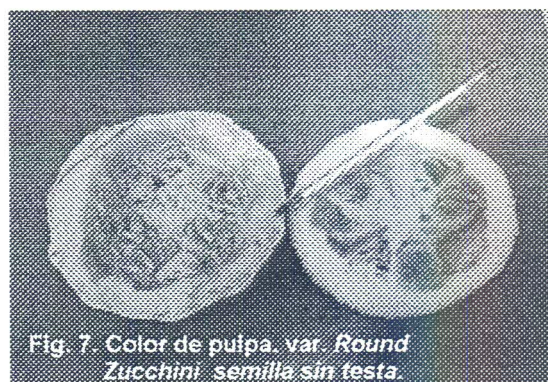
La polinización consistió en cubrir las flores masculinas y femeninas próximas a abrir (un día antes) con bolsas de papel glacyne. A la mañana siguiente, antes de las 11:00 A.M., debido a que después el polen se deshidrata fácilmente con el sol y pierde viabilidad, se procedía a realizar la polinización, desprendiendo completamente la flor masculina y eliminándole la corola para aplicarlo; a la flor femenina también se le eliminaba la corola y posteriormente se depositaba el polen friccionando las anteras de la flor masculina en el estigma de la flor femenina, la cual se cubría nuevamente con la bolsa de papel glacyne y se colocaba una etiqueta de colgar con la fecha y tipo de polinización. Esta actividad se realizó durante los meses de septiembre-octubre de 2003.

3.3.9. Cosecha de frutos en invernadero

Esta actividad se realizó durante el mes de diciembre de 2003, una vez que los frutos se encontraban completamente maduros (Figura 6). Además se dejaron los frutos cortados en un contenedor en el invernadero unos 15 días más para que la semilla siguiera llenando.



Antes de extraer la semilla de los frutos, se hizo una clasificación de los mismos, tomando como criterios de clasificación: primero la susceptibilidad a hongos, ya que aunque se transplantó a invernadero en camas de tezontle, éste lleva aproximadamente cinco años sin esterilizarse y ha estado sometido a varios ciclos de cultivo con diferentes especies de calabaza razón por la cual se murieron algunas plantas por hongos en la raíz; posteriormente los frutos cosechados se clasificaron en función de su forma (liso, costillado, etc), y finalmente al partir los frutos se clasificaron tomando en cuenta la coloración de la pulpa (Figura 7) y llenado de la semilla, para extraer la semilla de cada grupo por separado.



3.4. FASE DE CAMPO

Se realizó en el lote No. 12 del Campo Agrícola Experimental San Martín de la Universidad Autónoma Chapingo.

3.4.1. Clima

Se tomó como referencia el clima de la Universidad Autónoma Chapingo, esta se localiza a los 19° 29' Latitud Norte y 98° 53' Longitud Oeste, a una altitud de 2240 msnm, presentando un clima Cb(W₀)(w)(i')g, cuya descripción es la siguiente (García, 1988).

C(W₀): Corresponde al más seco de los templados subhúmedos con lluvias en verano, (por lo menos diez veces mayor cantidad de lluvia en el mes más húmedo de la mitad caliente del año que en el mes más seco).

(b): Con verano fresco y largo, temperatura media anual entre 16.5 y 22 °C.

(w): Con un porcentaje de lluvia invernal menor de cinco de la total anual.

(i'): Poca oscilación térmica, entre 5 y 7 °C.

g: Marcha de la temperatura tipo ganges, (el mes más caliente ocurre antes del solsticio de verano).

3.4.2. Precipitación

La precipitación se concentra en los meses de junio a septiembre, con 451 mm que representa el 71 % del total anual; la cual es de 636.5 mm (García, 1988).

3.4.3. Temperatura

La temperatura medial anual es de 15.2 °C, el mes con temperatura más alta es mayo con 17.9 °C, y los meses con menos temperatura son los meses de Diciembre y Enero, con 12.0 y 11.8 °C, respectivamente (García, 1988).

3.4.4. Suelo

El suelo de San Martín (Lote SM-12) es franco arcillo limoso con un pH de 7.03, un contenido de materia orgánica de 2.03 %, con 0.115 % de nitrógeno total. El contenido de fósforo (Olsen) es de 13.54 mg kg⁻¹. La conductividad eléctrica de 0.482 ds m⁻¹. La humedad del suelo a capacidad de campo es de 22.26 % y un punto de marchitez permanente a 11.79 % (Ramos, 2000).

3.4.5. Material vegetal utilizado

Se usaron dos variedades, una arbustiva de tipo '*Round Zucchini*' de semilla sin testa, la cual se obtuvo mediante selección y autofecundación de segregantes de la cruce *C. pepo* L. semilla sin testa (obtenida del Banco de Germoplasma del Campo Agrícola Experimental del INIFAP en Celaya, Gto.) por '*Round Zucchini*'. Además, de otra variedad arbustiva tipo 'brujita', llamada así por el color naranja de los frutos, como los que tienen una gran demanda en día de muertos, misma que se satisface con importaciones de frutos.

3.4.6. Siembra de semilla obtenida en invernadero

De la semilla que se obtuvo en invernadero se sembraron 1200 semillas de la variedad *Round Zucchini* de semilla sin testa en charolas de poliestireno de 200 cavidades y de la variedad tipo 'Brujita' se sembraron 1000 semillas aproximadamente. La var. sin testa se sembró el 3 de Abril de 2003 y la var. tipo brujita el día 6 de abril, las cuáles comenzaron a germinar a los 6 y 7 días, respectivamente; ambos materiales se transplantaron en el Campo Agrícola Experimental San Martín de la Universidad Autónoma Chapingo el 21 de Abril de 2004. Cada variedad se transplantó en una

superficie de 405 m², a una distancia de 0.90 y 0.35 m, entre surcos e hileras respectivamente. Extrapolando a una hectárea el muestreo indicó que correspondió a una densidad de población de 29, 629 pl·ha⁻¹, para la variedad '*Round Zucchini*' productora de semilla sin testa y 24,691 pl·ha⁻¹ para la variedad 'brujita'.

3.4.7. Labores culturales

Se realizó un deshierbe manual para evitar que las plantas crecieran entre la maleza y éstas interfirieran en labores posteriores como la polinización y cosecha, además de prevenir la competencia por factores ambientales. Se realizó una aplicación de cal a la base del cuello de la planta debido a una alta incidencia de hongos del suelo, con la finalidad de cambiar el pH de esa zona de la planta y romper el ciclo reproductivo de los hongos.

3.4.8. Plagas y enfermedades

Se tuvo una alta incidencia de plantas muertas por problemas de hongos del suelo (complejo de damping-off). En el material brujita sobrevivieron 478 plantas de un total de 1000 plantas; de éstas, 468 se encontraban sanas y 10 presentaron síntomas de virosis; y se murieron 522; lo que en porcentaje dió 46.8, 1.00 y 60.17 % de plantas sanas, con síntomas de virus y muertas respectivamente. En el caso de la var. de semilla sin testa tipo '*Round Zucchini*', la incidencia de hongos fue mayor, sobrevivieron 208 plantas de un total de 1200, 6 presentaron problemas de virosis y se murieron 986 plantas; lo que en porcentaje arroja 17.33, 0.50 y 82.17 % de plantas sanas, con síntomas de virosis y muertas, respectivamente.

Cabe hacer mención que en este lote de evaluación (Campo san Martín), también se establecieron otros ocho genotipos diferentes para evaluación provenientes del programa de mejoramiento genético de calabazas que dirige el Dr. Clemente Villanueva Verduzco; de los cuales dos genotipos prácticamente se murieron todas las plantas por el ataque del complejo de hongos del suelo (Damping-Off).

3.4.9. Cosecha

La var. tipo 'brujita' se cosechó cuando las plantas ya habían alcanzado la madurez fisiológica (110 dds) y se encontraban secas, esta actividad se realizó el 22 de Julio de 2004, no obstante se dejaron 10 días secando en la azotea de la bodega del Campo Experimental, para que las semillas siguieran llenando.

La variedad de semilla sin testa tipo '*Round Zucchini*' se cosechó el 5 de Agosto de 2004, debido a que su ciclo es mas largo que la var. tipo 'brujita' y también se dejaron postmadurando otros ocho días, con el mismo propósito.

3.5. Caracteres evaluados

3.5.1. Días a antesis

Como días a antesis se consideró la fecha en que el 50 % de las plantas presentó al menos una flor masculina abierta.

3.5.2. Número de hojas maduras

Se contó el número de hojas vegetativamente maduras que presentaban la forma y tamaño típico de la variedad.

3.5.3. Longitud de la planta (cm)

Con la ayuda de una cinta métrica (de sastre) se determinó la longitud del tallo principal, medido desde la base del cuello de la planta hasta el ápice del mismo.

3.5.4. Longitud de entrenudos (cm)

Esta característica se evaluó al final del ciclo y consistió en medir, con una cinta métrica, la longitud que había entre el nudo 4 y 6, contados a partir del cuello de la planta y dividiendo entre tres.

3.5.5. Número de ramas primarias

Una rama primaria es una rama que brota del tallo principal y que presenta una longitud mínima de 10 cm. Se hizo sólo un conteo al final del ciclo de cada planta.

3.5.6. Largo y ancho de pedúnculo (cm)

Con una cinta métrica se midió la longitud desde la base del pedúnculo hasta el punto de inserción con la guía, y el ancho del pedúnculo se determinó midiendo la parte media del pedúnculo de cada fruto con un vernier.

3.5.7. Peso de fruto y rendimiento por hectárea (kg)

Al momento de la cosecha, se pesaron los frutos de cada planta en una báscula digital. Para obtener el rendimiento por hectárea, se extrapolo multiplicando el peso promedio de fruto obtenido por planta, por la densidad de población por ha.

3.5.8. Altura y ancho de fruto (cm)

Para determinar la altura de cada fruto cosechado de las plantas evaluadas, se midió desde el extremo peduncular del fruto hasta la base pistilar del mismo, auxiliados con una regla. Para determinar el ancho del fruto se cortó este por la mitad, midiendo con una regla su diámetro ecuatorial.

3.5.9. Forma del fruto

Esta variable se registró con base en los valores de la siguiente escala: 1: disco, 2: elíptico transversal, 3: elíptico transversal ancho, 4: globular, 5: tocado, 6: elíptico ancho, 7: oval, 8: elíptico.

3.5.10. Textura externa del fruto

Se midió la textura externa del fruto según los valores de la siguiente escala: 1: suave, 2: granulosa, 3: finamente arrugada, 4: superficialmente arrugada, 5: reticulado, 6: con verrugas, 7: con espinas, 8: otro.

3.5.11. Dureza de la cáscara del fruto

La determinación de esta variable se realizó probando la resistencia de la cáscara a la presión con la uña y se hizo una clasificación dándole un valor escalar, donde 3: suave (fácilmente marcada con la uña del dedo), 5: intermedia (difícil de marcar con la uña del dedo), 7: dura (imposible de marcar con la uña del dedo).

3.5.12. Largo y ancho de semilla (cm)

Se colocaron cinco semillas a lo largo y a lo ancho, las cuales se midieron con una regla milimétrica y el resultado se dividió entre cinco.

3.5.13. Número y peso de semillas por fruto

Se extrajo la semilla del fruto y se pesó con una báscula digital, posteriormente se contó el número de semillas por fruto de una muestra aleatoria de 10 frutos.

3.5.14. Rendimiento de semilla por hectárea ($t \cdot ha^{-1}$)

Para obtener el rendimiento de semilla por hectárea se multiplicó el peso promedio de semilla por fruto por la densidad de población para estimar el rendimiento por hectárea.

3.5.15. Grosor de pulpa (cm)

Se partió el fruto por la mitad y se midió con regla milimétrica el grosor de la pulpa desde la placenta hasta donde inicia la cáscara.

3.5.16. Sabor de pulpa

El sabor se determinó degustando una porción de la pulpa en crudo, bajo la clasificación de la siguiente escala 1: muy dulce, 2: dulce, 3: insípido.

3.5.17. Color de pulpa

Se observó y registró el color que presentaba la pulpa de cada fruto, de acuerdo con la siguiente escala 1: anaranjado, 2: anaranjado claro casi blanco, 3: anaranjado verdoso.

3.5.18. Separación de la semilla y placenta de la pulpa

Una vez partido el fruto y al extraer las semillas, se registró la dificultad que representaba sacarlas manualmente del fruto, debido a la presencia de fibras en la placenta que ocasionan un mayor tiempo para extraerlas y limpiarlas, según la siguiente escala 1: fácil (semilla completamente limpia), 2: intermedio (semilla con un poco de placenta), 3: difícil (la semilla se desprende con la placenta).

3.6. Unidades Calor Acumuladas

Al final del ciclo se calcularon las Unidades Calor Acumuladas (UCA) mediante el método residual propuesto por Ortiz (1984), se computan con la fórmula:

$$CTmr = \sum_{i=1}^n (ti - c)$$

Donde:

CTmr = Unidades Calor Acumuladas

ti = Temperatura media anual

i = Día del ciclo

c = Cero biológico del cultivo o temperatura base.

En este caso $c=10^{\circ}\text{C}$, pues es la temperatura a la cual la calabaza detiene su crecimiento.

3.7. Diseño de tratamientos y experimental

Los datos de multiplicación *in vitro* se analizaron como corresponde a los generados en un experimento factorial 2 x 5 (dos variedades y cinco fechas de subcultivo), con cinco repeticiones. Las repeticiones fueron cada una de las semillas que se sembraron

originalmente en el medio básico de cultivo MS. Al germinar la semilla y tener expuesta la yema, ésta se cortó y se transfirió al medio de cultivo MS adicionado con $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de BAP. Los brotes generados por cada yema (repetición) se volvían a establecer en el medio MS + $1.0 \text{ mg} \cdot \text{litro}^{-1}$ de BAP, de esta manera se siguió la tasa de multiplicación de cada variedad por fecha de subcultivo en un diseño experimental completamente al azar.

Los datos de aclimatización se analizaron tomando como tratamientos a las variedades y como repeticiones a las charolas donde se transplantaron las plántulas provenientes de *in vitro*.

Los datos de caracterización en campo se analizaron obteniendo estadísticos descriptivos como la media, varianza, desviación estándar y el coeficiente de variación (%) de una muestra de 120 frutos. También se calcularon correlaciones fenotípicas entre caracteres para saber como se relaciona cada uno con cada uno de los restantes.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Multiplicación *in vitro* de los dos genotipos

4.1.1. Número de brotes por subcultivo

Existieron diferencias estadísticas altamente significativas al 1 % de probabilidad para el número de brotes entre las fuentes de variación variedades (V) y fechas de subcultivo (F), excepto para la interacción variedades por fecha de subcultivo. El coeficiente de variación fue de 8.64 % lo que indica una consistencia de los datos en el modelo estadístico empleado en el presente análisis (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis de varianza del número de brotes por fecha de subcultivo *in vitro* de dos variedades de calabaza (*Cucurbita pepo* L.). Chapingo, México. 2004.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FC	Pr > F
V	1	6.6248	6.6248	95.87	0.0001 **
F	4	4.1040	1.0260	14.85	0.0001 **
V*F	4	0.4472	0.1118	1.62	0.1886 ns
CV (%)	8.64				
R ²	0.80				

F.V.: Fuentes de variación; **V:** Variedades; **F:** Fechas de subcultivo; **V*F:** interacción de variedades por fechas de subcultivo; **C.V.:** Coeficiente de variación (%); **R²:** Coeficiente de determinación; **G.L.:** Grados de libertad; **S.C.:** Suma de cuadrados; **C.M.:** Cuadrados medios; **FC:** F calculada de Snedecor; ******, *****: significancia estadística al 1 y 5 %, respectivamente; **ns** no significativo..

En la prueba múltiple de comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$), para la variable variedades se encontró que la variedad *Round Zucchini* de semilla sin testa genera 3.4 brotes por explante con yema apical, mientras que la variedad 'Brujita' 2.7, en el medio de cultivo básico de Murashige and Skoog (1962), adicionado con 1.0 mg·L⁻¹ de 6-Bencilaminopurina (BAP) (Cuadro 7).

La diferencia en número de brotes emitidos en los dos materiales de calabaza se asocia a diferencias en la capacidad regenerativa de los genotipos. En relación al efecto del genotipo sobre la respuesta al cultivo *in vitro*, Santalla *et al.* (1998) utilizaron 10 líneas mejoradas de *Phaseolus vulgaris* y 17 líneas de *P. coccineus* para evaluar la capacidad organogénica, usando cotiledones como explantes; reportaron que la respuesta al cultivo *in vitro* y la habilidad de regeneración varía significativamente entre especies y genotipos, y que *P. coccineus* produce mayor cantidad de brotes por explante, con una alta eficiencia de enraizamiento, que *P. vulgaris*, evidenciando que los factores genéticos son importantes en la respuesta al cultivo de tejidos *in vitro*. Birhman *et al.* (1994) estudiaron la regeneración de brotes *in vitro* a partir de explantes de hoja, usando las generaciones parentales F₁ y F₂ de dos líneas de *Solanum chacoense*, estableciendo que los estimadores de heredabilidad en sentido amplio son altos para la frecuencia de explantes con respuesta organogénica y para el número de brotes por explante, concluyendo que en el control genético de esta respuesta están involucrados tres genes, de manera que alelos recesivos homocigóticos, en dos de los tres loci, son necesarios para una alta respuesta; mientras que, alelos dominantes en dos de los tres loci, resultan en respuesta intermedia y alelos dominantes en los tres loci, no producen respuesta.

Cuadro 7. Prueba de comparación de medias tukey ($\alpha=0.05$) del número de brotes por variedad en medio de cultivo MS + 1.0 mg·L⁻¹ de BAP. Chapingo, México. 2004.

Variedad	Media
'Round Zucchini' semilla sin testa	3.2 a
'Brujita'	2.7 b
DMS	0.1503

DMS: Diferencia mínima significativa de Tukey ($\alpha=0.05$).

En la prueba de comparación múltiple de medias por Tukey ($\alpha=0.05$) se obtuvo que la primera y segunda fecha de subcultivo generaron el mayor número de brotes por explante, observándose una tendencia a disminuir el número de brotes generados conforme aumenta el número de subcultivos (Cuadro 8), así, en los últimos dos se tuvo menor cantidad de brotes emitidos por yema; 2.73 y 2.7, respectivamente. Lo anterior, muy probablemente está relacionado con la disminución en la capacidad regenerativa del tejido, al ser sometido a varios ciclos de subcultivo. Al respecto Liz y Jarret (1991) indican que el potencial organogénico de un explante es inversamente proporcional a su edad fisiológica. También los tejidos embrionarios y jóvenes generalmente tienen un alto grado de competencia morfogénica, conforme la planta envejece, la capacidad regenerativa tiende a disminuir (Conger, 1981; Pierik, 1990).

Cuadro 8. Prueba de comparación de medias tukey ($\alpha=0.05$) del número de brotes por fecha de subcultivo en medio de cultivo MS + 1.0 mg·L⁻¹ de BAP.

Número de subcultivos	Media
1	3.43 a
2	3.25 ab
3	3.09 b
4	2.73 c
5	2.70 c
DMS	0.3358

DMS: diferencia mínima significativa de Tukey ($\alpha=0.05$).

El número de brotes generados de la variedad *Round Zucchini* de semilla sin testa fue de 3.8, 3.5, 3.1, 3.0, y 2.5 plantas por explante durante el 1er, 2do, 3er, 4to y 5to subcultivo, respectivamente. El promedio de multiplicación fue 3.2 brotes por explante por periodos de 22 días $\pm$ 2 días aproximadamente. Por su parte la variedad 'Brujita' promedió una tasa de multiplicación de 3.2, 2.6, 3.1, 2.5, y 2.3 brotes por explante en medio básico de cultivo de Murashige and Skoog (1962) + 1.0 mg·L⁻¹ de 6-Bencilaminopurina (Figura 8). Con esa información se puede proyectar la cantidad de plantas a obtener en un determinado tiempo. Los resultados anteriores difieren de los encontrados por Bautista (2004), quién reportó tasas de multiplicación por subcultivo de 2.2, 3.4, 3.7 y 4.4 para el 1er, 2do, 3er y 4to subcultivo donde se observa una tendencia a incrementarse el número de brotes por explante en cada subcultivo. Esto puede deberse a que el autor mencionado trabajó como fuente de explante a las puntas de las guías de calabaza crecidas bajo condiciones de campo, por lo que si no se le da un tratamiento adecuado de desinfestación a la fuente de explante (punta de las guías) se corre el riesgo de perder mucho material en los primeros subcultivos, por lo que la tasa de multiplicación tiende a incrementarse conforme se controla el problema de contaminación inicial; mientras que en este trabajo se partió de semillas germinadas *in vitro* con lo que se garantizó que el explante (yema) estuviese libre de contaminación durante el inicio de los subcultivos.

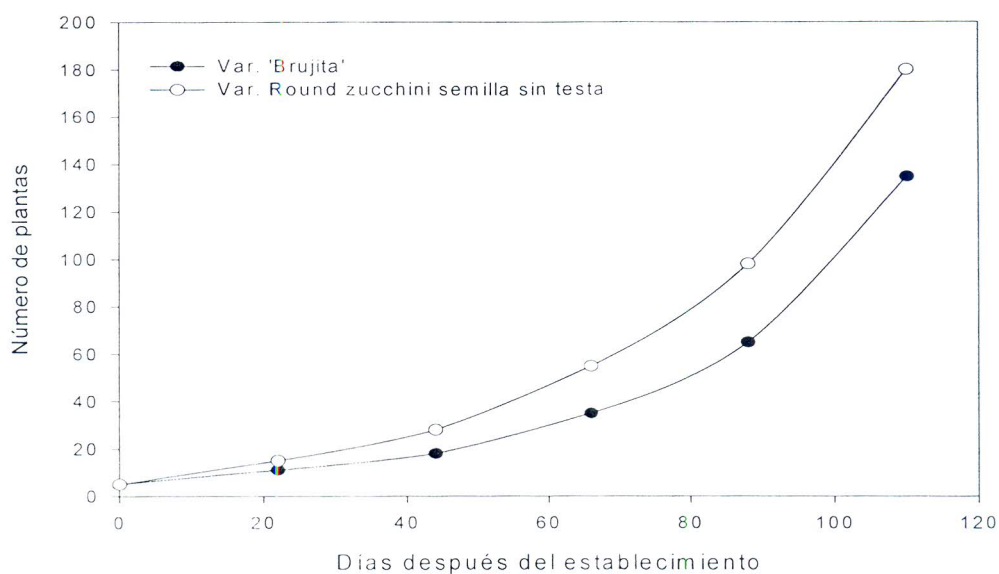


Figura 8. Tasa de multiplicación de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) *in vitro*

4.2. Aclimatización de plántulas provenientes de *in vitro* en charolas de plástico

Existen diferencias estadísticas significativas al 5 % y altamente significativas al 1 % de probabilidad, para las variables plántulas aclimatizadas (PLA), número de hojas (NUH) y altura de planta (ALP), respectivamente, de plántulas de dos variedades provenientes de *in vitro* que sobrevivieron durante el proceso de aclimatización (Cuadro 9).

Cuadro 9. Cuadrados medios de plantas aclimatizadas, altura de planta y número de hojas de de dos variedades de calabaza provenientes de *in vitro*.

F.V.	G.L.	PLA	ALP	NUH
VARIEDADES	1	141.1667*	23.7752**	3.0133*
ERROR	12			
TOTAL	13			
CV (%)		22.99	10.69	10.73
R ²		0.42	0.82	0.55

F.V.: Fuentes de variación; **C.V.:** Coeficiente de variación (%); **R²:** Coeficiente de determinación; **G.L.:** Grados de libertad; **PLA:** Plantas aclimatizadas; **ALP:** Altura de planta; **NUH:** Número de hojas; *, **: Significancia estadística al 5 y 1 %, respectivamente.

En la prueba múltiple de comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$), para variedades se encontró que la variedad 'Brujita' presentó el mayor porcentaje de plántulas que sobrevivieron durante el proceso de aclimatización con un promedio de 21.16 plántulas por charola, lo que en porcentaje equivale a 90.07 % de sobrevivencia de plántulas (Cuadro 10). Por su parte, en la variedad *Round Zucchini* de semilla sin testa sobrevivieron 14.75 plántulas por charola lo cual equivale a 76.62 % de sobrevivencia durante el proceso de aclimatización en charolas de plástico cubiertas con plástico transparente simulando un microinvernadero. La diferencia en el porcentaje de sobrevivencia de plántulas de los dos genotipos provenientes de *in vitro* se debe muy probablemente a diferencias desde un inicio al porte o vigor de las plántulas, de esta manera las plántulas de la variedad brujita presentaban buen porte; es decir, tallo más grueso y mayor consistencia del mismo; por su parte, las plántulas de la variedad *Round Zucchini* de semilla sin testa son más grandes, con tallos más largos pero de menor consistencia las cuales se pudieron haber dañado o sufrido maltrato durante el manejo previo al transplante a las charolas para su aclimatización.

Cuadro 10. Comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de sobrevivencia de plántulas de dos variedades de calabaza provenientes de *in vitro*.

Variedad	Media de sobrevivencia por charola	Sobrevivencia (%)
'Brujita'	21.16 a	90.07
<i>Round Zucchini</i>	14.75 b	76.62
DMS	4.7353	

DMS: Diferencia mínima significativa de Tukey ($\alpha=0.05$).

En la prueba de comparación múltiple de medias por Tukey ($\alpha=0.05$) se obtuvo que la variable altura de planta al final del proceso de aclimatización (22 días después del transplante en las charolas) fue mayor en la variedad *Round Zucchini* productora de semilla sin testa, la cual promedió 7.27 cm, mientras que la variedad 'Brujita' mostró 5.10 cm (Cuadro 11). La diferencia en altura de planta entre las dos variedades al final del proceso de aclimatización se asocia a que la variedad *Round Zucchini* es de semiguía, mientras que la variedad 'Brujita' es arbustiva. Por otro lado, otra situación que pudo influir en la variable altura de planta es el sombreado que se les dio a las charolas por medio de malla sombra colocada en la parte superior de las mismas, situación que propició que las plantas al encontrarse plenamente aclimatizadas (cuando se quitó completamente el plástico que cubría a la charola) empezaran a competir entre sí por factores ambientales entre ellos la luz, provocando etiolación de las plantas.

Cuadro 11. Comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) de altura de planta de dos variedades de calabaza al final del proceso de aclimatización.

Variedad	Altura de planta (cm)
<i>Round Zucchini</i>	7.27 a
'Brujita'	5.10 b
DMS	0.855

DMS: Diferencia mínima significativa de Tukey ($\alpha=0.05$).

En la prueba múltiple de comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$), para la variable número de hojas, la variedad *Round Zucchini* mostró 4.63 hojas, mientras que la variedad 'Brujita' 3.70 al final del proceso de aclimatización (Cuadro 12). Lo anterior es

consistente con la variable altura de planta donde también fue superior la variedad Round Zucchini con respecto a la variedad 'Brujita'.

Cuadro 12. Comparación de medias (Tukey, $\alpha=0.05$) del número de hojas de dos variedades de calabaza al final del proceso de aclimatización.

Variedad	Número de hojas
<i>Round Zucchini</i>	4.63 a
'Brujita'	3.70 b
DMS	0.5348

DMS: Diferencia mínima significativa de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.3. Aclimatización en invernadero

Las plantas que sobrevivieron al proceso de aclimatización en charolas de plástico, cubiertas con plástico transparente simulando un microinvernadero, se trasplantaron en cama de arena de tezontle como sustrato. De un total de 126 plantas de la variedad 'Brujita' sobrevivieron 69 plantas (55 %), y de la variedad Round Zucchini de semilla sin testa de 118 plantas sobrevivieron 57 (48 %) ambas por problemas fungosos de la raíz (complejo de Damping-off), debido a que en el mismo sustrato se ha venido transplantando por varios ciclos de cultivo (cinco años aproximadamente) diferentes especies de calabazas, por lo que el sustrato se encuentra contaminado.

4. 4. Resumen de los resultados del incremento *in vitro*

1. La tasa de multiplicación promedio de la variedad *Round zucchini* semilla sin testa es de 3.2 brotes por subcultivo cada 22 ± 2 días, empleando el medio básico de cultivo MS adicionado con $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de 6-Bencilaminopurina (BAP), mientras que la tasa de multiplicación de la variedad 'Brujita' fue de 2.7 brotes.
2. Durante el proceso de aclimatización se tuvo una eficiencia del 90 % de plántulas que sobrevivieron en la variedad 'Brujita', y de 76.62 % en la variedad *Round Zucchini* productora de semilla sin testa en un lapso de 20 días. Al trasplantarlas en tezontle como sustrato bajo invernadero se tuvo una eficiencia del 55 % de plantas que sobrevivieron de la variedad 'Brujita' y 48 % de la variedad *Round Zucchini*.
3. Partiendo originalmente de cinco semillas de ambas variedades fue posible obtener 118 y 126 plantas de la variedad *Round Zucchini* semilla sin testa y 'Brujita', respectivamente; en un lapso de cinco meses, situación que no se hubiese podido lograr sembrando estas mismas semillas directamente en campo. Demostrando el apoyo que proporciona la técnica de micropropagación *in vitro* cuando se dispone de poca semilla básica al incremento de la misma.

4.5. Caracterización de la variedad 'Brujita'

En este apartado se presenta la descripción y caracterización de rasgos de las principales características morfológicas y agronómicas de la variedad 'Brujita' de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) evaluada bajo condiciones de riego en el Campo Agrícola Experimental San Martín (SM-12) de la Universidad Autónoma Chapingo durante el ciclo agrícola Primavera-Verano 2004.

4.5.1. Estado de plántula

4.5.1.1. Forma y características de los cotiledones

Los cotiledones tienen forma elíptica, son de color verde intenso, la sección transversal de los mismos es de forma recta, la nervadura central es prominente la cual se prolonga hasta el ápice del cotiledón y dos nervaduras laterales se observan hasta un tercio de los cotiledones (Figura 9).



4.5.2.1. Longitud del tallo y número de hojas maduras

El tallo presentó una longitud promedio a los 42 días después de la siembra (dds) de 5.09 cm. Entre los 42 y 63 dds el tallo registró un crecimiento lento, con un incremento acumulado de 16.63 cm en ese lapso. La tasa mas rápida de crecimiento del tallo se dio entre los 63 y 90 dds con 35.2 cm. El crecimiento total de la guía fue de 65.33 ± 23.86 cm durante el ciclo de cultivo.

Por su parte, el número de hojas vegetativamente maduras durante el crecimiento del cultivo fue de la siguiente manera: a los 42 dds 5.98; entre los 42 y 63 dds se incrementaron 7.22 hojas adicionales; y de los 63 a los 90 dds (878.1 UCA) 16.27 hojas, de acuerdo con estos resultados la tendencia en el incremento de hojas maduras fue similar al crecimiento del tallo. Lo anterior es consistente con los resultados de Hall (1945) quién reportó que el área total de la hoja se incrementa exponencialmente durante la estación de crecimiento hasta que la maduración del fruto y el crecimiento vegetativo se suspenden.

4.5.2.2. Longitud de entrenudos, número de nudos y altura al 6to nudo

Esta variedad presenta una longitud de entrenudos promedio de 3.13 ± 0.88 cm y un coeficiente de variación de 22.2 % (Cuadro 13) aunque se observó que la longitud de los entrenudos se incrementó hacia la parte terminal de la guía, esto probablemente generado por la estimulación de la guía a seguir creciendo, cuando se eliminaban frutos de las flores que no se autofecundaron oportunamente.

El número de nudos totales promedio en la var. 'Brujita' evaluada bajo las condiciones de Chapingo, Estado de México fue de 20.88 ± 3.66 y un coeficiente de variación de 17.52 % (Cuadro 13). La altura media al sexto nudo de la guía principal al final de la estación de crecimiento fue de 15.65 ± 7.12 cm, con un coeficiente de variación de 27.01 % (Cuadro 13).

4.5.2.3. Número de flores femeninas y masculinas

La primera flor femenina apareció en el sexto nudo de la guía principal. Por su parte, la primera flor masculina apareció en el primer nudo de la guía principal, lo cual es una característica distintiva de esta variedad.

El número de flores femeninas promedio es de 7.93 ± 1.05 y un coeficiente de variación de 21.41 %. El número promedio de flores masculinas fue de 18.35 ± 6.27 de las cuáles abrieron 10.67 (aproximadamente el 58 %) y 7.68 fueron pequeñas que no abrieron (Cuadro 13). Si se cosechara el 50 % de las flores masculinas para su comercialización como hortaliza, las cuáles son muy apreciadas en la parte central del país, se tiene un ingreso extra. Así, extrapolando a una hectárea, se tendrían 316,141 flores masculinas, de las cuáles el 50% (158,070 flores masculinas) se podrían ofertar al mercado. Así, se

pueden formar 4,518 manojos de 35 flores cada una, a un precio de venta de al productor \$2.00 (julio del 2004), por lo que se tendría un ingreso neto por concepto de venta de flores masculinas de calabaza var. 'Brujita' de \$ 9036.00; y el 50 % restante de flores masculinas se dejan en la planta para garantizar la polinización (Figura 10).

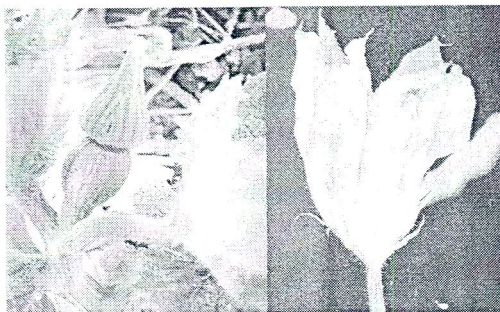


Figura 10. Flor femenina (izquierda) y masculina (derecha) var. 'Brujita'.

4.5.2.4. Días a floración

La floración masculina y femenina, ocurrió a los 58 y 60 días después de la siembra (dds) cuando las plantas habían acumulado 609.9 Unidades Calor (UCA) (Cuadro 14).

4.5.2.5. Longitud de pecíolo

La var. 'Brujita' mostró 29.74 ± 2.67 cm de longitud de pecíolo de la hoja del sexto nudo al final de la estación de crecimiento con un coeficiente de variación de 8.97 %. La cantidad de espinas en el pecíolo es bajo, y de forma ligeramente curveada (Cuadro 13).

4.5.2.6. Ramificación

No se registró el momento en que comenzó a ramificar, pero al final del crecimiento del cultivo se contaron las ramas primarias (mayores de 10 cm de longitud) emitidas, encontrándose 4.69 ramas primarias, con una desviación estándar promedio de 1.40, y un coeficiente de variación de



29.86 % (Cuadro 13). Lo anterior indica que esta variedad, pese a ser arbustiva, presenta gran capacidad para generar ramas primarias las cuáles pueden producir un fruto por ramificación lo que la hace muy eficiente y productiva desde el punto de vista agronómico y económico (Figura 11).

Cuadro 13. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación para diez caracteres en etapa vegetativa de la variedad tipo 'brujiita'.

Variable	Media	Varianza	Desviación estándar	Coeficiente de variación (%)
LGP	65.33	192.06	23.86	16.64
NUT	20.88	13.37	3.66	17.52
LEN	3.13	0.77	0.88	22.21
A6N	15.65	37.48	7.12	27.01
LPE	29.74	7.11	2.67	8.97
NHM	35.25	53.99	7.35	20.84
NRP	4.69	1.96	1.40	29.86
NFF	7.93	1.11	1.05	21.41
FMT	18.35	22.22	6.27	23.95
FMA	10.67	9.01	4.21	23.70

LGP: Longitud del tallo principal (cm); **NUT:** Nudos totales; **LEN:** Longitud de entrenudos entre el 4to y 6to nudo (cm); **A6N:** Altura al sexto nudo (cm); **LPE:** Longitud del peciolo (cm); **NHM:** Número de hojas maduras; **NRP:** Número de ramas primarias; **NFF:** Número de flores femeninas; **FMI:** Flores masculinas totales; **FMA:** Flores masculinas abiertas.

Cuadro 14. Unidades Calor Acumuladas (UCA) durante el ciclo biológico de la variedad 'Brujita' (3 de abril al 22 de julio del 2004).

Días después de la siembra (DDS)	Unidades Calor Acumuladas (UCA)
15	140.7
30	302.4
45	433.3
60	609.9
75	747.8
90	878.1
105	1011.4
120	1140.6

4.5.3. Caracteres cualitativos de planta adulta y frutos

4.5.3.1. Extremo, características, color y jaspeado del pedúnculo

El extremo del pedúnculo presentó una frecuencia en la población de 33.3 y 66.7 % de forma cóncava y recta, respectivamente. Además, el 60 % presentan el pedúnculo no duro y acampanado, el 34 % duro y acampanado, 1.6 % no acampanado agrandado por corteza dura y finalmente 4.2 % no acampanado



Fig. 12. Jaspeado del pedúnculo

agrandado por corteza suave; el color del pedúnculo es verde, amarillo y verde en un 34 y 66 %, respectivamente; además se caracteriza por presentar en un 100 % de la población jaspeado del pedúnculo (Figura 12).

4.5.3.2. Forma y color del fruto

La forma de los frutos de la var. tipo 'brujita' siguiendo la clasificación de la UPOV, fue la siguiente: 37 % de frutos elíptico transversal ancho, 35 % elíptico ancho, 17.5 oval y 10.5 % globular (Cuadro 15).

Martínez y García (1998) realizaron una descripción agronómica y morfológica de 123 colectas de tres especies de calabazas criollas de *Cucurbita pepo*, *C. moschata* y *C. argyrosperma*, encontrando que en *C. pepo* los frutos tienen una gran variabilidad en su forma, desde cilíndricos, globulares, aplanados, elongados, elípticos, discoidales hasta coronados; encontrándose también frutos costilludos y lisos.

La variedad 'Brujita' se caracteriza por tener una coloración externa de fruto anaranjado intenso; el cual, de acuerdo con Shifriss (1981). La etapa en la cual se da el cambio de pigmentación del fruto quedaría comprendida dentro de la posibilidad número dos (Figura 1), debido a que a los 35 días postantesis aproximadamente, se empezó a dar el cambio en la coloración del fruto de verde a anaranjado en el 50 % de los frutos.

4.5.3.3. Tamaño de la cicatriz floral

El tamaño de la cicatriz floral en la población presenta una frecuencia de 27.5, 47.5 y 25.0 % pequeño, medio y grande (Cuadro 15), respectivamente de acuerdo a la clasificación visual que se realizó (Figura 13).



Fig. 13. Cicatriz floral

4.5.3.4. Dureza y textura de la cáscara del fruto

La dureza de la cáscara del fruto es suave (fácilmente marcada con la uña de los dedos en un 77.5 %) e intermedia en un 22.5 % (difícil de marcar con la uña del dedo) (Cuadro

15). La dureza de la cáscara es importante a tenerla en cuenta para decidir los cuidados durante el transporte de los mismos, con el fin de evitar daños mecánicos a la cáscara que demeriten la calidad de los frutos. La textura de la cáscara del fruto es suave y granulosa en un 82 y 18 %, respectivamente (Cuadro 15).

4.5.3.5. Facilidad de extracción de la semilla

La extracción de la semilla, a juzgar por el grado de dificultad al realizarla manualmente, después de cortar el fruto fue: fácil (la semilla se desprende fácilmente de la placenta), intermedia (la semilla se desprende de la placenta, con cierta dificultad) y difícil (la semilla se desprende unida a la placenta), en un 80, 19 y 1 % (Cuadro 15), respectivamente. Esta característica es muy importante para extraer manualmente las semillas en menor tiempo.

4.5.3.6. Color y sabor de pulpa

El color de pulpa fue: anaranjado, anaranjado claro casi blanco y anaranjado verdoso en un 37.5, 48 y 14.5 %, respectivamente (Cuadro 15) (Figura 14). En cuanto a sabor, a juzgar por la degustación de un trozo de pulpa fue: muy dulce, dulce e insípido en un 23, 49 y 28 %, respectivamente (Cuadro 15). Lo anterior esta muy



relacionado con el color de la pulpa ya que se obtuvieron valores de color naranja del fruto en conjunto de 85.5 % y un sabor dulce juntando los frutos dulces y muy dulces, del orden de 72 %.

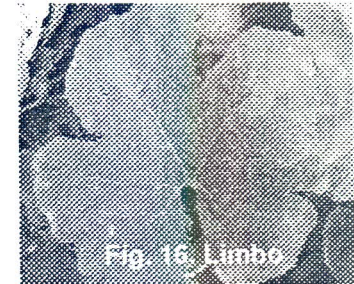
4.5.3.7. Color de tallo y zarcillos

El tallo de la variedad 'Brujita' es de color verde amarillo, de forma rectangular, no presenta jaspeado. Es suave y sin espinas (Figura 15). Los zarcillos están presentes en un 100 % en la población, aunque son poco desarrollados.



4.5.3.8. Tamaño del limbo

De acuerdo con la clasificación de la UPOV, el limbo es de tamaño medio, con incisiones poco profundas, no presenta moteado de la hoja, el borde de la misma es dentado (Figura 16) y la forma general es redondeada porque el lóbulo apical de la hoja no presenta el alargamiento acentuado típico en la mayoría de las hojas de calabaza. El tamaño de la hoja del pecíolo del sexto nudo de la guía principal al final de la estación de crecimiento es de 28 x 27 cm de largo y ancho, respectivamente.



Cuadro 15. Frecuencias relativas de 17 caracteres cualitativos de la var. tipo 'brujita'.

Carácter	Frecuencia %			
Extremo del pedúnculo (EPE)	(1): 33.3	(2): 66.7		
Características del pedúnculo (CAP)	(1): 60.0	(2): 34.2	(3): 1.60	(4): 4.2
Color del pedúnculo (CPE)	(2): 34.0	(3): 66.0		
Jaspeado del pedúnculo (JPE)	(2): 100			
Jaspeado del tallo (JTA)	(1): 000			
Zarcillos (ZAR)	(2): 100			
Forma transversal del pedúnculo (FTP)	(2): 25.0	(3): 75.0		
Forma apical del fruto (FAF)	(1): 22.5	(2): 77.5		
Forma basal del fruto (FBF)	(1): 39.0	(2): 61.0		
Tamaño de la cicatriz floral (TCF)	(2): 27.5	(3): 47.5	(4): 25	
Forma del fruto (FF)	(3): 37.0	(4): 35.0	(6): 17.5	(7): 10.5
Textura externa del fruto (TEF)	(1): 82.0	(2): 18.0		
Dureza de la cáscara del fruto (DCF)	(3): 77.5	(5): 22.5		
Estructura de la pulpa (EPU)	(2): 100			
Separación de la semilla (SSE)	(1): 80.0	(2): 19.0	(3): 1.0	
Sabor de pulpa (SPU)	(1): 23	(2): 49.0	(3): 28.0	
Color de pulpa (CPU)	(1): 37.5	(2): 48.0	(3): 14.5	

EPE: (1) cóncavo, (2) recto; **CAP:** (1) duro no acampanado, (2) duro y acampanado, (3) no acampanado agrandado por corteza dura, (4) no acampanado agrandado por corteza suave; **CPE:** (2) verde, (3) amarillo y verde; **JPE:** (1) ausente, (2) presente; **JTA:** (1) Ausente, (2) presente; **ZAR:** (1) Ausentes a rudimentarios, (2) bien desarrollados; **FTP:** (1) redondo, (2) ligeramente angular, (3) marcadamente angular; **FAF:** (1) hundido, (2) aplanado, (3) redondeado, (4) puntiagudo; **FBF:** (1) hundido, (2) aplanado, (3): redondeado, (4) puntiagudo; **TCF:** (1) muy pequeña, (2) pequeña, (3) media, (4) grande, (5) muy grande; **FF:** (1) disco, (2) elíptico transversal, (3) elíptico transversal ancho, (4) globular, (5) tocado, (6) elíptico ancho, (7) oval, (8) elíptico; **TEF:** (1) suave, (2) granulosa, (3) finamente arrugada, (4) superficialmente arrugada, (5) reticulado, (6) con verrugas, (7) con espinas; **DCF:** (3) suave, (5) intermedia, (7) dura; **EPU:** (1) no fibrosa, (2) fibrosa; **SSE:** (1) fácil, (2) intermedio, (3) difícil; **SPU:** (1) muy dulce, (2) dulce, (3) insípido; **CPU:** (1) anaranjado, (2) anaranjado claro casi blanco, (3) anaranjado verdoso.

4.5.4. Caracteres cuantitativos de fruto

4.5.4.1. Número de frutos por planta

Este dato no se determinó en crecimiento libre del cultivo, sino hasta el final del ciclo (110 dds), debido a que se controló la polinización y se eliminaron las flores que se habían “pasado” (los que habían abierto y fueron polinizados por abejas). No obstante esta variedad tiene una alta capacidad para producir más



de un fruto por planta, como se observa en la figura 17. De esta manera, al final del ciclo de cultivo se contabilizaron en promedio un total de 7.93 ± 1.05 flores femeninas, lo cual es muy deseable para tener una mayor cantidad de frutos por hectárea.

4.5.4.2. Peso, largo y ancho de fruto (g)

El peso promedio de fruto fue de 1839.56 ± 317.64 g por fruto, con un largo y ancho de 15.09 y 16.45 cm, respectivamente (Cuadro 16) (Figura 18) y el rendimiento extrapolado de fruto por hectárea fue del orden de $54.48 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$.



4.5.4.3. Grosor y longitud de pedúnculo (cm)

El grosor promedio del pedúnculo fue de 3.30 ± 0.454 cm y una longitud de 5.77 ± 1.33 cm (Cuadro 16). Lo cual es muy deseable desde el punto de vista del rendimiento, ya que el grosor de pedúnculo está correlacionado con mayor rendimiento de semilla (Sánchez, 1999; Sánchez, 2004; Márquez, 1999).

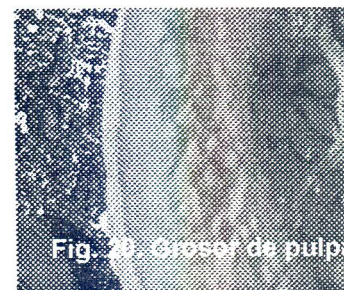
4.5.4.4. Número de acanaladuras

El número promedio de acanaladuras en la var. tipo 'brujita' es de 18.37 ± 1.66 , con un coeficiente de variación de 9.04 % (Cuadro 16). Dicha característica en este genotipo es muy constante en la población y presenta poca variación; la cual se puede considerarse como una característica distintiva de la misma (Figura 19).



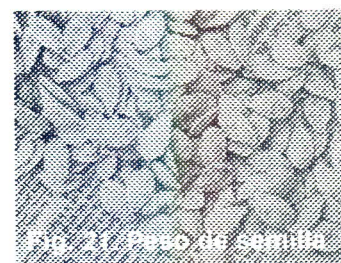
4.5.4.5. Grosor de pulpa y diámetro de la cavidad del fruto (cm)

El grosor de pulpa promedio fue de 2.83 ± 0.36 cm (Cuadro 16) (Figura 20), el cual es muy adecuado para poderse utilizar en fabricación de dulces, conservas y confitería. Desde una perspectiva fisiológica, los frutos de pulpa más gruesa aportan un mayor rendimiento en peso de la semilla, debido a que una pulpa gruesa ayuda en el periodo de postmaduración de la semilla a continuar acumulando reservas a la misma. En promedio, el diámetro de la cavidad del fruto fue de 10.58 ± 1.00 cm.



4.5.4.6. Peso de semilla por fruto (g)

El peso de semilla promedio en fresco fue de 47.60 ± 15.58 g por fruto (Cuadro 16) (Figura 21), lo cual extrapolado a una hectárea se tiene un rendimiento de semilla de $1410 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ en peso fresco.

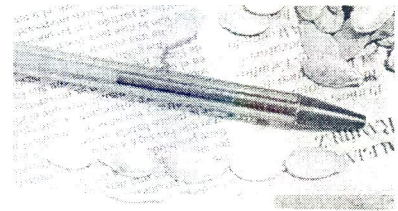


4.5.4.7. Peso de 100 semillas (g)

El peso promedio de 100 semillas fue de 13 g, lo que equivale a 7.69 semillas por gramo; con lo cual se puede calcular la cantidad de semilla que se requiere para sembrar una hectárea de la presente variedad.

4.5.4.8. Largo y ancho de semilla (cm)

La semilla de la var. brujita presenta un largo y ancho promedio de 1.57 y 0.89 cm, respectivamente. Además el color de la semilla es crema en toda su superficie, incluyendo el margen de la misma (Cuadro 16) (Figura 22). El resultado obtenido se encuentra dentro de los rangos mencionados por Lira (1995), quien indicó que la longitud de las semillas varían de 0.8 a 27 mm y el ancho de 4 a 12 mm, lo cual también es semejante a lo encontrado por Martínez y García (1998), quienes encontraron que la longitud de las semillas varía de 2.64 a 1.94 cm y el ancho oscila entre 1.08 y 0.72 cm.



Cuadro 16. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de 11 caracteres de rendimiento de la var. tipo 'brujita'. Chapingo, México. 2004.

Variable	Media	Varianza	Desviación estándar	Coeficiente de variación (%)
PFR	1839.56	100394.33	317.64	17.27
AFR	16.45	1.22	1.11	6.73
LFR	15.09	1.78	1.33	8.83
GPE	3.30	0.20	0.45	13.65
LPE	5.77	1.78	1.33	23.11
NAC	18.37	2.76	1.66	9.04
GPU	2.83	0.13	0.36	12.54
PSE	47.60	242.80	15.58	32.74
LSE	1.57	0.25	0.50	6.30
ASE	0.89	0.12	0.35	7.76
DCF	10.58	0.99	1.00	9.41

PFR: Peso de fruto (g); **AFR:** Altura de fruto (cm); **LFR:** Largo de fruto (cm); **GPE:** Grosor de pedúnculo (cm); **LPE:** Longitud de pedúnculo (cm); **NAC:** Número de acanaladuras; **GPU:** Grosor de pulpa (cm); **PSE:** Peso de semilla (cm); **LSE:** Largo de semilla (cm); **ASE:** Ancho de semilla (cm); **DCF:** Diámetro de la cavidad del fruto (cm).

4.5.5. Identidad de la variedad 'Brujita'

Con los resultados obtenidos de 11 descriptores cuantitativos y 17 cualitativos, se logró definir la identidad de la variedad de calabaza tipo 'Brujita'.

Con base en caracteres cuantitativos (Cuadro 16), la variedad se puede caracterizar como de porte bajo (arbustivo), desarrolla aproximadamente un promedio de veinte entrenudos, con un peso medio de fruto de 1839 g, con 16.45 y 15.09 cm de alto y ancho, respectivamente; grosor y longitud de pedúnculo de 3.30 y 5.77 cm, respectivamente, con 404 semillas por fruto de tamaño pequeño (1.57 y 0.89 cm de largo y ancho) y un peso de la misma de 47.6 g fruto.

Con base en los descriptores cualitativos (Cuadro 15), la variedad 'Brujita' puede describirse como: de hábito de crecimiento arbustivo con tallos rectangulares y con presencia de jaspeado en el tallo y en el pedúnculo en el 100% de la población, presencia de zarcillos poco desarrollados, con hojas color verde intenso, de forma ovoide, con protuberancias no prolongadas. En estado de plántula, los cotiledones son de color verde intenso, tienen forma elíptica y la sección transversal de los mismos es recta, la nervadura central es prominente la cual se prolonga hasta el ápice del cotiledón y dos nervaduras laterales se observan hasta un tercio de los cotiledones. La semilla es de forma elíptica ancha y de color crema, tanto en la superficie como el borde de la misma.

El fruto es de color naranja intenso, de textura suave, la forma apical y basal es redondeada, con un tamaño de la cicatriz floral grande (2.5 cm de diámetro) de acuerdo a la clasificación de la UPOV (2000).

4.5.5.1. La novedad

La variedad de calabaza 'Brujita' se considera como nueva, en virtud de que en la actualidad no se encuentra en la fase de multiplicación, requisito que se plantea en el convenio de la UPOV de 1991 (UPOV, 2000) y en la ley de semillas de México (SAGAR-SNICS, 1998); es decir, que no debe haber sido explotada comercialmente, por lo que no se requiere una evaluación técnica, pero sí una evaluación legal. En el artículo 6 del convenio de la UPOV de 1978, se establece que la variedad no deberá haber sido ofrecida en venta o comercializada, con el consentimiento del obtentor, en el

territorio de dicho país o, si la legislación del país lo considera, específicamente no haya estado en venta el año anterior.

4.5.6. Exámenes de distinción, homogeneidad y estabilidad

4.5.6.1. Examen de distinción de la variedad 'Brujita'

Para el examen de distinción, la variedad de calabaza 'Brujita' se comparó con dos variedades de referencia (*Round zucchini* y *Gray zucchini*), ambas productoras de semilla sin testa, debido a que la UPOV y la ley de semillas de México (SAGAR-SNICS, 1998) establecen que la variedad por registrarse para certificación o protección deberá distinguirse por uno o varios caracteres importantes de cualquier otra variedad (UPOV, 2000). Para el análisis se utilizaron diez descriptores cuantitativos (Cuadro 17) y 27 descriptores cualitativos que propone la guía técnica (Cuadro 18).

Como se aprecia en el cuadro 17, la variedad 'Brujita' es diferente en altura de planta, alto y ancho de fruto, grosor de pedúnculo, grosor de pulpa, y número de semillas por fruto con respecto a las variedades *Gray zucchini* y *Round zucchini* ambas productoras de semilla sin testa. En peso de fruto sólo es diferente de la variedad *Round zucchini*.

Cuadro 17. Comparación de descriptores cuantitativos de la var. 'Brujita' con dos variedades de referencia del programa de Mejoramiento Genético de calabazas de la UACH.

Descriptores	'Brujita'	Nivel	<i>Round s/t</i>	Nivel	<i>Gray s/t</i>	Nivel
Altura de planta (cm)	65.33	Baja	195.03	Grande	88.43	Media
Alto de fruto (cm)	15.09	Medio	12.79	Medio	26.13	Grande
Ancho de fruto (cm)	16.45	Grande	10.31	Medio	13.13	Medio
Grosor pedúnculo (cm)	3.30	Grueso			2.09	Delgado
Grosor de pulpa (cm)	2.83	Gruesa	1.28	Delgada	1.98	Media
Peso de fruto (kg)	1.83	Chico	0.78	Chico	1.71	Chico
Número semillas/fruto	404.00	Medio	274.00	Chico	378.00	Medio
Peso 100 semillas (g)	13.00	Chico				
Largo de semilla (cm)	1.57	Chico	1.59	Chico	1.62	Chico
Ancho de semilla (cm)	0.89	Chico	0.66	Chico	0.80	Chico

Con base en los resultados de los 27 descriptores cualitativos (Cuadro 18), se determina que la variedad 'Brujita', es diferente de las variedades *Gray* y *Round zucchini* en porte de planta (C4), incisiones en el limbo (C13), presencia de lunares en el fruto (C57), tamaño de la cicatriz floral (C64), color de la pulpa (C74), cáscara de la semilla (C79) y nudo en el que aparece la primera flor femenina (C82).

Cuadro 18. Comparación de descriptores cualitativos de la var. 'Brujita' con dos variedades del programa de Mejoramiento Genético de calabazas de la UACH.

Descriptores	'Brujita'	<i>Round zucchini</i> s/t	<i>Gray zucchini</i> s/t
C4: Porte de planta	Arbustivo	Guía	Guía corta
C5: Ramificación	Presente	Presente	Presente
C6: Grado de ramificación	Medio	Fuerte	Medio
C8: Color de tallo	Verde amarillo		
C10: Jaspeado del tallo	Presente		
C12: Tamaño del limbo	Medio		
C13: Incisiones en el limbo	Muy poco profundas	Profundas	
C15: Manchas plateadas en el limbo	Ausentes		
C27: Color principal de la epidermis	Blanco y verde		
C29: Intensidad del color verde de la epidermis del fruto joven	Claro		
C31.4: Longitud del fruto (solo para variedades tipo zucchini)	Medio	Medio	Largo
C45: Extremo distal del fruto (solo para variedades zucchini)	Redondeado		
C46: Acanaladuras en el fruto	Presentes		
C47: Profundidad de las acanaladuras en el fruto	Muy poco profundas		
C55: Color de las rayas en las acanaladuras del fruto	Verdes		
C57: Lunares en el fruto	Presentes	Ausentes	Ausentes
C58: Tamaño de los lunares principales del fruto	Pequeños		
C64: tamaño de la cicatriz floral del fruto	Grande	Pequeña	Pequeña
C68: Jaspeado del pedúnculo	Presente		
C69: Color principal de la epidermis del fruto maduro	Naranja	Verde	Verde
C74: Color de la pulpa	Naranja	Amarilla	Blanca
C77: Tamaño de la semilla	Pequeña	Pequeña	Pequeña
C78: Forma de la semilla	Elíptica		
C79: Cáscara de la semilla	Presente	Ausente	Ausente
C81: Color de la cáscara	Crema		
C82: Nudo en que aparece la primer flor femenina	Seis	Once	Ocho

El examen de distinción de la variedad de Calabaza 'Brujita' con respecto a las variedades de referencia, realizado mediante los descriptores cuantitativos y cualitativos antes descritos permiten establecer que la variedad 'Brujita' es distinta en uno o más caracteres a las variedades *Round* y *Gray zucchini* ambas productoras de semilla sin testa, cumpliéndose así el requisito para diferenciar e identificar una nueva variedad y en consecuencia poder registrarla, multiplicarla, comercializarla y protegerla.

4.5.6.2. Examen de homogeneidad de la variedad 'Brujita'

4.5.6.2.1. Análisis de los estadísticos descriptivos en caracteres cuantitativos

Con base en los resultados de los estadísticos descriptivos de caracteres cuantitativos (Cuadro 16), en particular los descriptores peso de fruto, grosor y longitud de pedúnculo, grosor de pulpa y peso de semilla presentaron coeficientes de variación altos (mayores de 10 %). Dichos resultados confirman que los caracteres cuantitativos son bastante influenciados por el ambiente (CIAT, 1983). Mientras que ancho y largo de fruto, número de acanaladuras, largo y ancho de semilla, y diámetro de la cavidad del fruto presentaron valores bajos de coeficiente de variación (menores del 10 %) por lo que se recomienda emplearlos en la descripción varietal.

4.5.6.2.2. Análisis de las frecuencias de los descriptores cualitativos

Con base en las frecuencias de los descriptores cualitativos (Cuadro 15), se observa que jaspeado del tallo y del pedúnculo, zarcillos poco desarrollados, color del fruto maduro (naranja), estructura fibrosa de la pulpa, presentan frecuencias de 100 % en la población, lo que indica que son descriptores poco influenciados por el ambiente y se pueden considerar como representativos de la variedad 'Brujita'. Otros descriptores que

presentaron frecuencias altas (mayores de 70 %) en la población son: forma transversal del pedúnculo, forma apical del fruto, textura externa del fruto, dureza de la cáscara del fruto, separación de la semilla, los cuáles también pueden ser considerados como criterios adicionales para diferenciar a la variedad. Mientras que en descriptores como sabor de pulpa, es predominantemente (72 %) dulce a muy dulce pero también es insípida (28 %), la forma del fruto maduro es elíptica transversal ancho, pero presenta otras como globular, elíptico ancho y oval.

4.5.6.3. Análisis de estabilidad de la variedad 'Brujita'

El análisis de la variedad ha permitido mostrar que es nueva, diferente y uniforme. Para ello se usó una descripción varietal basada en caracteres cualitativos y cuantitativos. El último requisito sobre estabilidad no fue posible determinarlo en este estudio, ya que son necesarios varios ciclos de multiplicación de semilla para cuantificar si una variedad es estable en la mayoría de sus descriptores morfológicos. La UPOV (2000) considera que un material que haya demostrado ser homogéneo, también puede ser considerado como estable.

4.5.7. Mantenimiento varietal para la variedad 'Brujita'

El mantenimiento varietal se refiere a los procedimientos de manejo de la semilla categoría original con el fin de conservar su identidad y pureza genética (Peske *et al.*, 1999), ya que es requisito para la inscripción en el catálogo de variedades factibles de certificación. En el mantenimiento se debe considerar la estructura genotípica de la variedad a multiplicar, para el caso de calabaza que es una especie alógama se tiene mayor grado de variación por lo que en este caso se sugiere mantenerla por el método

de compuestos masales, para esto se realizó una mezcla balanceada de semilla de plantas caracterizadas en campo provenientes de semilla que se obtuvo por incrementos bajo condiciones de invernadero y que corresponden por su constitución genética a la variedad 'Brujita', con las cuáles se integró la semilla categoría original y de esta mezcla balanceada se sugiere conservar el 50 % (reserva estratégica) y el resto destinarlo a mantenimiento e incremento de la variedad. El lote debe ser uniforme, con riego y de preferencia no debe haberse sembrado con ningún tipo de calabaza en los dos ciclos anteriores. Otro aspecto muy importante que no debe olvidarse nunca, es el aislamiento en tiempo y espacio (al menos 3 km) para evitar contaminaciones por abejas con otras variedades.

Uno de los requisitos del registro nacional de variedades, además de que la variedad sea nueva, distinta, homogénea y estable, es indicar las áreas de adaptación recomendadas para el establecimiento de la misma y su valor agrícola (SNICS, 2001). En este caso, son los ciclos de primavera (riego) en los Valles Altos, Mesa Central y el Bajío; mientras que en los ciclos de invierno en el Noroeste y Noreste del país.

Por tal motivo se presentan los resultados de la estimación de rendimiento de fruto de la variedad 'Brujita' comparada con variedades del Programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH (Cuadro 19).

Cuadro 19. Comparación de algunas características de la variedad 'Brujita' con variedades experimentales del Programa de Mejoramiento Genético de calabazas de la UACH.

Variedad	Días a floración	Días a cosecha	Rdto. semilla (t ha ⁻¹)*	Rdto. de fruto maduro (t ha ⁻¹)
Brujita	58	110	1.41	54.48
<i>Round Zucchini</i> s/t	66	125	1.50	41.95
de guía				
<i>Gray Zucchini</i> s/t	56	122	1.60	66.33
Fitomex stg	58	124	1.93	20.40
<i>Zucchini</i> 'Tala'	52	110	1.12	22.27

Fuente: Villegas 2003. *Se refiere al peso de semilla húmeda recién extraída del fruto.

4.5.8. Correlaciones fenotípicas

Las correlaciones más sobresalientes en la variedad 'Brujita' fueron: peso de fruto (PFR) se asoció positiva y significativamente con longitud de pedúnculo y número de acanaladuras (0.19* y 0.19*); y altamente significativa con ancho de fruto, largo de fruto, grosor de pedúnculo, grosor de pulpa y peso de semilla (0.75**, 0.59**, 0.34**, 0.33** y 0.43**, respectivamente) (Cuadro 20), lo que sugiere que frutos mas pesados presentan mayor longitud de pedúnculo, número de acanaladuras, son mas anchos y largos, de pulpa más gruesa además de mayor peso de semilla. Ancho de fruto (AFR) se correlacionó positivamente con grosor de pedúnculo (0.22*) y también con peso de semilla (0.19*) lo que indica que frutos más anchos tienen mayor peso de semilla.

Largo de fruto (LFR) se asoció positiva y altamente significativa con grosor de pulpa (0.35**), indicando que frutos más largos tienen mayor proporción de pulpa. Grosor de pedúnculo (GPE) se correlacionó positivamente con peso de semilla (0.22*), lo que sugiere que frutos con pedúnculo más grueso presentan mayor proporción de semilla.

El largo de semilla (LSE) se correlacionó positiva y en forma altamente significativa con ancho de semilla (0.33**) lo que sugiere que las semillas al ser más largas también son más anchas.

Cuadro 20. Correlaciones fenotípicas de 9 caracteres en la variedad 'Brujita'. Chapingo, México. 2004.

FV	AFR	LFR	GPE	LPE	NAC	GPU	PSE	LSE	ASE
PFR	0.75**	0.59**	0.34**	0.19*	0.19*	0.33**	0.43**	0.12	0.12
AFR		0.10	0.22*	0.02	0.14	0.17	0.19*	0.06	0.08
LFR			0.22*	0.15	0.09	0.35**	0.28*	0.14	0.15
GPE				0.11	0.16	0.05	0.22*	-0.13	-0.08
LPE					0.03	-0.01	0.15	-0.07	-0.06
NAC						0.05	0.12	-0.03	0.11
GPU							0.09	0.16	0.11
PSE								0.07	-0.00
LSE									0.33**

FV: Fuente de variación, **PFR:** Peso de fruto (g), **AFR:** Ancho de fruto (cm), **LFR:** Largo de fruto (cm), **GPE:** Grosor de pedúnculo (cm), **LPE:** Largo de pedúnculo (cm), **NAC:** Número de acanaladuras, **GPU:** Grosor de pulpa (cm), **PSE:** Peso de semilla (g), **LSE:** Largo de semilla (cm), **ASE:** Ancho de semilla (cm).

4.5.9. Resumen de la caracterización de la variedad 'Brujita'

1. Jaspeado del pedúnculo, presencia de zarcillos poco desarrollados, presencia de lunares en el fruto joven y coloración naranja del fruto son características presentes en el 100 % de la población, por lo que se consideran como características distintivas de la variedad 'Brujita'.
2. Otra característica distintiva de la variedad 'Brujita' es el número de acanaladuras (18) en el fruto, debido al bajo coeficiente de variación que se obtuvo en el presente estudio (9.04%).

3. El cambio de coloración del fruto de verde a anaranjado se dio en promedio a los 35 días posantesis.
4. La hoja es redondeada, con el lóbulo central no pronunciado, no presenta manchas foliares.
5. La primera flor femenina aparece en el sexto nudo de la guía principal y la masculina en el primer nudo.
6. Presenta aproximadamente 5 ramas primarias.
7. Los días a floración masculina y femenina es a los 58 y 60 días después de la siembra.
8. El ciclo de cultivo es de la variedad 'Brujita' es de 110 días de siembra a madurez fisiológica.
9. El peso promedio de fruto de esta variedad es de 1839.56 ± 317.64 g.
10. La semilla es 1.57 cm de largo x 0.89 cm de ancho, de color crema tanto en el margen como en el resto de la semilla.
11. El número promedio de semillas por fruto es de 404 semillas.
12. El peso de 100 semillas es de 13 g; lo que equivale a 7.69 semillas por gramo.
13. La correlación fenotípica positiva y altamente significativa más sobresaliente de la variedad 'Brujita' ocurrió entre peso de fruto y ancho y largo de fruto, grosor de pedúnculo, grosor de pulpa y peso de semilla (0.75^{**} , 0.59^{**} , 0.34^{**} , 0.33^{**} y 0.43^{**} , respectivamente).

4.6. Caracterización de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa.

Pese a que se partió de cinco semillas originales de las cuáles se obtuvieron 118 plantas *in vitro*, y al llevarlas a invernadero se cosecharon un total de 57 frutos, los cuáles se clasificaron en función del tipo de fruto, susceptibilidad a enfermedades de la raíz y color de pulpa, al llevarlas a campo se diferenciaron dos tipos de plantas bien definidas (de guía corta y de guía) por lo cual se realiza la descripción de cada una por separado.

En este apartado se presenta la descripción y caracterización de rasgos de las principales características morfológicas y agronómicas de la variedad de guía corta de calabaza *Round Zucchini* productora de semilla sin testa evaluada en condiciones de riego en el lote No. 12 del Campo Agrícola Experimental San Martín de la Universidad Autónoma Chapingo durante el ciclo agrícola Primavera-Verano 2004.

4.6.1. Etapa vegetativa

4.6.1.1. Longitud del tallo y número de hojas maduras

La longitud promedio del tallo, a los 42 días después de la siembra (dds) fue 12.55 cm. Entre los 42 y 63 dds el crecimiento fue lento pues sólo se incremento en 24.32 cm. La tasa más rápida de crecimiento del tallo se dio entre los 63 y 90 dds con 62.28 cm. El crecimiento total de la guía fue de 121.10 ± 18.78 cm durante el ciclo de cultivo.

El número de hojas vegetativamente maduras durante el crecimiento del cultivo fue de la siguiente manera: a los 42 dds 10.61 hojas; entre los 42 y 63 dds se incrementaron

13.47 hojas adicionales; y de los 63 a los 90 dds 28.55 hojas (878.1 UCA, Cuadro 14); el número total de hojas vegetativamente maduras fue 52.63.

4.6.1.2. Longitud de entrenudos, número de nudos y altura al 6to. Nudo.

Esta variedad presenta una longitud de entrenudos promedio de 4.45 ± 0.96 cm y un coeficiente de variación de 21.48 %, aunque se observó que la longitud de los entrenudos se incrementó hacia la parte terminal de la guía, esto probablemente generado por la estimulación de la guía a seguir creciendo, cuando se eliminaban frutos de las flores que no se autofecundaron oportunamente. El número de nudos totales promedio en la variedad de guía corta *Round Zucchini* productora de semilla sin testa evaluada en las condiciones de Chapingo, Estado de México fue de 27.20 ± 3.82 y un coeficiente de variación de 14.06 % (Cuadro 21). La altura media al sexto nudo de la guía principal al final de la estación de crecimiento fue de 31.20 ± 3.82 cm, con un coeficiente de variación de 12.26 % (Cuadro 21).

4.6.1.3. Número de flores femeninas y masculinas

La primera flor femenina apareció en el noveno nudo de la guía principal, por su parte la primera flor masculina se generó en el primer nudo de la guía principal. El número de flores femeninas promedio fue de 6.30 ± 1.79 con un coeficiente de variación de 21.23 %. El número promedio de flores masculinas fue de 27.40 ± 6.31 de las cuáles 16.33 fueron las que abrieron (aproximadamente el 59.59 %) y 11.07 fueron flores pequeñas que no abrieron (Cuadro 21). Si se cosechara el 50% de las flores masculinas para su



Fig. 23. Flor ♀ (derecha)
♂ (izquierda)

comercialización como hortaliza, las cuáles son muy apreciadas en la parte central del país, se tiene un ingreso extra. Extrapolando a una hectárea, se tendrían 483,841 flores masculinas, de las cuáles el 50 % (241,920 flores masculinas) se podrían ofertar al mercado. De esta manera se pueden formar 6,912 manojos de 35 flores cada uno, aun precio de venta al productor de \$2.00 (julio del 2004) se tendría un ingreso neto por concepto de venta de flores masculinas de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa de \$ 13,824; y el 50 % restante de flores masculinas se dejan en la planta para garantizar la polinización (Figura 23).

4.6.1.4. Días a floración

La floración masculina y femenina ocurrió a los 64 y 66 días después de la siembra (dds), respectivamente, cuando las plantas habían acumulado 657.4 Unidades Calor (UCA) (Cuadro 14).

4.6.1.5. Longitud de pecíolo

La variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa mostró 38.40 ± 2.50 cm de longitud de pecíolo de la hoja del sexto nudo al final de la estación de crecimiento (Cuadro 21). Presenta espinas en el pecíolo y está curvado.

4.6.1.6. Ramificación

No se registró el momento en que comenzó a ramificar, pero al final del crecimiento del cultivo se contaron las ramas primarias (mayores de 10 cm de longitud) emitidas, encontrándose 6.80 ramas primarias (Figura 24), con una desviación estándar de 1.14, y un coeficiente de variación de 16.70 % (Cuadro 21).



Cuadro 21. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de diez caracteres en etapa vegetativa de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa.

Variable	Media	Varianza	Desviación estándar	Coeficiente de variación (%)
LGP	121.10	352.77	18.78	15.51
NUT	27.20	14.62	3.82	14.06
LEN	4.45	0.91	0.96	21.48
A6N	31.20	14.62	3.82	12.26
LPE	38.40	6.27	2.50	6.52
NHM	52.40	13.38	3.66	11.65
NRP	6.80	1.29	1.14	16.70
NFF	6.30	1.79	1.34	21.23
FMT	27.40	39.82	6.31	16.87
FMA	16.63	8.40	2.90	13.93

LGP: Longitud del tallo principal (cm); **NUT:** Nudos totales; **LEN:** Longitud de entrenudos entre el 4to y 6to nudo (cm); **A6N:** Altura al sexto nudo (cm); **LPE:** Longitud del pecíolo (cm); **NHM:** Número de hojas maduras; **NRP:** Número de ramas primarias; **NFF:** Número de flores femeninas; **FMT:** Flores masculinas totales; **FMA:** Flores masculinas abiertas.

4.6.2. Caracteres cualitativos de planta adulta y frutos

4.6.2.1. Extremo basal, características, color y jaspeado del pedúnculo

El extremo basal del pedúnculo presentó una frecuencia en la población de 28 y 72 % de forma cóncava y recta, respectivamente. Además, el 85 % presentan el pedúnculo duro y no acampanado, el 15 % duro y acampanado, el color del pedúnculo es verde y no presenta jaspeado del pedúnculo (Cuadro 22).

4.6.2.2. Forma y color del fruto

La forma de los frutos de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa según la clasificación de la UPOV, fue la siguiente: 20 % de frutos elíptico transversal ancho, 68 % elíptico ancho, 10 % oval y 2 % globular (Cuadro 22) (Figura 25). La coloración externa del fruto es verde oscuro.



4.6.2.3. Tamaño de la cicatriz floral

El tamaño de la cicatriz floral en la población es en el 18, 58 y 20 % de los casos muy pequeño, pequeño y medio, respectivamente, de acuerdo a la clasificación visual que se realizó (Cuadro 22).

4.6.2.4. Dureza y textura de la cáscara del fruto

La dureza de la cáscara del fruto es intermedia (difícil de marcar con la uña de los dedos en un 18 %) y dura en un 82 % (no se marca con la uña del dedo) (Cuadro 22). La dureza de la cáscara es importante a tenerla en cuenta para decidir los cuidados durante el transporte de los mismos, con el fin de evitar daños mecánicos a la cáscara que demeriten la calidad de los frutos. Situación que en esta variedad no es de mucha importancia porque la cáscara es dura, de textura lisa, granulosa y finamente arrugada en un 86, 12 y 2 %, respectivamente (Cuadro 22).

4.6.2.5. Facilidad de extracción de la semilla

La extracción de la semilla, a juzgar por el grado de dificultad al realizarla manualmente, después de cortar el fruto fue: fácil (la semilla se desprende fácilmente de la placenta),

intermedia (la semilla se desprende de la placenta, con cierta dificultad) y difícil (la semilla se desprende unida a la placenta), en un 80, 15 y 5 %, respectivamente (Cuadro 22). Esta característica es muy importante para extraer manualmente las semillas en menor tiempo.

4.6.2.6. Color y sabor de pulpa

El color de pulpa fue: anaranjado, anaranjado claro casi blanco, anaranjado verdoso y blanca en un 16, 33, 19 y 32 %, respectivamente (Cuadro 22). De esta manera se muestra que en cuanto a color de pulpa esta variedad todavía presenta mucha variación. En cuanto a sabor, a juzgar por la degustación de un trozo de pulpa fue: muy dulce, dulce e insípido en un 14, 27, 59 %, respectivamente (Cuadro 22).

4.6.2.7. Color de tallo y zarcillos

El tallo es de color verde claro, de forma rectangular, no presenta jaspeado y es duro con espinas. Los zarcillos están presentes en un 100 % en la población y son desarrollados (Figura 26).



4.6.2.8. Tamaño del limbo

De acuerdo a la clasificación de la UPOV, el limbo es de tamaño medio, con incisiones profundas, no presenta moteado de la hoja, el borde de la misma es dentado y la forma general es puntiaguda porque el lóbulo apical de la hoja presenta el alargamiento acentuado típico en la



mayoría de las hojas de calabaza (Figura 27). El tamaño de la hoja del pecíolo del sexto nudo de la guía principal al final de la estación de crecimiento es de 32 x 31 cm de largo y ancho, respectivamente.

Cuadro 22. Frecuencias relativas de 18 caracteres cualitativos de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa. Chapingo, México. 2004.

Carácter	Frecuencia %			
Extremo del pedúnculo (EPE)	(1): 28	(2): 72		
Características del pedúnculo (CAP)	(1): 85	(2): 15		
Color del pedúnculo (CPE)	(1): 00	(2): 100		
Jaspeado del pedúnculo (JPE)	(1): 00	(2): 100		
Jaspeado del tallo (JTA)	(1): 00	(2): 100		
Zarcillos (ZAR)	(1): 00	(2): 100		
Forma transversal del pedúnculo (FTP)	(1): 00	(2): 00	(3): 100	
Forma apical del fruto (FAF)	(1): 12	(2): 70		(4): 18
Forma basal del fruto (FBF)	(1): 35	(2): 54		(4): 11
Tamaño de la cicatriz floral (TCF)	(1): 18	(2): 58	(3): 20	(4): 04
Forma del fruto (FF)	(3): 20	(6): 68	(7): 10	(8): 02
Textura externa del fruto (TEF)	(1): 86	(2): 12	(3): 02	
Dureza de la cáscara del fruto (DCF)			(5): 18	(7): 82
Estructura de la pulpa (EPU)	(1): 00	(2): 100		
Separación de la semilla (SSE)	(1): 80	(2): 15	(3): 05	
Aspecto de la semilla (ASE)	(1): 81	(2): 19		
Sabor de pulpa (SPU)	(1): 14	(2): 27	(3): 59	
Color de pulpa (CPU)	(1): 16	(2): 33	(3): 19	(4): 32

EPE: (1) cóncavo, (2) recto; **CAP:** (1) duro no acampanado, (2) duro y acampanado, (3) no acampanado agrandado por corteza dura, (4) no acampanado agrandado por corteza suave; **CPE:** (2) verde, (3) amarillo y verde; **JPE:** (1) ausente, (2) presente; **JTA:** (1) Ausente, (2) presente; **ZAR:** (1) Ausentes a rudimentarios, (2) bien desarrollados; **FTP:** (1) redondo, (2) ligeramente angular, (3) marcadamente angular; **FAF:** (1) hundido, (2) aplanado, (3) redondeado, (4) puntiagudo; **FBF:** (1) hundido, (2) aplanado, (3): redondeado, (4) puntiagudo; **TCF:** (1) muy pequeña, (2) pequeña, (3) media, (4) grande, (5) muy grande; **FF:** (1) disco, (2) elíptico transversal, (3) elíptico transversal ancho, (4) globular, (5) tocado, (6) elíptico ancho, (7) oval, (8) elíptico; **TEF:** (1) suave, (2) granulosa, (3) finamente arrugada, (4) superficialmente arrugada, (5) reticulado, (6) con verrugas, (7) con espinas; **DCF:** (3) suave, (5) intermedia, (7) dura; **EPU:** (1) no fibrosa, (2) fibrosa; **SSE:** (1) fácil, (2) intermedio, (3) difícil; **ASE:** (1) lisa, (2) pellejuda; **SPU:** (1) muy dulce, (2) dulce, (3) insípido; **CPU:** (1) anaranjado, (2) anaranjado claro casi blanco, (3) anaranjado verdoso, (4) blanca.

4.6.3. Caracteres cuantitativos de fruto

4.6.3.1. Número de frutos por planta

Este dato no se determinó en crecimiento libre del cultivo, sino hasta el final del ciclo, debido a que se controló la polinización y se eliminaron las flores que se habían “pasado” (los que habían abierto y fueron polinizados por abejas). De esta manera, al final del ciclo de cultivo se contabilizaron en promedio un total de 6.30 ± 1.34 flores femeninas (Cuadro 21), lo cual es muy deseable para tener una mayor cantidad de frutos por hectárea.

4.6.3.2. Peso, largo y ancho de fruto (g)

El peso promedio de fruto de la variedad de guía corta fue de 1235.70 ± 145.23 g por fruto (Cuadro 23) y el rendimiento extrapolado de fruto maduro por hectárea fue del orden de $36.61 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$. El ancho de fruto promedió 13.84 cm y el largo 13.95 cm (Cuadro 23) (Figura 28).



Fig. 28. Largo y ancho de fruto

4.6.3.3. Grosor y longitud de pedúnculo (cm)

El grosor promedio del pedúnculo fue de 2.21 ± 0.48 cm y una longitud de 6.58 ± 1.56 cm (Cuadro 23).

4.6.3.4. Grosor de pulpa y diámetro de la cavidad del fruto (cm)

El grosor de pulpa promedio fue de 1.72 ± 0.29 cm (Cuadro 23). Por su parte, el diámetro de la cavidad del fruto fue de 10.58 ± 1.00 cm.

4.6.3.5. Peso de semilla por fruto (g)

El peso de semilla promedio en fresco fue de 44.91 ± 5.97 g por fruto (Cuadro 23) lo cual extrapolado a una hectárea se tiene un rendimiento de semilla de $1330.63 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ en peso fresco (Figura 29).

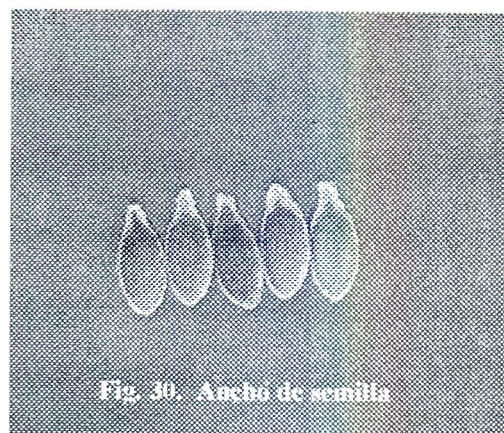


4.6.3.6. Peso de 100 semillas (g)

El peso promedio de 100 semillas fue de 15 g, lo que equivale a 6.67 semillas por gramo; con lo cual se puede calcular la cantidad de semilla que se requiere para sembrar una hectárea de la presente variedad.

4.6.3.7. Largo y ancho de semilla (cm)

La semilla de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa presenta un largo y ancho promedio de 1.53 ± 0.12 y 0.77 ± 0.06 cm, respectivamente (Cuadro 23). El color de la semilla es verde marrón (Figura 30). El resultado obtenido se encuentra dentro de los rangos mencionados por Lira (1995), quien indicó que la



longitud de las semillas varían de 0.8 a 27 mm y el ancho de 4 a 12 mm, lo cual también es semejante a lo encontrado por Martínez y García (1998) quienes encontraron que la longitud de las semillas varía de 2.64 a 1.94 cm y el ancho oscila entre 1.08 y 0.72 cm.

Cuadro 23. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación (%) de 11 caracteres de rendimiento de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa.

Variable	Media	Varianza	Desviación estándar	Coeficiente de variación (%)
PFR	1235.70	21091.23	145.23	11.75
AFR	13.84	3.56	1.89	13.63
LFR	13.95	3.80	1.95	12.89
GPE	2.21	0.23	0.48	21.82
LPE	6.58	2.45	1.56	23.75
NCO	10.05	0.63	0.79	7.90
GPU	1.72	0.08	0.29	16.64
PSE	44.91	35.59	5.97	13.28
LSE	1.53	0.01	0.12	7.63
ASE	0.77	0.01	0.06	7.63
DCF	11.25	2.46	1.57	13.93

PFR: Peso de fruto (g); **AFR:** Ancho de fruto (cm); **LFR:** Largo de fruto (cm); **GPE:** Grosor de pedúnculo (cm); **LPE:** Longitud de pedúnculo (cm); **NCO:** Número de costillas; **GPU:** Grosor de pulpa (cm); **PSE:** Peso de semilla (g); **LSE:** Largo de semilla (cm); **ASE:** Ancho de semilla (cm); **DCF:** Diámetro de la cavidad del fruto (cm).

4.6.4. Identidad de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa

Con los resultados obtenidos de 11 descriptores cuantitativos y 17 cualitativos, se logró definir la identidad de la variedad de calabaza de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa.

Con base en caracteres cuantitativos (Cuadro 23) la variedad se puede caracterizar de porte de guía corta, desarrolla aproximadamente un promedio de 27 entrenudos, separados 4.45 cm, con un peso medio de fruto de 1235 g, 13.95 y 13.84 cm de alto y ancho, respectivamente; grosor y longitud de pedúnculo de 2.21 y 6.58 cm, respectivamente, con 296 semillas por fruto de tamaño pequeño (1.53 y 0.77 cm de largo y ancho) y un peso de la misma de 44.91 g por fruto.

Con base en los descriptores cualitativos (Cuadro 22), la variedad de guía corta *Round Zucchini* puede describirse como: de hábito de crecimiento de guía corta con tallos rectangulares, presencia de zarcillos bien desarrollados, con hojas color verde intenso, de lóbulos pronunciados. La semilla es de forma elíptica ancha, de color verde marrón, es lisa y pellejuda es un 81 y 19 %, respectivamente.

El fruto es de color verde oscuro, de cáscara dura, de textura suave, la forma apical y basal es redondeada, con un tamaño de la cicatriz floral pequeño (1.0 cm de diámetro) de acuerdo a la clasificación de la UPOV (2000).

4.6.5. La novedad

La variedad de calabaza de guía corta *Round Zucchini* se considera como nueva, en virtud de que en la actualidad no se encuentra en la fase de multiplicación, requisito que se plantea en el convenio de la UPOV de 1991 (UPOV, 2000) y en la ley de semillas de México (SAGAR-SNICS, 1998); es decir, que no debe haber sido explotada comercialmente, por lo que no se requiere una evaluación técnica, pero sí una evaluación legal. En el artículo 6 del convenio de la UPOV de 1978, se establece que la variedad no deberá haber sido ofrecida en venta o comercializada, con el consentimiento del obtentor, en el territorio de dicho país o, si la legislación del país lo considera, específicamente no haya estado en venta el año anterior.

4.6.6. Examen de distinción de la var. de guía corta *Round Z.* semilla sin testa

Para el examen de distinción, la variedad de guía corta *Round Zucchini* se comparó con dos variedades de referencia (*Round zucchini* y *Gray zucchini*), ambas productoras de semilla sin testa, debido a que la UPOV y la ley de semillas de México (SAGAR-SNICS,

1998) establecen que la variedad por registrarse para certificación o protección deberá distinguirse por uno o varios caracteres importantes de cualquier otra variedad (UPOV, 2000). Para el análisis se utilizaron diez descriptores cuantitativos (Cuadro 24) y 27 descriptores cualitativos que propone la guía técnica (Cuadro 25).

Como se aprecia en el cuadro 24, la variedad de guía corta *Round Zucchini* es diferente en altura de planta, peso de fruto, ancho de fruto, grosor de pulpa, y número de semillas por fruto con respecto a las variedades *Gray zucchini* y *Round zucchini* ambas productoras de semilla sin testa.

Cuadro 24. Comparación de descriptores cuantitativos de la var. de guía corta *Round Zucchini* con dos variedades de referencia del Programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.

Descriptores	<i>Round s/t</i> guía corta	Nivel	<i>Round s/t</i>	Nivel	<i>Gray s/t</i>	Nivel
Altura de planta (cm)	121.10	Media	195.03	Grande	88.43	Media
Alto de fruto (cm)	13.95	Medio	12.79	Medio	26.13	Grande
Ancho de fruto (cm)	13.84	Medio	10.31	Medio	13.13	Medio
Grosor de pedúnculo (cm)	2.21	Delgado			2.09	Delgado
Grosor de pulpa (cm)	1.72	Delgada	1.28	Delgada	1.98	Delgada
Peso de fruto (kg)	1.23	Chico	0.78	Chico	1.71	Chico
Número de semillas/fruto	296	Medio	274	Chico	378	Medio
Peso de 100 semillas (g)	15					
Largo de semilla (cm)	1.53	Chico	1.59	Chico	1.62	Chico
Ancho de semilla (cm)	0.77	Chico	0.66	Chico	0.80	Chico

Con base en los resultados de los 27 descriptores cualitativos (Cuadro 25), se determina que la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa, es diferente de la variedad *Round Zucchini* en porte de planta (C4), grado de ramificación (C6), presencia de lunares en el fruto (C57), color de la pulpa (C74) y nudo en el que aparece la primer flor femenina (C82). Es diferente de la variedad *Gray Zucchini* de

semilla sin testa en longitud del fruto (C31.4), presencia de lunares en el fruto (C57), color de la pulpa (C74) y nudo en el que aparece la primera flor femenina (C82).

Cuadro 25. Comparación de descriptores cualitativos de la var. de guía corta *Round Zucchini* con dos variedades de referencia del Programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.

Descriptores	Round Z. s/t guía corta	Round zucchini s/t	Gray zucchini s/t
C4: Porte de planta	Guía corta	Guía	Guía corta
C5: Ramificación	Presente	Presente	Presente
C6: Grado de ramificación	Medio	Fuerte	Medio
C8: Color de tallo	Verde amarillo		
C10: Jaspeado del tallo			
C12: Tamaño del limbo	Medio		
C13: Incisiones en el limbo	profundas	Profundas	
C15: Manchas plateadas en el limbo	Ausentes		
C27: Color principal de la epidermis	Verde		
C29: Intensidad del color verde de la Epidermis del fruto joven	Claro		
C31.4: Longitud del fruto (solo para variedades tipo zucchini)	Medio	Medio	Largo
C45: Extremo distal del fruto (solo para variedades zucchini)	Redondeado		
C46: Acanaladuras en el fruto	Ausentes		
C47: Profundidad de las acanaladuras En el fruto			
C55: Color de las rayas en las acanaladuras del fruto			
C57: Lunares en el fruto	Presentes	Ausentes	Ausentes
C58: Tamaño de los lunares principales del fruto	Pequeños		
C64: tamaño de la cicatriz floral del fruto	Pequeña	Pequeña	Pequeña
C68: Jaspeado del pedúnculo	Ausente		
C69: Color principal de la epidermis del fruto maduro	Verde	Verde	Verde
C74: Color de la pulpa	Naranja	Amarilla	Blanca
C77: Tamaño de la semilla	Pequeña	Pequeña	Pequeña
C78: Forma de la semilla	Elíptica		
C79: Cáscara de la semilla	Ausente	Ausente	Ausente
C81: Color de la cáscara			
C82: Nudo en que aparece la primer flor femenina	Nueve	Once	Ocho

El examen de distinción de la variedad de Calabaza de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa con respecto a las variedades de referencia, realizado mediante los descriptores cuantitativos y cualitativos antes descritos permiten establecer que la variedad de guía corta *Round Zucchini* es distinta en uno o más caracteres a las

variedades *Round* y *Gray zucchini*, ambas productoras de semilla sin testa, cumpliéndose así el requisito para diferenciar e identificar una nueva variedad y en consecuencia poder registrarla, multiplicarla, comercializarla y protegerla.

4.6.7. Examen de homogeneidad de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa

4.6.7.1. Análisis de los estadísticos descriptivos en caracteres cuantitativos

Con base en los resultados de los estadísticos descriptivos de caracteres cuantitativos (Cuadro 23), en particular los descriptores peso de fruto, alto y ancho de fruto, grosor y longitud de pedúnculo, grosor de pulpa y peso de semilla presentaron coeficientes de variación altos (mayores de 10 %). Dichos resultados confirman que los caracteres cuantitativos son bastante influenciados por el ambiente (CIAT, 1983). Mientras que número de costillas, largo y ancho de semilla presentaron valores bajos de coeficiente de variación (menores del 10 %) por lo que se recomienda emplearlos en la descripción varietal.

4.6.7.2. Análisis de las frecuencias de los descriptores cualitativos

Con base en las frecuencias de los descriptores cualitativos (Cuadro 22), se observa que zarcillos bien desarrollados, forma transversal del pedúnculo, color del pedúnculo, estructura fibrosa de la pulpa, presentan frecuencias de 100 % en la población, lo que indica que son descriptores poco influenciados por el ambiente y se pueden considerar como representativos de la variedad de guía corta *Round Zucchini*. Otros descriptores que presentaron frecuencias altas (mayores de 70 %) en la población son: extremo del pedúnculo recto, pedúnculo duro no acampanado, textura externa lisa del fruto, cáscara

dura del fruto, fácil separación de la semilla, los cuáles también pueden ser considerados como criterios adicionales para diferenciar a la variedad.

4.6.8. Análisis de estabilidad de la variedad de guía corta *Round Zucchini*

El análisis de la variedad ha permitido mostrar que es nueva, diferente y uniforme. Para ello se usó una descripción varietal basada en caracteres cualitativos y cuantitativos. El último requisito sobre estabilidad no fue posible determinarlo en este estudio, ya que son necesarios varios ciclos de multiplicación de semilla para cuantificar si una variedad es estable en la mayoría de sus descriptores morfológicos. La UPOV (2000) considera que un material que haya demostrado ser homogéneo, también puede ser considerado como estable.

4.6.9. Mantenimiento varietal para la variedad de guía corta *Round Zucchini*

El mantenimiento varietal se refiere a aquellos procedimientos de manejo de la semilla categoría original con el fin de conservar su identidad y pureza genética (Peske *et al.*, 1999), ya que es requisito para la inscripción en el catálogo de variedades factibles de certificación. En el mantenimiento se debe considerar la estructura genotípica de la variedad a multiplicar, para el caso de calabaza que es una especie alógama se tiene mayor grado de variación por lo que en este caso se sugiere mantenerla por el método de compuestos masales, para esto se realizó una mezcla balanceada de semilla de plantas caracterizadas en campo provenientes de semilla que se obtuvo por incrementos bajo condiciones de invernadero y que corresponden por su constitución genética a la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa, con las cuáles se integró la semilla categoría original y de esta mezcla balanceada se sugiere conservar el 50 % (reserva estratégica) y el resto destinarlo a mantenimiento e

incremento de la variedad. El lote debe ser uniforme, con riego y de preferencia no debe haberse sembrado con ningún tipo de calabaza en los dos ciclos anteriores. Otro aspecto muy importante y que no debe olvidarse nunca, es el aislamiento en tiempo y espacio (al menos 3 km) para evitar contaminaciones por abejas con otras variedades. Uno de los requisitos del registro nacional de variedades, además de que la variedad sea nueva, distinta, homogénea y estable, es indicar las áreas de adaptación recomendadas para el establecimiento de la misma y su valor agrícola (SNICS, 2001). En este caso, son los ciclos de primavera (riego) en los Valles Altos, Mesa Central y el Bajío; mientras que en los ciclos de invierno en el Noroeste y Noreste del país. Por tal motivo se presentan los resultados de la estimación de rendimiento de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa comparada con dos variedades del programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH (Cuadro 26).

Cuadro 26. Comparación de algunas características de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa con variedades de calabaza (*Cucurbita pepo* L.).

Variedad	Días a floración	Días a cosecha	Rendimiento semilla (t ha ⁻¹)*	Rendimiento de fruto maduro (t ha ⁻¹)
<i>Round Zucchini</i> s/t guía corta	64	123	1.33	36.61
<i>Gray Zucchini</i> s/t	56	122	1.60	66.33
Fitomex stg	58	124	1.93	20.40
<i>Zucchini</i> 'Tala'	52	110	1.12	22.27

Fuente: Villegas 2003. *Se refiere al peso de semilla húmeda recién extraída del fruto.

4.6.10. Correlaciones fenotípicas

Las correlaciones más sobresalientes en la variedad de guía corta *Round Zucchini* de productora de semilla sin testa fueron: peso de fruto (PFR) se asoció positiva y significativamente con largo de fruto, grosor de pulpa y ancho de semilla (0.34*, 0.23* y

o.23*, respectivamente) (Cuadro 27) lo que indica que frutos más pesados son más largos, tienen pulpa más gruesa y semilla más ancha. Ancho de fruto (AFR) se correlacionó positiva y altamente significativa con largo de fruto (0.52**) y grosor de pedúnculo (0.36**) lo que sugiere que frutos más anchos también son más largos y de pedúnculo más grueso. Largo de fruto (LFR) se correlacionó positiva y altamente significativa con grosor de pedúnculo (0.45**) lo que indica que frutos más largos en esta población presentan pedúnculo más grueso. Longitud de pedúnculo (LPE) se asoció positivamente con el diámetro de la cavidad del fruto (0.23*) indicando que a mayor longitud de pedúnculo la cavidad del fruto también es mayor. Grosor de pulpa (GPU) se correlacionó positivamente con el diámetro de la cavidad del fruto (0.30*) lo anterior indica que frutos con pulpa más gruesa también presentan la cavidad del fruto más grande.

Cuadro 27. Correlaciones fenotípicas de 10 caracteres en la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa. Chapingo, México. 2004.

FV	AFR	LFR	GPE	LPE	NCO	GPU	PSE	LSE	ASE	DCF
PFR	0.20	0.24*	0.07	0.08	0.06	0.23*	0.02	0.20	0.23*	0.12
AFR		0.52**	0.36**	0.10	-0.02	0.10	0.02	0.05	-0.09	0.23*
LFR			0.45**	-0.03	-0.10	0.14	0.19	0.03	-0.01	0.11
GPE				0.02	-0.02	0.08	-0.04	-0.09	-0.07	0.11
LPE					-0.11	0.11	-0.06	0.01	0.12	0.23*
NCO						-0.07	0.09	-0.08	-0.01	0.15
GPU							-0.16	0.07	0.02	0.29*
PSE								0.01	0.03	0.08
LSE									0.07	0.16
ASE										0.03

FV: Fuente de variación, **PFR:** Peso de fruto (g), **AFR:** Ancho de fruto (cm), **LFR:** Largo de fruto (cm), **GPE:** Grosor de pedúnculo (cm), **LPE:** Largo de pedúnculo (cm), **NCO:** Número de costillas, **GPU:** Grosor de pulpa (cm), **PSE:** Peso de semilla (g), **LSE:** Largo de semilla (cm), **ASE:** Ancho de semilla (cm), **DCF:** Diámetro de la cavidad del fruto (cm).

4.6.11. Resumen de la caracterización de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa.

1. Fruto verde oscuro de textura lisa, cáscara dura, zarcillos desarrollados, hoja con incisiones profundas, color de semilla verde marrón, son características de esta variedad.
2. La primera flor femenina aparece en el noveno nudo de la guía principal y la masculina en el primer nudo.
3. Tarda 123 días de siembra a madurez fisiológica.
4. El fruto pesa en promedio 1235.70 ± 145.23 g, con un ancho y largo de 13.84 y 13.95 cm, respectivamente.
5. El peso de 100 semillas es de 15 g, lo que equivale a 6.6 semillas por gramo.
6. La correlación positiva y significativa fue peso de fruto (PFR) con largo de fruto, grosor de pulpa y ancho de semilla (0.34**, 0.23** y 0.23**, respectivamente) y altamente significativa ancho de fruto (AFR) con largo de fruto (0.52**) y grosor de pedúnculo (0.36**).

4.7. Caracterización de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa

En este apartado se presenta la descripción y caracterización de rasgos de las principales características morfológicas y agronómicas de la variedad de calabaza de guía *Round Zucchini* productora de semilla sin testa evaluada bajo condiciones de riego en el lote No. 12 del Campo Agrícola Experimental San Martín de la Universidad Autónoma Chapingo durante el ciclo agrícola Primavera-Verano 2004.

4.7.1. Etapa vegetativa

4.7.1.1. Longitud del tallo y número de hojas maduras

El tallo presentó una longitud promedio a los 42 días después de la siembra (dds) de 15.46 cm. Entre los 42 y 63 dds el tallo registró un crecimiento lento pues solo incremento 34.81 cm. La tasa más rápida de crecimiento del tallo se dio entre los 63 y 90 dds con 103.78 cm. El crecimiento total de la guía fue de 197.63 ± 19.95 cm durante el ciclo de cultivo.

El número de hojas vegetativamente maduras durante el crecimiento del cultivo fue de la siguiente manera: a los 42 dds 14.57 hojas; entre los 42 y 63 dds se incrementaron 19.82 hojas adicionales; y de los 63 a los 90 dds 34.01 hojas (878.1 UCA, Cuadro 14); el número total de hojas vegetativamente maduras fue de 68.4.

4.7.1.2. Longitud de entrenudos, número de nudos y altura al 6to. Nudo.

Esta variedad presenta una longitud de entrenudos promedio de 5.69 ± 0.80 cm y un coeficiente de variación de 14.05 % (Cuadro 28), aunque se observó que la longitud de los entrenudos se incrementó hacia la parte terminal de la guía, esto probablemente generado por la estimulación de la guía a seguir creciendo, cuando se eliminaban frutos de las flores que no se autofecundaron oportunamente.

El número de nudos totales promedio en la variedad de guía *Round Zucchini* productora de semilla sin testa evaluada bajo las condiciones de Chapingo, Estado de México fue de 34.75 ± 5.12 y un coeficiente de variación de 14.73 % (Cuadro 28). La altura media al sexto nudo de la guía principal al final de la estación de crecimiento fue de 39.74 ± 6.69 cm, con un coeficiente de variación de 21.48 % (Cuadro 28).

4.7.1.3. Número de flores femeninas y masculinas

La primera flor femenina apareció en el doceavo nudo de la guía principal, por su parte la primera flor masculina se generó en el primer nudo de la guía principal.

El número de flores femeninas promedio fue de 9.62 ± 1.41 con un coeficiente de variación de 18.86 %. El número promedio de flores masculinas fue de 36.75 ± 8.12 de las cuáles 19.25 fueron las que abrieron (aproximadamente el 52.38 %) y 17.5 fueron flores pequeñas que no abrieron (Cuadro 28). Si se cosechara el 50 % de las flores masculinas para su comercialización como hortaliza, las cuáles son muy apreciadas en la parte central del país, se tiene un ingreso extra. Extrapolando a una hectárea, se tendrían 570,358 flores masculinas, de las cuáles el 50 % (285,179 flores masculinas) se podrían ofertar al mercado. Así, se pueden formar 8,147 manojos de 35 flores cada uno, aun precio de venta al productor de \$2.00 (julio del 2004), por lo que se tendría un ingreso neto por concepto de venta de flores masculinas de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa de \$ 16,294; y el 50% restante de flores masculinas se dejan en la planta para garantizar la polinización.

4.7.1.4. Días a floración

La floración masculina y femenina ocurrió a los 66 y 68 días después de la siembra (dds), respectivamente, cuando las plantas habían acumulado 672.34 Unidades Calor (UCA) (Cuadro 14).

4.7.1.5. Longitud de pecíolo

La variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa mostró 43.88 ± 5.3 cm de longitud de pecíolo de la hoja del sexto nudo al final de la estación de crecimiento con

un coeficiente de variación de 12.09 %. Presenta espinas en el pecíolo y esta curvado (Cuadro 28).

4.7.1.6. Ramificación

No se registró el momento en que comenzó a ramificar, pero al final del crecimiento del cultivo se contaron las ramas primarias (mayores de 10 cm de longitud) emitidas, encontrándose 9.16 ramas primarias, con una desviación estándar promedio de 2.56, y un coeficiente de variación de 28.48 % (Cuadro 28).

Cuadro 28. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación de diez caracteres en etapa vegetativa de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa.

Variable	Media	Varianza	Desviación estándar	Coeficiente de variación (%)
LGP	197.63	397.41	19.94	10.09
NUT	34.75	26.21	5.12	14.73
LEN	5.69	0.64	0.80	14.05
A6N	39.74	44.70	6.69	21.48
LPE	43.88	28.13	5.30	12.09
NHM	68.40	20.98	4.58	12.68
NRP	9.16	6.57	2.56	28.48
NFF	9.62	2.00	1.41	18.86
FMT	36.75	65.93	8.12	22.09
FMA	19.25	11.64	3.41	17.73

LGP: Longitud del tallo principal (cm); **NUT:** Nudos totales; **LEN:** Longitud de entrenudos entre el 4to y 6to nudo (cm); **A6N:** Altura al sexto nudo (cm); **LPE:** Longitud del pecíolo (cm); **NHM:** Número de hojas maduras; **NRP:** Número de ramas primarias; **NFF:** Número de flores femeninas; **FMT:** Flores masculinas totales; **FMA:** Flores masculinas abiertas.

4.7.2. Caracteres cualitativos de planta adulta y frutos

4.7.2.1. Extremo basal, características, color y jaspeado del pedúnculo

El extremo basal del pedúnculo presentó una frecuencia en la población de 43 y 57 % de forma cóncava y recta, respectivamente. Además, el 64 % presentan el pedúnculo duro y no acampanado, el 36 % duro y acampanado, el color del pedúnculo es verde y no presenta jaspeado del pedúnculo (Cuadro 29).

4.7.2.2. Forma y color del fruto

La forma de los frutos de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa siguiendo la clasificación de la UPOV, fue la siguiente: 25 % de frutos elíptico transversal ancho, 48 % elíptico ancho, 16 % oval y 11 % globular (Cuadro 29). Además los frutos presentan costillas bien marcadas con un promedio de 10.43 ± 0.84 y un coeficiente de variación de 8.10 % y son de color verde oscuro.

Martínez y García (1998) realizaron una descripción agronómica y morfológica de 123 colectas de tres especies de calabazas criollas de *Cucurbita pepo*, *C. moschata* y *C. argyrosperma*, encontrando que en *C. pepo* los frutos tienen una gran variabilidad en su forma, desde cilíndricos, globulares, aplanados, elongados, elípticos, discoidales hasta coronados; encontrándose también frutos costilludos y lisos.

4.7.2.3. Tamaño de la cicatriz floral

El tamaño de la cicatriz floral en la población presenta una frecuencia de 11, 52 y 37 % muy pequeña, pequeña y media, respectivamente (Cuadro 29) de acuerdo a la clasificación visual que se realizó.

4.7.2. Caracteres cualitativos de planta adulta y frutos

4.7.2.1. Extremo basal, características, color y jaspeado del pedúnculo

El extremo basal del pedúnculo presentó una frecuencia en la población de 43 y 57 % de forma cóncava y recta, respectivamente. Además, el 64 % presentan el pedúnculo duro y no acampanado, el 36 % duro y acampanado, el color del pedúnculo es verde y no presenta jaspeado del pedúnculo (Cuadro 29).

4.7.2.2. Forma y color del fruto

La forma de los frutos de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa siguiendo la clasificación de la UPOV, fue la siguiente: 25 % de frutos elíptico transversal ancho, 48 % elíptico ancho, 16 % oval y 11 % globular (Cuadro 29). Además los frutos presentan costillas bien marcadas con un promedio de 10.43 ± 0.84 y un coeficiente de variación de 8.10 % y son de color verde oscuro.

Martínez y García (1998) realizaron una descripción agronómica y morfológica de 123 colectas de tres especies de calabazas criollas de *Cucurbita pepo*, *C. moschata* y *C. argyrosperma*, encontrando que en *C. pepo* los frutos tienen una gran variabilidad en su forma, desde cilíndricos, globulares, aplanados, elongados, elípticos, discoidales hasta coronados; encontrándose también frutos costilludos y lisos.

4.7.2.3. Tamaño de la cicatriz floral

El tamaño de la cicatriz floral en la población presenta una frecuencia de 11, 52 y 37 % muy pequeña, pequeña y media, respectivamente (Cuadro 29) de acuerdo a la clasificación visual que se realizó.

4.7.2.4. Dureza y textura de la cáscara del fruto

Los niveles de la dureza de la cáscara del fruto fueron: suave (se marca con la uña de los dedos) intermedia (difícil de marcar con la uña de los dedos) y dura (no se marca con la uña del dedo) en 09, 23 y 68 %, respectivamente (Cuadro 29). Determinar la dureza de la cáscara es importante decidir los cuidados durante el transporte de los frutos, con el fin de evitar daños mecánicos a la cáscara que demeriten su calidad. La textura de la cáscara del fruto es lisa, granulosa y finamente arrugada en un 66, 21 y 13 %, respectivamente (Cuadro 29).

4.7.2.5. Facilidad de extracción de la semilla

La extracción de la semilla, a juzgar por el grado de dificultad al realizarla manualmente, después de cortar el fruto fue: fácil (la semilla se desprende fácilmente de la placenta), intermedia (la semilla se desprende de la placenta, con cierta dificultad) y difícil (la semilla se desprende unida a la placenta), en un 61, 22 y 17 %, respectivamente (Cuadro 29). Esta característica es muy importante para extraer manualmente las semillas en menor tiempo.

4.7.2.6. Color y sabor de pulpa

El color de pulpa fue: anaranjado, anaranjado claro casi blanco, anaranjado verdoso y blanca en un 11, 24, 13 y 52 %, respectivamente (Cuadro 29). De esta manera se muestra que en cuanto a color de pulpa esta variedad todavía presenta mucha variación. En cuanto a sabor, a juzgar por la degustación de un trozo de pulpa fue: muy dulce, dulce e insípido en un 05, 16 y 79 %, respectivamente (Cuadro 29).

4.7.2.7. Color de tallo y zarcillos

El tallo de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa presenta una frecuencia es de color verde oscuro de 88 % y verde oscuro de 12 %, es de forma rectangular, no presenta jaspeado, es duro y con espinas. Los zarcillos están presentes en un 100 % en la población y son desarrollados (Cuadro 29).

4.7.2.8. Tamaño del limbo

De acuerdo con la clasificación de la UPOV, el limbo es de tamaño medio, con incisiones profundas, no presenta moteado de la hoja, el borde de la misma es dentado y la forma general es puntiaguda porque el lóbulo apical de la hoja presenta el alargamiento acentuado típico en la mayoría de las hojas de calabaza. El tamaño de la hoja del pecíolo del sexto nudo de la guía principal al final de la estación de crecimiento fue de 38 x 36 cm de largo y ancho, respectivamente.

4.7.3. Caracteres cuantitativos de fruto

4.7.3.1. Número de frutos por planta

Este dato no se determinó en crecimiento libre del cultivo, sino hasta el final del ciclo, debido a que se controló la polinización y se eliminaron las flores que se habían “pasado” (los que habían abierto y fueron polinizados por abejas). De esta manera, al final del ciclo de cultivo se contabilizaron en promedio un total de 9.62 ± 1.41 flores femeninas (Cuadro 28), lo cual es muy deseable para tener una mayor cantidad de frutos por hectárea.

Cuadro 29. Frecuencias relativas de 19 caracteres cualitativos de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa. Chapingo, México. 2004.

Carácter	Frecuencia %			
Extremo del pedúnculo (EPE)	(1): 43	(2): 57		
Características del pedúnculo (CAP)	(1): 64	(2): 36		
Color del pedúnculo (CPE)	(1): 00	(2): 100		
Color de tallo (COT)	(1): 88	(2): 12		
Jaspeado del pedúnculo (JPE)	(1): 00	(2): 100		
Jaspeado del tallo (JTA)	(1): 00	(2): 100		
Zarcillos (ZAR)	(1): 00	(2): 100		
Forma transversal del pedúnculo (FTP)	(1): 00	(2): 19	(3): 81	
Forma apical del fruto (FAF)	(1): 13	(2): 44	(3): 32	(4): 11
Forma basal del fruto (FBF)	(1): 34	(2): 36	20	(4): 10
Tamaño de la cicatriz floral (TCF)	(1): 11	(2): 52	(3): 37	
Forma del fruto (FF)	(3): 25	(6): 48	(7): 16	(8): 11
Textura externa del fruto (TEF)	(1): 66	(2): 21	(3): 13	
Dureza de la cáscara del fruto (DCF)		(3): 09	(5): 23	(7): 68
Estructura de la pulpa (EPU)	(1): 00	(2): 100		
Separación de la semilla (SSE)	(1): 61	(2): 22	(3): 17	
Aspecto de la semilla (ASE)	(1): 55	(2): 45		
Sabor de pulpa (SPU)	(1): 05	(2): 16	(3): 79	
Color de pulpa (CPU)	(1): 11	(2): 24	(3): 13	(4): 52

EPE: (1) cóncavo, (2) recto; **CAP:** (1) duro no acampanado, (2) duro y acampanado, (3) no acampanado agrandado por corteza dura, (4) no acampanado agrandado por corteza suave; **CPE:** (1) amarillo, (2) verde, (3) amarillo y verde; **COT:** (1) verde claro, (2) verde oscuro; **JPE:** (1) ausente, (2) presente; **JTA:** (1) Ausente, (2) presente; **ZAR:** (1) Ausentes a rudimentarios, (2) bien desarrollados; **FTP:** (1) redondo, (2) ligeramente angular, (3) marcadamente angular; **FAF:** (1) hundido, (2) aplanado, (3) redondeado, (4) puntiagudo; **FBF:** (1) hundido, (2) aplanado, (3): redondeado, (4) puntiagudo; **TCF:** (1) muy pequeña, (2) pequeña, (3) media, (4) grande, (5) muy grande; **FF:** (1) disco, (2) elíptico transversal, (3) elíptico transversal ancho, (4) globular, (5) tocado, (6) elíptico ancho, (7) oval, (8) elíptico; **TEF:** (1) suave, (2) granulosa, (3) finamente arrugada, (4) superficialmente arrugada, (5) reticulado, (6) con verrugas, (7) con espinas; **DCF:** (3) suave, (5) intermedia, (7) dura; **EPU:** (1) no fibrosa, (2) fibrosa; **SSE:** (1) fácil, (2) intermedio, (3) difícil; **ASE:** (1) lisa, (2) pellejuda; **SPU:** (1) muy dulce, (2) dulce, (3) insípido; **CPU:** (1) anaranjado, (2) anaranjado claro casi blanco, (3) anaranjado verdoso, (4) blanca.

4.7.3.2. Peso, largo y ancho de fruto (g)

El peso promedio de fruto de la variedad de guía fue de 1415.98 ± 204.87 g por fruto, con un largo y ancho promedio de 14.99 y 14.60 cm, respectivamente (Cuadro 30) y el rendimiento extrapolado de fruto por hectárea fue del orden de $41.95 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$. Además presenta costillas bien definidas con un promedio de



10.43 $\pm$ 0.84 y un coeficiente de variación de 8.10 % el cual se considera bajo. Esta característica sirve para diferenciarse de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa (Figura 31).

4.7.3.3. Grosor y longitud de pedúnculo (cm)

El grosor promedio del pedúnculo fue de 2.70 $\pm$ 0.37 cm y una longitud de 7.08 $\pm$ 1.29 cm (Cuadro 30).

4.7.3.4. Grosor de pulpa y diámetro de la cavidad del fruto (cm)

El grosor de pulpa promedio fue de 1.60 $\pm$ 0.25 cm (Cuadro 30). Por su parte, el diámetro de la cavidad del fruto fue de 11.44 $\pm$ 1.27 cm.

4.7.3.5. Peso de semilla por fruto (g)

El peso de semilla promedio en fresco fue de 50.96 $\pm$ 16.65 g por fruto (Cuadro 30), lo cual significa un rendimiento de semilla de 1509.89 kg·ha⁻¹ en peso fresco.

4.7.3.6. Peso de 100 semillas (g)

El peso promedio de 100 semillas fue de 16.5 g, lo que equivale a 6 semillas por gramo; con lo cual se puede calcular la cantidad de semilla que se requiere para sembrar una hectárea de la presente variedad.

4.7.3.7. Largo y ancho de semilla (cm)

La semilla de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa presenta un largo y ancho promedio de



1.58 y 0.80 cm, respectivamente (Cuadro 30). El color de la semilla es verde claro, además la semilla es pellejuda en un 55 % (Figura 32). El resultado obtenido se encuentra dentro de los rangos mencionados por Lira (1995), quien indicó que la longitud de las semillas varían de 0.8 a 2.7 cm y el ancho de 0.4 a 1.2 cm, lo cual también es semejante a lo encontrado por Martínez y García (1998) quienes encontraron que la longitud de las semillas varía de 2.64 a 1.94 cm y el ancho oscila entre 1.08 y 0.72 cm.

Cuadro 30. Media, varianza, desviación estándar y coeficiente de variación (%) de 11 caracteres de rendimiento de la var. de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa.

Variable	Media	Varianza	Desviación estándar	Coeficiente de variación (%)
PFR	1415.98	41969.92	204.87	14.47
AFR	14.60	3.22	1.80	12.30
LFR	14.99	4.19	2.05	13.66
GPE	2.70	0.14	0.37	13.68
LPE	7.08	1.29	1.14	16.08
NCO	10.43	0.71	0.84	8.10
GPU	1.60	0.06	0.25	15.64
PSE	50.96	277.34	16.65	32.68
LSE	1.58	0.02	0.14	9.08
ASE	0.80	0.01	0.09	11.53
DCF	11.44	1.60	1.27	11.06

PFR: Peso de fruto (g); **AFR:** Ancho de fruto (cm); **LFR:** Largo de fruto (cm); **GPE:** Grosor de pedúnculo (cm); **LPE:** Longitud de pedúnculo (cm); **NCO:** Número de costillas; **GPU:** Grosor de pulpa (cm); **PSE:** Peso de semilla (g); **LSE:** Largo de semilla (cm); **ASE:** Ancho de semilla (cm); **DCF:** Diámetro de la cavidad del fruto(cm).

4.7.4. Identidad de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa

Con los resultados obtenidos de 11 descriptores cuantitativos y 19 cualitativos, se logró definir la identidad de la variedad de calabaza de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa.

Con respecto a caracteres cuantitativos (Cuadro 30), la variedad se puede caracterizar como de porte de guía, desarrolla aproximadamente un promedio de treinta y cuatro entrenudos, separados 5.69 cm, con un peso medio de fruto de 1415 g, 14.99 y 14.60 cm de alto y ancho, respectivamente; grosor y longitud de pedúnculo de 2.70 y 7.08 cm, respectivamente, con 315 semillas por fruto de tamaño pequeño (1.58 y 0.80 cm de largo y ancho) y un peso de la misma de 50.96 g.

Con base en los descriptores cualitativos (Cuadro 29), la variedad de guía *Round Zucchini* puede describirse como: de hábito de crecimiento de guía, con tallos rectangulares de color verde claro (88 %) y verde oscuro (12 %), presencia de zarcillos bien desarrollados, con hojas color verde intenso, de lóbulos pronunciados. La semilla es de forma elíptica ancha, de color verde marrón, es lisa y pellejuda es un 55 y 45 %, respectivamente.

El fruto es de color verde oscuro, presenta costillas bien marcadas, de cáscara dura, de textura suave, la forma apical y basal es redondeada, con un tamaño de la cicatriz floral pequeño (1.5 cm de diámetro) de acuerdo a la clasificación de la UPOV (2000).

4.7.5. La novedad

La variedad de calabaza de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa se considera como nueva, en virtud de que en la actualidad no se encuentra en la fase de multiplicación, requisito que se plantea en el convenio de la UPOV de 1991 (UPOV, 2000) y en la ley de semillas de México (SAGAR-SNICS, 1998); es decir, que no debe haber sido explotada comercialmente, por lo que no se requiere una evaluación técnica, pero sí una evaluación legal. En el artículo 6 del convenio de la UPOV de 1978, se establece que la variedad no deberá haber sido ofrecida en venta o comercializada, con el consentimiento del obtentor, en el territorio de dicho país o, si la legislación del país lo considera, específicamente no haya estado en venta el año anterior.

4.7.6. Examen de distinción de la var. de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa

Para el examen de distinción, la variedad de guía *Round Zucchini* se comparó con dos variedades de referencia (*Round zucchini* y *Gray zucchini*), ambas productoras de semilla sin testa, debido a que la UPOV y la ley de semillas de México (SAGAR-SNICS, 1998) establecen que la variedad por registrarse para certificación o protección deberá distinguirse por uno o varios caracteres importantes de cualquier otra variedad (UPOV, 2000). Para el análisis se utilizaron diez descriptores cuantitativos (Cuadro 31) y 27 descriptores cualitativos que propone la guía técnica (Cuadro 32).

Como se aprecia en el cuadro 31, la variedad de guía *Round Zucchini* es diferente de la variedad *Round Zucchini* de semilla sin testa en peso de fruto, ancho de fruto, grosor de pulpa, en altura de planta, peso de fruto, ancho de fruto, grosor de pulpa, y ancho de semilla; y de la variedad *Gray zucchini* en altura de planta, alto de fruto, grosor de pedúnculo y grosor de pulpa.

Cuadro 31. Comparación de descriptores cuantitativos de la var. de guía *Round Zucchini* con dos variedades de referencia del programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH.

Descriptores	<i>Round Z. s/t</i> guía	Nivel	<i>Round s/t</i>	Nivel	<i>Gray s/t</i>	Nivel
Altura de planta (cm)	197.63	Grande	195.03	Grande	88.43	Media
Alto de fruto (cm)	14.99	Medio	12.79	Medio	26.13	Grande
Ancho de fruto (cm)	14.60	Medio	10.31	Medio	13.13	Medio
Grosor de pedúnculo (cm)	2.70	Delgado			2.09	Delgado
Grosor de pulpa (cm)	1.60	Delgada	1.28	Delgada	1.98	Delgada
Peso de fruto (kg)	1.41	Chico	0.78	Chico	1.71	Chico
Número de semillas/fruto	315	Medio	274	Chico	378	Medio
Peso de 100 semillas (g)	16.50					
Largo de semilla (cm)	1.58	Chico	1.59	Chico	1.62	Chico
Ancho de semilla (cm)	0.80	Chico	0.66	Chico	0.80	Chico

Con base en los resultados de los 27 descriptores cualitativos (Cuadro 32), se determina que la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa, es diferente de la variedad *Round Zucchini* en grado de ramificación (C6), presencia de lunares en el fruto (C57), color de la pulpa (C74) y nudo en el que aparece la primera flor femenina (C82). Es diferente de la variedad *Gray Zucchini* de semilla sin testa en porte de planta (4), longitud del fruto (C31.4), presencia de lunares en el fruto (C57), color de la pulpa (C74) y nudo en el que aparece la primera flor femenina (C82).

Cuadro 32. Comparación de descriptores cualitativos de la var. de guía *Round Zucchini* con dos variedades de referencia del programa de Mejoramiento Genético de calabazas de la UACH.

Descriptores	Round Z. guía	s/t	<i>Round zucchini</i> s/t	<i>Gray zucchini</i> s/t
C4: Porte de planta	Guía		Guía	Guía corta
C5: Ramificación	Presente		Presente	Presente
C6: Grado de ramificación	Medio		Fuerte	Medio
C8: Color de tallo	Verde oscuro			
C10: Jaspeado del tallo				
C12: Tamaño del limbo	Medio			
C13: Incisiones en el limbo	Profundas		Profundas	
C15: Manchas plateadas en el limbo	Ausentes			
C27: Color principal de la epidermis	Verde			
C29: Intensidad del color verde de la epidermis del fruto joven	Claro			
C31.4: Longitud del fruto (solo para Variedades tipo zucchini)	Medio		Medio	Largo
C45: Extremo distal del fruto (solo para variedades zucchini)	Redondeado			
C46: Acanaladuras en el fruto	Ausentes			
C47: Profundidad de las acanaladuras en el fruto				
C55: Color de las rayas en las acanaladuras del fruto				
C57: Lunares en el fruto	Presentes		Ausentes	Ausentes
C58: Tamaño de los lunares principales del Fruto	Pequeños			
C64: tamaño de la cicatriz floral del fruto	Pequeña		Pequeña	Pequeña
C68: Jaspeado del pedúnculo	Ausente			
C69: Color principal de la epidermis del fruto maduro	Verde		Verde	Verde
C74: Color de la pulpa	Naranja		Amarilla	Blanca
C77: Tamaño de la semilla	Pequeña		Pequeña	Pequeña
C78: Forma de la semilla	Elíptica			
C79: Cáscara de la semilla	Ausente		Ausente	Ausente
C81: Color de la cáscara				
C82: Nudo en que aparece la primer flor Femenina	Doce		Once	Ocho

El examen de distinción de la variedad de Calabaza de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa con respecto a las variedades de referencia, realizado mediante los descriptores cuantitativos y cualitativos antes descritos permiten establecer que la variedad de guía *Round Zucchini* es distinta en uno o más caracteres a las variedades *Round* y *Gray zucchini* ambas productoras de semilla sin testa, cumpliéndose así el

requisito para diferenciar e identificar una nueva variedad y en consecuencia poder registrarla, multiplicarla, comercializarla y protegerla.

4.7.7. Examen de homogeneidad de la variedad de guía *Round Zucchini* semilla s/t

4.7.7.1. Análisis de los estadísticos descriptivos en caracteres cuantitativos

Con base en los resultados de los estadísticos descriptivos de caracteres cuantitativos (Cuadro 30), en particular los descriptores peso de fruto, alto y ancho de fruto, grosor y longitud de pedúnculo, grosor de pulpa, peso de semilla, ancho de semilla y diámetro de la cavidad del fruto presentaron coeficientes de variación altos (mayores de 10 %). Dichos resultados confirman que los caracteres cuantitativos son bastante influenciados por el ambiente (CIAT, 1983). Mientras que número de costillas en el fruto y largo de semilla presentaron valores bajos de coeficiente de variación (menores del 10 %) por lo que se recomienda emplearlos en la descripción varietal.

4.7.7.2. Análisis de las frecuencias de los descriptores cualitativos

Con base en las frecuencias de los descriptores cualitativos (Cuadro 29), se observa que zarcillos bien desarrollados, color del pedúnculo, estructura fibrosa de la pulpa, presentan frecuencias de 100 % en la población, lo que indica que son descriptores poco influenciados por el ambiente y se pueden considerar como representativos de la variedad de guía *Round Zucchini*. Otros descriptores que presentaron frecuencias altas (mayores de 70 %) en la población son: forma transversal del pedúnculo y sabor de pulpa, los cuáles también pueden ser considerados como criterios adicionales para diferenciar a la variedad.

4.7.8. Análisis de estabilidad de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla s/t

El análisis de la variedad ha permitido mostrar que es nueva, diferente y uniforme. Para ello se usó una descripción varietal basada en caracteres cualitativos y cuantitativos. El último requisito sobre estabilidad no fue posible determinarlo en este estudio, ya que son necesarios varios ciclos de multiplicación de semilla para cuantificar si una variedad es estable en la mayoría de sus descriptores morfológicos. La UPOV (2000) considera que un material que haya demostrado ser homogéneo, también puede ser considerado como estable.

4.7.9. Mantenimiento varietal de la var. de guía *Round Zucchini* semilla sin testa

El mantenimiento varietal se refiere a los procedimientos de manejo de la semilla categoría original que permiten conservar su identidad y pureza genética (Peske *et al.*, 1999), ya que es requisito para la inscripción en el catálogo de variedades factibles de certificación. En el mantenimiento se debe considerar la estructura genotípica de la variedad a multiplicar, para el caso de calabaza que es una especie alógama se tiene mayor grado de variación por lo que en este caso se sugiere mantenerla por el método de compuestos masales, para esto se realizó una mezcla balanceada de semilla de plantas caracterizadas en campo provenientes de semilla que se obtuvo por incrementos bajo condiciones de invernadero y que corresponden por su constitución genética a la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa, con las cuáles se integró la semilla categoría original y de esta mezcla balanceada se sugiere conservar el 50 % (reserva estratégica) y el resto destinarlo a mantenimiento e incremento de la variedad. El lote debe ser uniforme, con riego y de preferencia no debe haberse sembrado con ningún tipo de calabaza en los dos ciclos anteriores. Otro aspecto muy

importante y que no debe olvidarse nunca, es el aislamiento en tiempo y espacio (al menos 3 km) para evitar contaminaciones por abejas con otras variedades.

Uno de los requisitos del registro nacional de variedades, además de que la variedad sea nueva, distinta, homogénea y estable, es indicar las áreas de adaptación recomendadas para el establecimiento de la misma y su valor agrícola (SNICS, 2001). En este caso, son los ciclos de primavera (riego) en los Valles Altos, Mesa Central y el Bajío; mientras que en los ciclos de invierno en el Noroeste y Noreste del país. Por tal motivo, se presentan resultados de características de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa comparada con tres variedades del programa de Mejoramiento Genético de Calabazas de la UACH (Cuadro 33).

Cuadro 33. Comparación de algunas características de la variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa con variedades de calabaza (*Cucurbita pepo* L.).

Variedad	Días a floración	Días a cosecha	Rendimiento semilla (t ha ⁻¹)*	Rendimiento de fruto maduro (t ha ⁻¹)
<i>Round Zucchini</i> s/t de guía	66	125	1.50	41.95
<i>Gray Zucchini</i> s/t	56	122	1.60	66.33
Fitomex stg	58	124	1.93	20.40
<i>Zucchini</i> 'Tala'	52	110	1.12	22.27

Fuente: Villegas 2003. *Se refiere al peso de semilla húmeda recién extraída del fruto.

4.7.10. Correlaciones fenotípicas

Las correlaciones mas sobresalientes en la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa fueron: peso de fruto (PFR) se asoció negativa y significativamente con grosor de pulpa (-0.37*) y ancho de semilla (-0.44*) (Cuadro 34) indicando que frutos más pesados presentan menor grosor de pulpa y ancho de semilla. Ancho de fruto (AFR) se

correlacionó positivamente con grosor de pedúnculo (0.37*) y negativamente con ancho de semilla (-0.32*) lo anterior muestra que frutos más anchos presentan pedúnculo más grueso y menor ancho de semilla. Largo de fruto (LFR) se asoció positivamente con grosor de pedúnculo (0.44*) y longitud de pedúnculo (0.36*) por lo que frutos mas largos tienen pedúnculo más grueso y largo. Longitud de pedúnculo (LPE) se correlacionó negativamente con peso de semilla (-0.34*) lo que indica que frutos con pedúnculo más largo tienen menor peso de semilla. Peso de semilla (PSE) se asoció positivamente con ancho de semilla (0.39*) y diámetro de la cavidad del fruto (0.33*), además ancho de semilla (ASE) se correlacionó positivamente con el diámetro de la cavidad del fruto (0.42*) indicando que frutos que presentan mayor diámetro de la cavidad del fruto tendrán semilla más ancha y mayor peso de semilla.

Cuadro 34. Correlaciones fenotípicas de 10 caracteres en la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa. Chapingo, México. 2004.

FV	AFR	LFR	GPE	LPE	NCO	GPU	PSE	LSE	ASE	DCF
PFR	0.30	0.27	0.25	0.04	-0.09	-0.36*	-0.25	-0.27	-0.45*	-0.01
AFR		0.29	0.37*	-0.17	-0.16	-0.10	-0.15	-0.24	-0.32*	-0.09
LFR			0.44*	0.36*	-0.19	0.18	-0.24	-0.20	-0.24	0.14
GPE				-0.06	-0.05	0.29	-0.13	-0.02	-0.26	0.03
LPE					-0.27	0.04	-0.35*	-0.08	-0.18	-0.28
NCO						0.19	0.08	0.17	0.22	-0.09
GPU							0.11	0.33*	0.25	0.26
PSE								0.08	0.39*	0.34*
LSE									0.35*	0.24
ASE										0.41*

FV: Fuente de variación, **PFR:** Peso de fruto (g), **AFR:** Ancho de fruto (cm), **LFR:** Largo de fruto (cm), **GPE:** Grosor de pedúnculo (cm), **LPE:** Largo de pedúnculo (cm), **NCO:** Número de costillas, **GPU:** Grosor de pulpa (cm), **PSE:** Peso de semilla (g), **LSE:** Largo de semilla (cm), **ASE:** Ancho de semilla (cm), **DCF:** Diámetro de la cavidad del fruto (cm).

4.7.11. Resumen de la caracterización de la variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa

1. Fruto costillado de color verde oscuro, presencia de zarcillos desarrollados, hoja con incisiones profundas, tallo de color verde oscuro, semilla sin testa lisa y pellejuda son algunas de las características de esta variedad.
2. Tarda 125 días de siembra a madurez fisiológica.
3. El fruto pesa 1415.98 ± 204.87 g, con un ancho y largo de 14.60 y 14.99 cm, respectivamente.
4. El peso de 100 semillas es de 16.5 g, lo que equivale a 6 semillas por gramo.
5. La correlación negativa y significativamente mas sobresaliente fue peso de fruto (PFR) con grosor de pulpa y ancho de semilla (-0.37^* y -0.44^* , respectivamente).

V. CONCLUSIONES

Del incremento *in vitro* y aclimatización de las plántulas

- La tasa de multiplicación promedio de la variedad *Round zucchini* productora de semilla sin testa fue de 3.2 brotes por subcultivo cada 22 ± 2 días, empleando el medio básico de cultivo MS adicionado con $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de 6-Bencilaminopurina (BAP), mientras que la tasa de multiplicación de la variedad 'Brujita' fue 2.7 brotes.
- Durante el proceso de aclimatización se tuvo una eficiencia del 90 % de plántulas que sobrevivieron en la variedad 'Brujita', y de 76.62 % en la variedad *Round Zucchini* productora de semilla sin testa en un lapso de 20 días. Al trasplantarlas en tezontle como sustrato bajo invernadero se tuvo una eficiencia del 55 % de plantas que sobrevivieron de la variedad 'Brujita' y 48 % de la variedad *Round Zucchini*.
- Partiendo originalmente de cinco semillas de ambas variedades fue posible obtener 118 y 126 plantas de la variedad *Round Zucchini* semilla sin testa y 'Brujita', respectivamente; en un lapso de cinco meses, situación que no se hubiese podido lograr sembrando estas mismas semillas directamente en campo. Demostrando el apoyo que proporciona la técnica de micropropagación *in vitro* cuando se dispone de poca semilla básica al incremento de la misma.

De la caracterización en campo

- Las características sobresalientes de la variedad 'Brujita' fueron: planta arbustiva con tallos angulares, veinte entrenudos separados 3.13 cm, cinco ramas primarias, presenta el tallo y pedúnculo jaspeado, 60 días a floración y 110 a madurez fisiológica, aparición de la primera flor femenina en el sexto nudo de la guía principal, cambio de coloración del fruto a naranja a los 35 días postantesis, 18 acanaladuras en el fruto, peso de 1839 g, de forma elíptica transversal ancha, con cicatriz floral grande, semilla color crema en toda su superficie, 404 semillas por fruto, peso de 100 semillas 13 g, rendimiento de fruto maduro ($54.48 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) y semilla ($1410 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$).
- La variedad de guía corta *Round Zucchini* de semilla sin testa presenta tallos angulares de color verde claro, 27 entrenudos separados 4.45 cm, 64 días a floración y 123 a madurez fisiológica, aparición de la primera flor femenina en el noveno nudo de la guía principal, fruto liso de color verde oscuro, pesa 1235 g, semilla lisa color verde marrón, 296 semillas por fruto, peso de 100 semillas 15 g, rendimiento de fruto maduro ($36.61 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) y semilla ($1330 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$).
- La variedad de guía *Round Zucchini* de semilla sin testa presenta treinta y cuatro entrenudos separados 5.69 cm, 66 días a floración y 125 a madurez fisiológica, aparición de la primera flor femenina en el doceavo nudo de la guía principal, fruto color verde oscuro costillado, pesa 1415 g, semilla lisa (55%) y pellejuda (45%), peso de 100 semillas 16.5 g, rendimiento de fruto maduro ($41.95 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) y semilla ($1509.89 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$).

VI. LITERATURA CITADA

- Ammirato, P. V. 1986. Control and expression of morphogenesis in culture. *In*: Plant tissue culture and its agricultural applications. Withers, L. A. and P. G. Alderson (ed.) Butterwoths. London. pp:23-45.
- Ammirato, P.V.; Evans D, R.; Sharp W, R.; and Bajaj, Y. P. S. 1990. Handbook of plant cell culture, vol. 5: ornamental species. McGraw-Hill. New York, USA. 833 p.
- AOSCA (Association of official Seed Certifying Agencies). 1997. Operational Procedures of the AOSCA. Ed. AOSCA. U.S.A. 114 p.
- Bautista R., F. 2004. Selección y multiplicación *in vitro* calabazas (*Cucurbita* spp.) resistentes a herbicidas usados en maíz. Tesis de Maestro en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 63 p.
- Bhirman, R. K.; G. Laublin and M. Cappadocia. 1994. Genetic control of *in vitro* shoot regeneration from leaf explants *In*: *Solanum chacoense* Bitt. Theor. Appl. Genet. 88:535-540.
- Brainerd, K.E., and L.H. Fuchigami. 1981. Acclimatization of aseptically cultured apple plants to low relative humidity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106:515-518.
- Casarrubias G., M. y Delgado M., M. 1998. Principios de Biotecnología: Cultivo de Tejidos Vegetales. DGETA. 173 p.
- CIAT. 1983. Metodología para obtener semilla de buena calidad. Cali, Colombia. 198 p.
- Conger, B. V. 1981. Cloning agricultural plants via *in vitro* techniques. Ed. CRC Press, Inc. Florida. 273 p.

- Curtis L., C. 1948. The use the naked seed in *Cucurbita pepo* L. as a source of high quality liquid fat, as a high analisys protein, as a new confection, and as a sandwich spread. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 52:403-406.
- Cuttler H, C.; and Whitaker T, W. 1961. History and Distribution of the Cucurbits in Americas. Amer. Antiquity 26:469-485.
- Davies, P. J. 1995. Plant hormones, physiology, biochemistry and molecular biology. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 797 p.
- García, M., E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 4ta edición. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, D. F. 219 p.
- Henry, Y. P.; Vain and J. de Buyser. 1994. Genetic analysis of *in vitro* plant tissue culture responses and regeneration capacities. Euphytica 79:45-58.
- Kelly A., F. 1988. Seed Production of Agricultural Crops. Ed. Longman Scientific & Technical. New York. U.S.A. 226 p.
- Krikorian, A. D. 1995. Hormones in tissue culture and micropropagation. In: Plant hormones, physiology, biochemistry and molecular biology. Davies, P. J. (ed). Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 797 p.
- Lee C., W. and Thomas, J. C. 1985. Tissue culture propagation of buffalo gourd. HortScience, 20:218-219.
- León J., 1987. Botánica de los cultivos tropicales. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. Segunda Edición. 445 p.
- Lira S., R. 1995. Estudios taxonómicos y Ecogeográficos de las Cucurbitaceas Latinoamericanas de importancia económica. IPGRI. Roma, Italia. 281 p.

- Litz, R. E. y R. L. Jarret. 1991. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos: embriogénesis somática y organogénesis. *In*: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicación. Roca, W. M. y L. A. Mroginski (ed). CIAT. Cali, Colombia. pp 143-172.
- Luna C., A. 1999. Caracterización agronómica de una nueva variedad de calabaza de guía (*Cucurbita pepo* L.) productora de semilla sin testa, en Atlatahucan, Morelos. México. Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 52 p.
- Lindon, R. F. 1990. Plant development: the cellular basis. UNWIN HYMAN, Boston. 320 p.
- McDonald M., B.; y W. D. Pardee. 1985. The role of seed certification in the seed industry. CSSA Special Publication N° 10. Madison, Wisconsin, USA. 48 p.
- Martínez M, A.; García M, F. 1998. Descripción agronómica de colectas de calabazas (*Cucurbita pepo* L. *C. moschata*, *C. argyrosperma*) criollas. Tesis de Licenciatura. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 83 p.
- Martínez J., J.; W. A. Warid, J. M. Loaiza. 1996. Improvement of naked seed squash, *Cucurbita pepo* L., in Sonora, Mexico; *in*: M.L. Gómez-Guillamón, C. Soria, J. Cuartero, J.A. Torés and R. Fernández-Muñoz, eds., *Cucurbits Towards 2000. Proceedings of the 6th Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding*, pp 66-71. Gráficas Axarquía, Málaga.
- Montes H., S. 1991. Calabazas (*Cucurbita* spp.). *In*: Avances en el estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. R. Ortega, P., G. Palomino, H., F. Castillo, G., V. A. González, H. Y M. Livera M. (eds). Sociedad Mexicana de Fitogenética. pp. 239-250.

- Montoya H, L. M. 1991. Cultivo de Tejidos Vegetales. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 77 p.
- Muñoz G.; G. Giraldo.; J. Fernández de Soto. 1993. Descriptores varietales: arroz, frijol, maíz y sorgo. Pub. N° 177 CIAT. Cali, Colombia. 168 p.
- Muñoz A., G. 1983. Descripción varietal en arroz. Tesis de Maestro en Ciencias. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. 105 p.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant. Physiol. 15:473-497.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Annu. Rev. Plant. Physiol. 25:135-166.
- Murillo, R. E. y Gil, V. I. 2002. Manual de prácticas de la materia Introducción a la Biotecnología Vegetal. Departamento de Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 17 p.
- Nuez F., J.; Ruiz, J.; Valcárcel V.; Fernández de C., P. 2000. Colección de semillas de calabaza del Centro de Conservación y Mejora de la Agrobiodiversidad Valenciana. Monografías INIA. Agrícola No. 4. Madrid, España. 158 p.
- Ortiz S, C. A. 1984. Elementos de Agrometeorología Cuantitativa con Aplicaciones en la República Mexicana. Departamento de Suelos, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 235 p.
- Paris H., S. 2000. Segregation distortion in *Cucurbita pepo* L. Proc. Cucurbitaceae 2000. Eds. N. Katzir & H. S. Paris. Acta Horticulturae. 510. ISHS. 2000.
- Pérez G., M.; F. Márquez S. y A. Peña L. 1997. Mejoramiento genético de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 380 p.

- Peske, S. T. y A. C. S. Albuquerque Barros. 1999. Primer curso de postgrado en tecnología de semillas por tutoría a distancia. Universidad Federal de Pelotas (UFPEL) Brasil y Asociación Nacional de Productores de Semillas (ANAPROSE). Uruguay. 61 p.
- Pierik R, L. M. 1990. Cultivo *in vitro* de las plantas superiores. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 326 p.
- Pink D, A. C. and Walkey D, G. A. 1984. Rapid propagation of *Cucurbita pepo* L. By culture of meristems tips. Sci. Hortic. (Amst.), 24:107-114.
- Poey D., F. 1980. La pureza y la multiplicación inicial de semillas mejoradas. Conferencia presentada en el curso avanzado sobre producción de semilla genética y básica del 3 al 25 de Noviembre. CIAT, Cali Colombia. Mimeografiado 6 p.
- Poey D., F. 1982. La descripción varietal: fundamentos para el control de la pureza genética de las semillas. Conferencia presentada en el curso avanzado sobre producción de semilla básica del 27 de Abril al 28 de Mayo. CIAT. Cali, Colombia. Mimeografiado. 41 p.
- Powell, W. and P. D. S. Caligari. 1987. The in vitro genetics of barley (*Hordeum vulgare* L.): detection and analysis de reciprocal differences for culture response to 2,4 dichlorophenoxyacetic acid. Heredity 59:293-299.
- Ramos M., C. 2000. Propiedades físicas y químicas de los suelos del CAE Chapingo tablas: San Martín y Xaltepa. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 129 p.
- Read, P.E. and C.D. Fellman. 1985. Accelerating acclimatization of *in vitro* propagated woody ornamentals. Acta Horticulturae. 166:15-20.

- Reyes T., S. 1976. Estudio de Algunos Cambios Morfológicos y Fisiológicos Ocurridos Bajo Domesticación en *Cucurbita* spp. Colegio de Postgraduados. Tesis de Maestría con Especialidad en Genética. ENA. Chapingo, México.
- Rivas A., A. O. 1988. Identidad varietal en maíz en relación con la estabilidad de diversos caracteres. Tesis de Maestro en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México. 112 p.
- Robinson R. W.; Munger H. H.; Whitaker T. W.; Bohn G. W.: 1976. Genes of the Cucurbitaceae. HortScience 11(6):554-568.
- Robles G, M. M. 1993. Propagación de banano por cultivo de tejidos. CIPAC-INIFAP-SARH. México.
- SAGARPA. 2001. Anuario estadístico de la producción agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Centro de Estadística Agropecuaria. Secretaría de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural. Tomo II. 765 p.
- Salisbury, F. B. y C. W. Ross. 1994. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica, México. 759 p.
- Segura, J. 1993. Morfogénesis *in vitro*. In: Fisiología y Bioquímica Vegetal. Azcón-Bieto, J. y M. Talón (ed). Ed. Interamericana. Nueva York. 581 p.
- Schroeder, C. A. 1968. Adventive embryogenesis in fruit pericarp tissue *in vitro*. Bot. Gaz. 129:374-376.
- Schaffer A., A.; Paris H. S.; Ascarelli M. I. 1986. Carotenoid and Starch Content of Near-isogenic B⁺B⁺ and BB Genotypes of Cucurbita. J. Amer. Hort. Sci. 111(5):780-783.

- Shifriss, O. 1949. A developmental approach to the genetics on fruit color in *Cucurbita pepo* L. J. Heredity 40:233-241.
- Shifriss, O. 1981. Origin, Expression, and Significance of Gene *B* in *Cucurbita pepo* L. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 106(2):220-232.
- Smith J., S. C.; y J. C. Register. 1998. Genetic purity and testing technologies for seed quality: a company perspective. Seed Science Research 8:285-293.
- Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. Proceedings International Congress on Soilless Culture 6:633-650.
- UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). 1979. Introducción general revisada a los principios rectores para la ejecución del examen de los caracteres distintivos, la homogeneidad y la estabilidad de las obtenciones vegetales (TG/1/2). 10 p.
- UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). 2000. List of TGP Documents and Latest Issue Dates (TC/36/8). Technical committee. April 3 to 5. Thirty-Sixth Session. Geneva, Swiss. 165 p.
- UPOV (International Union for the Protection of New Varieties of Plants). 2000. Document Complementing the General Introduction to the Assessment Of Distinctness, Uniformity and Stability in New Varieties Of Plants (TC/36/7). April 3 to 5. Thirty-Sixth Session. Geneva, Swiss. 165 p.
- Vasil, I. K. and Thorpe, T. A. 1994. Plant cell and tissue culture. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. 593 p.
- Vives de la Torre, J. 2000. Caracterización agronómica de la variedad de calabaza de guía "Fitomex stg" (*Cucurbita pepo* L.) productora de semilla sin testa. Tesis de

- Wehner, T. C. and Locy, R. D. 1981. *In vitro* adventitious shoot and root formation of cultivars and lines of *Cucumis sativus* L. HortScience 16:759-760.
- Whitaker T., W.; Davis G. N. 1962. Cucurbits World Crops. Book Interscience Publisher, Inc. New York.
- Whitaker T., W.; Robinson R. W. 1986. Squash breeding vegetable crops. Avi. Publishing Company. Inc. Westport, Connecticut USA. Pp 209-242.
- Winkler, J. 2000. Breeding of hull-less seeded pumpkins (*Cucurbita pepo*) for the use of the oil. Proc. Cucurbitaceae 2000. Eds. N. Katzir & H. S. Paris. Acta Horticulturae. 510. ISHS 2000.
- Zhang, Ch. And Ch. Qifeng. 1993. Genetic studies of rice (*Oryza sativa* L.) anther culture response. Plant Cell Tissue and Organ Culture 34:177-182.