LOS PARIENTES SILVESTRES DEL CHILE (*CAPSICUM* spp.)

COMO RECURSOS GENÉTICOS

SERGIO HERNÁNDEZ-VERDUGO^{1, 2}, RAMÓN G. GUEVARA-GONZÁLEZ³, RAFAEL F. RIVERA-BUSTAMANTE³, CARLOS VÁZQUEZ-YANES² Y KEN OYAMA²

¹Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa, Km 27, carretera Culiacán-El Dorado, Sinaloa, México.

²Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70-275, Ciudad Universitaria, 04510. México D.F. México. akoyama@ate.oikos.unam.mx. ³Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Unidad Irapuato. Apartado Postal 629, 36500 Irapuato, Guanajuato, México. rrivera@irapuato.ira.cinvestav.mx

Resumen. Se presentan resultados sobre la variabilidad genética, morfológica, en la capacidad de germinación y de resistencia al geminivirus PHV (virus huasteco del chile) de poblaciones silvestres de *Capsicum annuum* colectadas en el estado de Sinaloa para ilustrar la importancia de estudiar los parientes silvestres de las plantas cultivadas. El estudio de resistencia al geminivirus PHV realizado con el método biobalístico, mostró una elevada variabilidad entre las poblaciones con respecto a este carácter. Algunas poblaciones mostraron niveles muy bajos de síntomas de la enfermedad y son muy prometedoras para estudios posteriores sobre resistencia a virosis. El estudio de polimorfismo enzimático mostró que las poblaciones silvestres de *C. annuum* mantienen una elevada variabilidad genética (intervalo de heterocigosis de 0.255 a 0.325). Todas las poblaciones silvestres de *C. annuum* mostraron una variabilidad elevada en diez de once caracteres morfológicos estudiados. En la mayoría de las pruebas de germinación hubo una gran variabilidad de respuesta entre las poblaciones estudiadas. Todas las poblaciones silvestres de *C. annuum* no germinaron en condiciones de oscuridad, lo cual sugiere que poseen mecanismos de latencia. No se encontró una relación entre la capacidad de germinación de las poblaciones y sus factores climáticos. En conclusión, los parientes silvestres del chile mantienen elevados niveles de variabilidad genética, morfológica, en su capacidad de germinación, y poseen genes potencialmente útiles, que los hace un recurso genético valioso que hay que estudiar y conservar.

Palabras clave: *C. annuum*, chile, heterocigosis, germinación, geminivirus PHV, morfología, resistencia a patógenos, recursos genéticos.

Abstract: Results of studies on variation of genetic, morphological, germination and resistance to PHV (pepper huasteco virus) geminivirus of wild populations of *C. annuum* collected in Sinaloa state are presented in order to show the importance of studying the wild relatives of cultivated plants. The study on resistance to PHV geminivirus with the biolistic method showed high variability between populations in this trait. Some populations showed low levels of disease symptoms, and they are very promising for further studies on virus resistance. The isozymes study showed that all the populations maintain high genetic variability (heterozygosity ranged between 0.255 to 0.325). All the wild *C. annuum* populations showed high variability in ten of eleven morphological traits analyzed. Most of the germination tests showed a great variability in response among the populations studied. All the wild *C. annuum* populations did not germinate under dark conditions, suggesting the existence of seed dormancy. In conclusion, wild relatives of pepper maintain high levels of variability of genetic, morphological and germination capacity, and they have potentially useful genes; they are valuable genetic resources that we need to study and to preserve.

Key words: *C. annuum*, pepper, heterozygosity, germination, PHV geminivirus, resistance to pathogens, genetic resources.

Los recursos genéticos presentes en los parientes silvestres de las plantas cultivadas constituyen un acervo de genes que puede ayudar a resolver problemas agrícolas, tales como tolerancia o resistencia a plagas y enfermedades, y aumentar la calidad y can-

tidad de la producción (Harlan, 1976; Stalker, 1980; Burdon y Jarosz, 1989).

A partir de la fundación del Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI-International Plant Genetic Resources Institute) en 1974 (antes

IBPGR-International Board Plant Genetic Resources) se ha promovido en todo el mundo la colección y conservación de germoplasma de los principales cultivos y sus parientes silvestres.

En la actualidad es indispensable el establecimiento de estrategias sobre conservación, uso y manejo de los recursos genéticos, la reconstrucción de los mapas de origen o rutas de colecta, el estudio y la comprensión de los patrones ecogeográficos de la variación biológica (Jain, 1994; Damania, 1996).

En México, existen poblaciones de plantas silvestres que están estrechamente relacionadas con plantas cultivadas de gran importancia económica y alimenticia que pueden contribuir a la solución de problemas presentes y futuros. Sin embargo, estos recursos genéticos están desaprovechados, han sido poco estudiados y se están perdiendo a un ritmo alarmante.

El género *Capsicum* (Solanaceae) está constituido por alrededor de 30 especies distribuidas desde el sur de los Estados Unidos hasta el norte de Argentina (Eshbaugh, 1980; Pickersgill, 1984). Su centro de origen es América del Sur con 22 especies endémicas (Hunziker, 1979). Del género han sido domesticadas *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens*.

En México se cultivan las especies *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens* (Pickersgill, 1984; Pozo-Campodónico et al., 1991). De éstas, *C. annuum* presenta una gran diversidad morfológica, es la más importante económicamente y se cultiva en todas las regiones agrícolas de México. A esta especie pertenecen los chiles "serranos", "jalapeños", "pasilla" y "morrón", entre otros. Las otras tres especies se cultivan en las regiones del centro y sureste del país. Se considera que *C. annuum* fue domesticada en México (Pickersgill, 1984) y posiblemente también *C. frutescens* (Loaiza-Figueroa et al., 1989).

Existen en México poblaciones silvestres de *C. annuum*, *C. frutescens* y de dos especies que no han sido utilizadas por el hombre: *C. ciliatum* y *C. lanceolatum*. *Capsicum ciliatum* se encuentra en casi toda la República Mexicana, con excepción del noroeste, mientras que *C. lanceolatum* ha sido reportada únicamente en los estados de Chiapas y Veracruz. *Capsicum frutescens* se encuentra distribuida en los estados del centro y sureste del país y *C. annuum* en todo el territorio nacional (S. Hernández-Verdugo et al., datos sin publicar).

Los recursos genéticos como fuente de resistencia a enfermedades

Una de las enfermedades más importantes de los últimos años en las principales regiones agrícolas del

Continente Americano son las virosis (geminivirus) transmitidas por la "mosquita blanca" (*Bemisia* spp.) (Polston y Anderson, 1997). Estas enfermedades se han convertido en un problema serio debido a que tienen un amplio espectro de infectación. Estos males atacan varios cultivos, entre los que están el tomate, el chile, el frijol, la lenteja y el tabaco, en cualquier etapa de su desarrollo, desde plántulas en invernadero hasta plantas en producción (Gallegos, 1978; Brown y Hine, 1984; Brown et al., 1986; Brown y Nelson, 1988; Brown et al., 1989).

Los geminivirus son un grupo de virus que infectan plantas y contienen genomas de una sola cadena de ADN. Éstos son clasificados en tres subgrupos de acuerdo al tipo de hospedero, el insecto vector y su organización genómica. El primer grupo está formado por geminivirus que infectan plantas monocotiledóneas, son transmitidos por algunas especies de homópteros y tienen una sola molécula individual de ADN (monopartitas). El segundo incluye geminivirus que infectan plantas dicotiledóneas, son transmitidos también por algunos homópteros y tienen un genoma monopartita. El tercer grupo contiene geminivirus que infectan plantas dicotiledóneas, son transmitidos por "mosquitas blancas" y tienen un genoma compuesto por dos moléculas circulares de ADN (bipartita) (Davies y Stanley, 1989; Marteli, 1992).

De 17 tipos de geminivirus reportados en el Continente Americano (Polston y Anderson, 1997), cinco han sido detectados en las regiones hortícolas de México (Torres-Pacheco et al., 1996; Polston y Anderson, 1997). Estos son: el chino del tomate, el virus del mosaico dorado del chile serrano, el virus del enchinamiento de la hoja del tomate de Sinaloa, el virus del chile de Texas o virus del chile jalapeño y el virus huasteco del chile.

El virus huasteco del chile (PHV) es un geminivirus que pertenece al subgrupo III, fue aislado por primera vez en Tamaulipas (Garzón-Tiznado et al., 1993) y posteriormente caracterizado a nivel molecular (Torres-Pacheco et al., 1993). Recientemente ha sido identificado mediante las técnicas de hibridización molecular "dot-blot" y amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en los estados de Sinaloa, Tamaulipas, Guanajuato y Quintana Roo, en México, y en el Sur de Texas, en Los Estados Unidos, lo cual indica la amplia distribución de este geminivirus (Torres-Pacheco et al., 1996). Los síntomas generalmente asociados al PHV son una distorsión foliar (patrones de mosaico, amarillamiento, enchinamiento y arrugamiento de las hojas), enanismo de las plantas y una fuerte disminución en la producción.

Debido a que sin excepción, todas las variedades comerciales de chile carecen de resistencia contra este

geminivirus, los agricultores han tratado de controlar a este patógeno mediante la aplicación de plaguicidas en contra de su vector, la mosquita blanca. Este método ha resultado inútil y contraproducente ya que ha incrementado los costos de producción de los cultivos hortícolas y la contaminación por plaguicidas en los valles agrícolas de México.

Para ilustrar la importancia de los parientes silvestres de las plantas cultivadas en estudios sobre resistencia a enfermedades virales en plantas de importancia económica, a continuación se presentan algunos resultados preliminares de un estudio con materiales silvestres de *C. annuum* del estado de Sinaloa.

Resistencia al geminivirus PHV

Dentro de un estudio general sobre variación genética de las poblaciones silvestres del Chile (*Capsicum* spp.) en México, se inició una investigación sobre los niveles de resistencia de los materiales silvestres a enfermedades virales producidas por el virus huasteco del Chile (PHV).

Este estudio consistió en una evaluación de los niveles de resistencia al PHV de trece poblaciones silvestres de *C. annuum* colectadas a lo largo de un gradiente latitudinal del estado de Sinaloa (cuadro 1). El método empleado para la inoculación de este

geminivirus fue el conocido como biobalística o bombardeo, en el que se incrusta el ADN viral adherido a partículas de tungsteno impulsadas a presión (Garzón-Tiznado *et al.*, 1993).

El ADN viral se obtuvo de plantas de Chile infectadas colectadas en el estado de Tamaulipas, México (Garzón-Tiznado *et al.*, 1993), mantenido en los plásmidos pIGV21 y pIGV22, conteniendo las partes A y B, ambos de aproximadamente 2.6 kb, del genoma del geminivirus PHV. El ADN de los plásmidos se extrajo siguiendo el método de Birnboim (1983), posteriormente se mezcló y se depositó en micropartículas de tungsteno de acuerdo a los procedimientos descritos por Klein *et al.* (1988) y Shark *et al.* (1991). Los detalles técnicos pueden consultarse en Garzón-Tiznado *et al.* (1993).

Este ensayo se realizó a nivel de plántulas y los síntomas de la enfermedad originada por el virus PHV se midieron en una escala propuesta por Williams (1988) para la cuantificación no métrica de fenotipos que presentan resistencia y susceptibilidad a patógenos. Para la caracterización de los síntomas se siguió, con ligeras modificaciones, el método utilizado por Torres-Pacheco (1997) para los síntomas del PHV en plantas de Chile (cuadro 2).

La mayoría de las plantas infectadas experimentalmente con el virus PHV desarrollaron los síntomas

Cuadro 1. Localización geográfica y características climatológicas de los sitios de colecta de las poblaciones de *Capsicum* del estado de Sinaloa.

Población	Latitud (Norte)	Longitud (Oeste)	Elevación (msnm)	Precipitación media anual (cm)	Temperatura media anual (°C)	Temperatura media del mes julio (°C)
Pajaritos (R)	26° 41'	108° 33'	200	705.1	25.5	29.2
Buyubampo (R, L)	26° 37'	108° 36'	195	709.2	24.4	30.1
Yecorato (R, G, M, L)	26° 29'	108° 15'	390	779.7	24.7	30.3
Tehuaco (R, M, L)	26° 20'	108° 45'	50	605.2	24.8	31.3
Texcalama (R, M, L)	25° 43'	108° 03'	380	883.7	24.4	29.3
El Reparo (R, G)	25° 31'	107° 51'	200	846.6	23.5	30.6
Compeal (L)	24° 57'	107° 21'	160	727.6	25.1	30.2
Agua Blanca (R, G, L)	24° 54'	107° 19'	80	671.4	24.9	29.2
Alcoyonqui (R, M, L)	24° 43'	107° 12'	85	846.6	24.5	29.4
Chapeteadó (R, M, L)	24° 29'	107° 26'	3	437.4	25.3	30.2
Tabalá (R, G, M, L)	24° 24'	107° 05'	50	958.4	24.3	28.0
Dimas (R, L)	23° 42'	106° 47'	25	861.2	25.2	28.9
Concordia (R, L)	23° 17'	106° 05'	22	830.0	24.5	29.0
Otates (R, G, M, L)	23° 02'	105° 55'	120	842.8	25.4	29.0
Walamo (L)	22° 57'	105° 45'	150	922.3	25.5	29.2

En las poblaciones, la R indica las utilizadas en los experimentos de resistencia; G, las poblaciones consideradas en los análisis de variabilidad genética; M, las poblaciones consideradas en el estudio de la variación morfológica, y L, las poblaciones utilizadas en los experimentos de germinación.

de la enfermedad, pero la severidad de los síntomas varió entre las poblaciones estudiadas (cuadro 3). En general, podemos distinguir cinco grupos de poblaciones de acuerdo a los niveles de expresión de los síntomas al PHV. La población "El Reparó" presenta los síntomas menos severos que el resto de las poblaciones, con el índice de enfermedad promedio de 1.0, con un rango de los índices de enfermedad de 0 a 5 y con un 20 % de plantas infectadas. Las poblaciones "Yecorato" y "Aguas Blancas" presentaron síntomas relativamente bajos, con índices de enfermedad promedio de 2.4 y 2.8 respectivamente, intervalos de 0 a 7 y 40 a 60 % de plantas infectadas. Las poblaciones "Dimas", "Otates", "Pajaritos" y "Buyubampo" presentaron síntomas con niveles intermedios, con índices de enfermedad promedio de 3.8, 4.2, 4.4 y 4.8, respectivamente, con intervalos de los índices de enfermedad de 0 a 8, y con 60 % de plantas infectadas. "Tabalá", "Tehueco" y "Texcalama" presentaron síntomas severos, con valores de índices de enfermedad cercanos a los del cultivar "Sonora Anaheim 66", y "Alcoyonqui" y "Chapeteado", con síntomas muy severos, con índices de enfermedad similares a los del cultivar "Sonora Anaheim 66".

En los experimentos realizados, se logró detectar una gran variabilidad en la resistencia o susceptibilidad al geminivirus PHV entre las poblaciones de *C. annuum*. Algunas poblaciones resultaron muy promotoras en la búsqueda de esta característica. En particular, la población "El Reparó" se distinguió del resto ya que sus síntomas fueron muy leves, con un índice promedio de enfermedad muy bajo. Además, "Yecorato" y "Aguas Blancas" presentaron síntomas relativamente bajos (cuadro 3). Este patrón de resis-

tencia se corroboró con inoculaciones del PHV mediante injertos de plantas infectadas a plantas sanas. Estos resultados son muy importantes ya que muestran que las poblaciones silvestres albergan una gran variabilidad genética en los niveles de resistencia y susceptibilidad a patógenos. Cabe destacar que no existe ningún reporte de resistencia en materiales silvestres o cultivados del Chile a este geminivirus. Existen evidencias de que los parientes silvestres de las plantas cultivadas han sido utilizados como fuente de resistencia hacia otros geminivirus tales como el virus del enchinamiento del tomate (TYLCV) (Zakay *et al.*, 1991) y del virus del mosaico amarillo del tomate (ToYMV) (Piven *et al.*, 1995).

Se considera que los niveles de variabilidad genética de las poblaciones pueden estar determinando los niveles de resistencia hacia los patógenos (Burdon y Jarosz, 1989). Sin embargo, análisis preliminares indican que los valores de heterocigosis estimados para cinco poblaciones del Chile del estado de Sinaloa (ver más adelante), no se correlacionaron con los valores promedio de los índices de virosis ($r^2 = 0.3831$; $P > 0.05$). Cabe destacar, que la población que presentó la mayor resistencia al PHV, "El Reparó", presentó el valor más alto de heterocigosis genética.

Estimación de la variabilidad de los recursos genéticos

Variabilidad genética

La importancia de la variabilidad genética para la permanencia y evolución de las poblaciones naturales ha sido ampliamente reconocida. La selección

Cuadro 2. Escala utilizada para la evaluación de los síntomas observados en las diferentes poblaciones de Chile infectadas con el geminivirus PHV.

Índice de enfermedad	Síntomas
0	Sin síntomas.
1	Arrugamiento leve de las hojas apicales y presencia de puntos ligeramente amarillos como de un milímetro de diámetro, sólo visible exponiendo las hojas a la luz.
2	Aparición de puntos ligeramente amarillos en grupos aislados en las hojas apicales.
3	Los grupos de puntos aislados empiezan a observarse como una red, preferentemente en la base de las hojas apicales.
4	La red es completamente visible.
5	Formación de protuberancias en forma de ínsulas en las partes medias de las hojas que manifestaron los primeros síntomas.
6	Las protuberancias empiezan a curvar las hojas ligeramente.
7	Las hojas curvadas se empiezan a distorsionar, dejando el envés de las mismas hacia fuera.
8	Las hojas se distorsionan completamente.
9	Las hojas de las plantas afectadas son de menor tamaño.

natural actúa en aquellas poblaciones donde sus individuos presentan diferencias entre sí, y cuando tales diferencias tienen una base genética y son heredables. Una población o especie con bajos niveles de variación genética, que vive en condiciones silvestres puede ser exitosa en un ambiente determinado, o estar en riesgo de extinguirse cuando estas condiciones se modifican. La fragmentación y la destrucción de los hábitats en los que se encuentran las poblaciones vegetales silvestres, constituyen una seria amenaza para los recursos genéticos, y hacen urgente el estudio y la estimación de la cantidad y los patrones de distribución de la variabilidad genética presente en las poblaciones silvestres de especies de plantas que actual o potencialmente son útiles para el hombre (Vida, 1994).

El conocimiento de los niveles de variabilidad genética y de sus patrones de distribución geográfica es el primer paso para la elaboración de estrategias de uso y manejo de los recursos genéticos presentes en los parientes silvestres de las plantas cultivadas. El uso de marcadores moleculares ha permitido estimar con mayor precisión los niveles de variabilidad genética mantenidos en las poblaciones naturales, así como los mecanismos que producen y mantienen esta variabilidad.

Las isoenzimas han sido utilizadas con éxito en los estudios para medir la variabilidad genética, la manera en que ésta se distribuye dentro y entre las poblaciones, los procesos evolutivos que la dirigen (e.g., Hamrick y Godt, 1990).

Para el caso de los parientes silvestres del Chile del estado de Sinaloa, se presentan los resultados preliminares de cinco poblaciones de *C. annuum* que cubren un gradiente latitudinal a lo largo del estado: "Yecorato" en la región norte, "El Reparo" en la centro-norte, "Aguas Blancas" en el centro, "Tabalá" en la centro-sur y "Otates" en el sur (cuadro 1).

Se empleó la técnica de electroforesis de almidón (e.g., Soltis y Soltis, 1989; Hillis y Moritz, 1990). Se utilizaron cuatro sistemas de corrimiento (Mitton *et al.*, 1979; Stuber *et al.* 1988), que resolvieron trece enzimas con 22 loci. Para obtener las frecuencias génicas y genotípicas, la heterocigosis observada y esperada, así como el número de alelos por locus y el porcentaje de loci polimórficos de cada población, se utilizó el programa estadístico Biosys (Swofford, 1989).

Todas las poblaciones de *C. annuum* mostraron elevados niveles de variabilidad genética, tanto en el número de alelos por locus, el porcentaje de loci polimórficos, como en los niveles de heterocigosis observada (cuadro 4). Las poblaciones de "El Reparo" y "Aguas Blancas" mostraron mayores niveles de variabilidad genética (heterocigosis observada de 0.325 y 0.322, respectivamente) que el resto de las poblaciones. Sin embargo, la heterocigosis observada entre las distintas poblaciones no fue estadísticamente diferente ($G_H = 0.13$; $P > 0.05$).

La elevada variabilidad genética obtenida en este estudio para las poblaciones silvestres de *C. annuum* difiere de los reportes previos de McLeod *et al.* (1983) y Loaiza-Figueroa *et al.* (1989). McLeod *et al.* (1983)

Cuadro 3. Índice de enfermedad y porcentaje de plantas con síntomas de poblaciones silvestres de *Capsicum* del estado de Sinaloa y del cultivar Sonora Anaheim 66 bombardeadas con el geminivirus PHV.

Población	Núm. de plantas		% de plantas infectadas	Índice de enfermedad	
	I	CS		Media	Intervalo
Pajaritos	5	3	60	4.4	0-8
Buyubampo	5	3	60	4.8	0-8
Yecorato	5	2	40	2.4	0-7
Tehuaco	5	5	100	5.8	5-7
Texcalama	2	2	100	5.5	5-6
El Reparo	5	1	20	1.0	0-5
Aguas Blancas	5	2	40	2.8	0-7
Alcoyonqui	5	4	80	6.2	0-8
Chapeteadó	5	4	80	6.2	0-9
Tabalá	5	4	80	5.0	0-7
Dimas	5	3	60	3.8	0-7
Concordia	5	4	80	5.8	0-8
Otates	5	3	60	4.2	0-8
Cultivar Sonora Anaheim 66	4	4	100	6.5	3-9

I = inoculadas, CS = con síntomas

reportan una heterocigosis promedio de 0.0117, un porcentaje promedio de loci polimórficos de 30.7, y 1.54 alelos por locus. Loaiza-Figueroa *et al.* (1989) encuentran que la variabilidad genética dentro de las poblaciones silvestres de *C. annum* y *C. frutescens*, medida en términos de heterocigosis, es de 0.025.

Las diferencias entre nuestros resultados y los de McLeod *et al.* (1983) y Loaiza-Figueroa *et al.* (1989) pueden deberse a que ellos analizaron material procedente de accesiones o bancos de germoplasma. Las plantas obtenidas a partir de lotes de semillas pueden proceder de una o pocas plantas madre, lo cual conduciría a subestimar los niveles de variabilidad presentes en las poblaciones naturales.

Los niveles de variabilidad genética encontrados en las poblaciones silvestres de *C. annum* del estado de Sinaloa coinciden con los reportados por Hamrick y Godt (1989) para plantas herbáceas y perennes, con una amplia distribución geográfica y dispersión de semillas por animales.

En este momento, se están realizando los análisis de polimorfismo enzimático para otras poblaciones distribuidas a lo largo del estado de Sinaloa. Es posible, por los resultados obtenidos hasta el momento, que estas poblaciones presenten patrones de variación distintos a los ya descritos, los cuales se correlacionarán a su vez, con los niveles de resistencia y susceptibilidad a enfermedades. Finalmente, es importante mencionar que, después de una revisión de la literatura sobre la biología del género *Capsicum* (S. Hernández-Verdugo, en prep.), no se encontró ningún trabajo en donde se documenten los niveles de variación genética en poblaciones silvestres.

Variabilidad morfológica

En la naturaleza es casi imposible encontrar dos in-

dividuos que sean idénticos. La regla es que los individuos de una población o en poblaciones distintas presenten diferencias en los caracteres fisiológicos o morfológicos, y estas diferencias se deben a factores genéticos y ambientales. Sin embargo, no todos los caracteres responden de igual manera a las presiones del ambiente.

Los estudios de la cantidad y patrones de la variabilidad morfológica expresada dentro y entre las poblaciones nos permite conocer las causas o mecanismos que actualmente pueden estar operando sobre las poblaciones naturales o que en el pasado hayan conducido a su diferenciación, considerando algún carácter en particular. El conocimiento de esta variabilidad morfológica y sus patrones de distribución geográfica, complementados con los estudios de la variabilidad genética, constituyen una base sólida en la elaboración de programas para el uso y conservación de los recursos genéticos.

Para ilustrar los niveles de variabilidad morfológica de las poblaciones silvestres del chile, se presentan los resultados de siete poblaciones distribuidas en un gradiente latitudinal de aproximadamente 600 km y en diferentes hábitats del estado de Sinaloa (cuadro 1).

Se tomaron medidas de once caracteres morfológicos de acuerdo a los criterios establecidos en la literatura especializada (Anónimo, 1995) de un promedio de 19 plantas por población (cuadro 5). En general, las poblaciones silvestres de *C. annum* del estado de Sinaloa presentan una gran variabilidad morfológica y se diferencian significativamente en todos los caracteres medidos, excepto en el diámetro del tallo (cuadro 5). Sin embargo, no existe una tendencia general clara, ya que los caracteres medidos se sobrelapan debido a que presentan una gran variación intrapoblacional (cuadro 5). Para ilustrar esto, se presenta la descripción de algunas poblaciones.

Cuadro 4. Variabilidad genética de poblaciones silvestres de *Capsicum* del estado de Sinaloa. El error estándar se muestra entre paréntesis.

Población	Tamaño promedio de muestra por locus	Núm. promedio de alelos por locus	Porcentaje de loci polimórficos*	Heterocigosis observada	Heterocigosis esperada
Yecorato	29.3 (2.5)	2.5 (0.2)	90.9	0.255 (0.043)	0.402 (0.041)
El Reparo	31.0 (2.0)	2.7 (0.1)	90.9	0.325 (0.047)	0.452 (0.042)
Aguas Blancas	33.1 (2.4)	2.7 (0.2)	90.9	0.322 (0.044)	0.466 (0.036)
Tabalá	30.9 (2.5)	2.5 (0.1)	90.9	0.263 (0.043)	0.414 (0.042)
Otates	29.0 (2.8)	2.6 (0.2)	90.9	0.315 (0.046)	0.433 (0.042)

* Un locus es considerado polimórfico si la frecuencia del alelo más común no excede de 0.95.

La población "Texcalama" se distingue de las demás por tener plantas de mayor altura, con frutos grandes, con un número mayor de semillas por fruto y con las semillas de mayor peso aunque con hojas de tamaño intermedio. "Chapeteado", por el contrario, es la población que tiene las plantas de menor altura, más angostas y con las hojas más pequeñas; sus frutos son de los más angostos y de un largo intermedio, aunque presentan un número muy similar de semillas por fruto a "Texcalama", pero de un peso intermedio.

Las plantas de "Yecorato" y "Otates" son las que tienen una mayor variación intrapoblacional y muchos de sus caracteres presentan valores promedio intermedios. En "Tehueco" se encontraron las plantas más altas y más anchas después de las de "Texcalama", sus frutos son de tamaño intermedio, pero es la población que tiene el menor número de semillas por fruto, pero de mayor peso.

La variabilidad morfológica encontrada entre las poblaciones de *C. annuum* del estado de Sinaloa fue elevada y las poblaciones se diferencian estadística-

mente para la mayoría de los caracteres analizados. Estas diferencias pueden correlacionarse, al menos parcialmente, con algunas características particulares de los ambientes en los que se encuentran las poblaciones. Por ejemplo, "Texcalama" que se caracteriza por tener las plantas más vigorosas, se encuentra en un lugar que recibe una de las mayores cantidades de precipitación. En cambio, "Chapeteado" es la población con plantas más pequeñas y está en el lugar que recibe en promedio la menor precipitación de todas las poblaciones. La correlación entre la precipitación promedio anual con el diámetro del tallo fue significativa ($r^2 = 0.823$; $P < 0.003$) lo cual puede indicar que algunas características vegetativas de las plantas relacionadas con su vigor están correlacionadas con la cantidad de agua disponible para su crecimiento.

La variabilidad morfológica de las poblaciones de *Capsicum* estudiadas hasta el momento, muestra un patrón de variación complejo que incluso con análisis multivariados no muestra tendencias claras que puedan ser útiles como marcadores morfológicos en el campo. Dada esta gran variación continua o cuanti-

Cuadro 5. Valores promedio de caracteres morfológicos medidos de poblaciones silvestres de *Capsicum* del estado de Sinaloa. Los errores estándares se presentan entre paréntesis.

Población	Altura de la planta (cm)	Ancho de la planta (cm)	Longitud del tallo (cm)	Diámetro del tallo (cm)	Ancho de la hoja (cm)	Largo de la hoja (cm)	Longitud del pedicelo (cm)	Ancho del fruto (mm)	Largo del fruto (mm)	Núm. de semillas/fruto	Peso de semilla (mg)
Yecorato	146 bc (±10.5)	140 ab (±11.2)	20 bc (±5.4)	1.7 a (±0.14)	3.3 ab (±0.15)	5.6 a (±0.22)	2.8 ab (±0.10)	5.5 bc (±0.01)	6.0 abcd (±0.02)	15ab (±1.03)	2.5 bc (±0.0001)
Tehueco	165 ab (±14.9)	150 ab (±15.9)	31 bc (±7.6)	1.4 a (±0.19)	2.6 bc (±0.21)	4.3 bc (±0.32)	2.8 ab (±0.14)	6.0 b (±0.02)	6.2 abc (±0.03)	11 bc (±1.78)	2.7 bc (±0.0001)
Texcalama	181 a (±11.1)	175 ab (±11.9)	61 a (±5.7)	1.7 a (±0.15)	2.4 cd (±0.16)	4.4 bc (±0.24)	2.3 bc (±0.11)	7.7 a (±0.01)	7.6 ab (±0.02)	18 ab (±1.10)	3.6 a (±0.0001)
Alcoyonqui	133 bc (±10.2)	140 ab (±10.9)	33 bc (±5.2)	1.6 ab (±0.13)	3.0 ab (±0.15)	5.0 ab (±0.22)	2.7 ab (±0.20)	5.4 bc (±0.01)	5.6 bcd (±0.02)	14 ab (±1.03)	1.9 cd (±0.0001)
Chapeteado	95 bc (±24.9)	68 bc (±26.6)	21 bc (±12.7)	1.1 a (±0.33)	1.4 d (±0.36)	3.5 bc (±0.53)	2.6 ab (±0.24)	5.4 bc (±0.02)	6.8 ab (±0.03)	17 ab (±1.78)	2.7 bc (±0.0002)
Tabalá	117 bc (±14.4)	141 ab (±15.4)	37 ab (±7.3)	1.7 a (±0.17)	2.4 cd (±0.21)	3.8 bc (±0.31)	2.4 ab (±0.14)	5.7 b (±0.0)	6.1 abc (±0.02)	12 bc (±1.26)	2.7 bc (±0.0002)
Otates	158 bc (±13.1)	137 ab (±14.0)	30 bc (±6.7)	1.8 a (±0.17)	2.4 cd (±0.19)	4.5 bc (±0.28)	2.4 ab (±0.13)	6.3 b (±0.01)	6.9ab (±0.02)	14 ab (±1.07)	2.2 cd (±0.0001)
F	3.6413	2.6213	5.3047	1.0336	7.2586	5.4834	2.5008	32.0457	13.2468	3.6349	16.2461
P	< 0.01	< 0.05	< 0.001	> 0.05	< 0.001	< 0.001	< 0.05	< 0.001	< 0.001	< 0.01	< 0.001

Dentro de cada columna, las medias seguidas con las mismas letras minúsculas no son significativamente diferentes ($P = 0.05$).

tativa, así como la varianza intrapoblacional asociada, sería muy interesante realizar estudios de genética cuantitativa (Falconer, 1981) con algunas de las poblaciones contrastantes para determinar con mayor precisión las varianzas asociadas intra e inter-poblacionalmente, así como las estimaciones de las heredabilidades de los caracteres de interés para el uso y manejo de esta especie. Sería también interesante efectuar experimentos en diferentes localidades que representen los ambientes más contrastantes del estado de Sinaloa para estimar la interacción genotipo-ambiente. Estos experimentos nos permitirían discernir la importancia relativa de la variabilidad genética y los efectos de las diferencias ambientales en las poblaciones de *C. annuum* hasta hoy estudiadas.

Variabilidad en la capacidad de germinación

La germinación de las plantas que se reproducen por semillas es un proceso de gran importancia en el establecimiento y sobrevivencia de las poblaciones naturales, que depende en parte de las condiciones de su hábitat y de otros aspectos de la historia de vida de la especie (Silvertown, 1981; Venable y Brown, 1988). Después de que una semilla ha germinado, las plántulas son sumamente vulnerables a los cambios ambientales y su destino depende de que estas condiciones le sean propicias para llegar a la madurez. Por esto, normalmente se considera que los mecanis-

mos que regulan la germinación están bajo fuertes presiones selectivas, y la variabilidad dentro y entre poblaciones de una misma especie, en este carácter, se debe a adaptaciones locales o regionales al clima o a condiciones específicas de su hábitat (Meyer y Kitchen, 1994; Meyer *et al.*, 1995; Meyer *et al.*, 1997).

Para el análisis de la capacidad de germinación de las plantas silvestres del chile, se analizaron las respuestas de catorce poblaciones silvestres de *C. annuum* del estado de Sinaloa, distribuidas a lo largo de un gradiente latitudinal de aproximadamente 600 km, en altitudes que van de los 3 a los 390 msnm (cuadro 1).

Para las pruebas de germinación de las semillas se hicieron varios ensayos experimentales. En este artículo se presentan únicamente los resultados de los siguientes tratamientos: (1) 12 h de luz y 12 h de oscuridad con temperatura constante a 25°C, como control, (2) 500 ppm de ácido giberélico, (3) temperatura fluctuante de 12/12 h a 25° - 35°C, y (4) oscuridad. En todos los tratamientos, excepto en el de temperatura variable se utilizó temperatura constante de 25°C. En todos los tratamientos, excepto en el de oscuridad total las semillas fueron puestas bajo 12 h luz y 12 h oscuridad.

Todas las poblaciones de *C. annuum* mostraron diferencias estadísticamente significativas en todas las pruebas de germinación, excepto en oscuridad, donde hubo muy poca o nula germinación (cuadro 6). En todos los tratamientos la variedad comercial "Jalape-

Cuadro 6. Porcentaje de germinación en cuatro tratamientos de poblaciones silvestres de *Capsicum* del estado de Sinaloa.

Población	Control	500 ppm de ácido giberélico	25-35° C	Oscuridad
Pajaritos	46 a	79 a	93 a	7 a
Buyubampo	3 c	44 abc	38 abcd	0 a
Yecorato	18 b	47 abc	28 bcde	2 a
Tehuaco	48 a	52 ab	49 abcd	0 a
Texcalama	5 c	58 ab	60 abc	0 a
Compeal	6 c	28 bc	8 cde	0 a
Aguas Blancas	1 c	57 ab	57 abc	0 a
Alcoyonqui	3 c	14 c	25 bcde	0 a
Chapeteadó	22 b	77 ab	66 abc	1 a
Tabalá	35 a	52 ab	52 abcd	0 a
Dimas	19 b	67 ab	74 ab	0 a
Concordia	0 c	32 bc	76 a	0 a
Otates	1 c	21 bc	48 abcd	1 a
Walamo	1 c	46 abc	75 ab	2 a
F	28.4414	8.9332	14.5730	1.6558
P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	> 0.05

Dentro de cada columna, las medias seguidas con las mismas letras minúsculas no son significativamente diferentes (P = 0.05).

ños" tuvo casi el 100% de germinación (datos no mostrados). En general, el tratamiento de 500 ppm de ácido giberélico y la temperatura fluctuante entre 25° y 35°C, elevan significativamente el porcentaje de germinación en todas las poblaciones. En cambio, en el tratamiento de oscuridad, no hay germinación.

Las comparaciones múltiples de las medias indican que en la prueba control se pueden distinguir tres grupos: uno con mayor germinación, formado por "Tehuaco", "Pajaritos" y "Tabalá", otro con germinación intermedia, constituido por "Chapeteado", "Dimas" y "Yecorato", y el resto de las poblaciones con baja germinación.

En 500 ppm de ácido giberélico, "Pajaritos" muestra la mayor capacidad de germinación, le siguen "Chapeteado", "Texcalama" y "Tehuaco"; posteriormente están el resto de poblaciones, con "Alcoyonqui" en el extremo inferior. Con temperatura fluctuante, nuevamente "Pajaritos" presenta una mayor germinación seguida de "Concordia", "Walamo" y "Otates" que presentan un nivel de germinación muy similar entre sí; les siguen el resto de las poblaciones, con "Compeal" en el nivel inferior.

La casi nula germinación de todas las poblaciones silvestres de *C. annuum*, a diferencia del cultivado utilizado como testigo, en oscuridad, nos indica que los primeros poseen mecanismos de latencia que les permiten regular su germinación, en función de las condiciones ambientales, propios de los parientes silvestres de las plantas cultivadas, perdidos durante los procesos de domesticación (Ladizinsky, 1987). El polimorfismo en la latencia de las semillas es considerado un mecanismo adaptativo de las plantas silvestres, que les permite germinar cuando las condiciones ambientales son propicias para el establecimiento y la sobrevivencia de las plántulas, y como un mecanismo de autorregulación de las densidades de las poblaciones (Ladizinsky, 1987; Venable y Brown, 1988).

Generalmente los requerimientos para germinar en las diferentes especies de plantas es considerado un carácter de valor adaptativo (Olff *et al.*, 1994; Meyer *et al.*, 1995), y la variación intraespecífica es vista como adaptación genotípica a condiciones climáticas locales o regionales (Meyer, 1992; Meyer *et al.* 1989; Meyer *et al.* 1990; Meyer y Monsen, 1991; Meyer *et al.*, 1997; Pegtel, 1985). Sin embargo, no siempre es posible explicar la variabilidad en la capacidad de germinación o latencia de las poblaciones de la misma especie en términos de adaptaciones diferenciales a factores climáticos locales (Schütz y Milberg, 1997). En el caso de las poblaciones del Chile estudiadas, los análisis de correlación con variables climáticas no fueron estadísticamente significativos, lo cual hace difícil interpretar nuestros resultados de germinación

como una adaptación a los climas locales. Esto no descarta la posibilidad de factores o condiciones microclimáticas o presiones de tipo biótico puedan explicar esta variación en la capacidad germinativa.

Conclusiones

A partir de este trabajo se puede afirmar que los materiales silvestres de *C. annuum* del estado de Sinaloa presentan una gran variabilidad genética, morfológica, en su capacidad de germinación y en sus niveles de resistencia al geminivirus PHV. Sobre este último aspecto es importante remarcar que hasta el momento no se conoce ninguna variedad cultivada que tenga resistencia a este patógeno. El trabajo demuestra, por lo tanto, que los parientes silvestres del Chile mantienen altos niveles de variabilidad genética, ecológica y de genes potencialmente útiles para la agricultura, que los hace un recurso genético valioso, necesario de estudiar y conservar.

Agradecimientos

Los autores agradecen a H. Luna, A. González, P. Cuevas y V. Zarco su colaboración en la colecta de los materiales silvestres; a R. Luna, L. Paz y T. Ascencio su apoyo en el trabajo de laboratorio; y al Dr. A. Casas la cuidadosa revisión que realizó a una versión preliminar de este artículo.

Literatura citada

- Anónimo. 1995. Descriptores para *Capsicum* (*Capsicum* spp.). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia; Centro Asiático para el Desarrollo y la Investigación relativos a los Vegetales, Taipei, Taiwán y el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.
- Birnboim H.C. 1983. A rapid alkaline extraction method for the isolation of plasmid DNA. *Methods in Enzymology* 100:243-245.
- Brown J.K. y Hine R.B. 1984. Geminata particles associated with the leaf curl or "chino" disease of tomatoes in coastal areas of Western Mexico. *Phytopathology* 74:844.
- Brown J.K., Goldstein D.E. y Nelson M.R. 1986. Partial characterization of a geminivirus isolated from tomato with yellow leaf curly symptoms. *Phytopathology* 76:842.
- Brown J.K. y Nelson M.R. 1988. Transmission, host range, and virus-vector relationships in chino del tomate virus, a whitefly-transmitted geminivirus from Sinaloa, Mexico. *Plant Disease* 72:866-869.
- Brown J.K., Campodónico O.P. y Nelson M.R. 1989. A whitefly-transmitted geminivirus from peppers with tigré disease. *Plant Disease* 73:610.

- Burdon J.J. y Jarosz. A.M. 1989. Wild relatives as sources of disease resistance. En: Brown A.H.D., Frankel O.H., Marshall D.R. y Williams J.T. Eds. *The use of plant genetic resources*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 280-296.
- Davies J.W. y Stanley J. 1989. Geminivirus genes and vectors. *Trends in Genetics* 5:77-81.
- Damanian A.B. 1996. Biodiversity conservation: A review of options complementary to standard *ex situ* methods. *Plant Genetics Resources Newsletter* 107:1-18.
- Eshbaugh W.H. 1980. The taxonomy of the genus *Capsicum* (Solanaceae). *Phytologia* 47:153-166.
- Falconer D.S. 1981. Introduction to quantitative genetics. 2nd. Ed. Longman Inc., New York.
- Gallegos H.M.L. 1978. Enchinamiento del tomate (chino disease of tomato). En: *Enfermedades de cultivos del estado de Sinaloa*. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Sinaloa, México.
- Garzón-Tiznado J.A., Torres-Pacheco I., Ascencio-Ibañez J.T., Herrera-Estrella L. y Rivera-Bustamante R.F. 1993. Inoculation of peppers with infection clones of a new geminivirus by biolistic procedure. *Phytopathology* 53:514-521.
- Hamrick J.L. y Godt M.J.W. 1990. Allozyme diversity in plant species. En: Brown H.D., Clegg M.T., Kahler A.L. y Weir B.S. Eds. *Plant population genetics, breeding, and genetics resources*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts. pp. 43-63.
- Harlan J.R. 1876. Genetics resources in the wild relatives of crops. *Crop Science* 16:329-333.
- Hillis D.M. y Moritz 1990. *Molecular systematics*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Hunziker A.T. 1979. South America Solanaceae: A synoptic survey. En: Hawkes J.K., Lester R.L. y Skelding A.D. Eds. *Biology and taxonomy of Solanaceae*. Academic Press, New York. pp. 49-85.
- Jain S.K. 1994. Genetic conservation and plant agriculture. En: Loeshcke V., Tomiuk J. y Jain S.K. Eds. *Conservation genetics*. Birkhäuser Verlag, Basel. pp.411-416.
- Klein T.M., Fromm M.E., Weisinger A., Tomes A., Schaaf D., Sletten M. y Stanford J.C. 1988. Transfer of foreign genes into intact maize cell using high-velocity microprojectiles. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*. 85:4035-4039.
- Ladizinsky G. 1987. Pulse domestication before cultivation. *Economic Botany* 41:60-65.
- Loaiza-Figueroa F., Ritland K., Laborde-Cansino J.A. y Tanksley S.D. 1989. Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. *Plant Systematics and Evolution* 165:159-188.
- Marteli G.P. 1992. Classification and nomenclature of plant viruses: State of the art. *Plant Disease* 76:436-442.
- Meyer S.E. 1992. Habitat correlated variation in firecracker penstemon (*Penstemon eatonii* Gray: Scrophulariaceae) seed germination response. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 119:268-279.
- Meyer S.E. y Monsen S.B. 1991. Habitat correlated variation in mountain big sagebrush (*Artemisia tridentata* ssp. *vaseyana*) seed germination patterns. *Ecology* 72:739-742.
- Meyer S.E. y Kitchen S.G. 1994. Life history variation in blue flax (*Linum perenne*: Linaceae): Seed germination phenology. *American Journal of Botany* 81:528-535.
- Meyer S.E., McArthur E. y Jorgensen G.L. 1989. Variation in germination response to temperature in rubber rabbitbrush (*Chrysothamnus nauseosus*: Asteraceae) and its ecological implications. *American Journal of Botany* 76:981-991.
- Meyer S.E., Monsen S.B. y McArthur E.D. 1990. Germination response of *Artemisia tridentata* (Asteraceae) to light and chill: Patterns of between-population variation. *Botanical Gazette* 151:176-183.
- Meyer S.E., Kitchen S.G. y Carlson S.L. 1995. Seed germination timing patterns intermountain *Penstemon* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* 82:377-3889.
- Meyer S.E., Allen P.S. y Beckstead J. 1997. Seed germination regulation in *Bromus tectorum* (Poaceae) and its ecological significance. *Oikos* 78:475-485.
- McLeod M.J., Guttman S.I., Eshbaugh W.H. y Rayle R.E. 1983. An electrophoretic study of evolution in *Capsicum* (Solanaceae). *Evolution* 37:562-574.
- Mitton J.B., Linhart Y.B. y Hamrick J.L. 1979. Allozyme polymorphisms detected in mature needle tissue of ponderosa pine. *Journal of Heredity* 70:86-89.
- Oloff H., Pegtel D.M., van Groenendael J.M. y Bakker J.P. 1994. Germination strategies during grassland succession. *Journal of Ecology* 82:69-77.
- Pickersgill B. 1984. Migrations of chili peppers, *Capsicum* spp. in the Americas. En: Stone D. Ed. *Papers of Peabody Museum of Archeology*, vol. 76. Harvard University Press. pp. 105-123.
- Piven N.M., Uzcátegui R.C. e Infante-H. D. 1995. Resistance to Tomato Yellow Mosaic Virus in species of *Lycopersicon*. *Plant Disease* 79:590-594.
- Pegtel D.M. 1985. Germination in populations of *Solanum dulcamara* L. from contrasting habitats. *New Phytologist* 100:671-679.
- Polston J.E. y Anderson P.K. 1997. The emergence of whitefly-transmitted geminiviruses in tomato in the Western Hemisphere. *Plant Disease* 81:1358-1369.
- Pozo-Campodónico O., Montes H.S. y Redondo J.E. 1991. El chile (*Capsicum* spp.) En: *Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México*. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. México. pp. 217-238.
- Schütz W. y Milberg P. 1997. Seed dormancy in *Carex canescens*: Regional differences and ecological consequences. *Oikos* 78:420-428.
- Shark K.B., Smith F.D., Harpending P.R., Rasmussen J.L. y Sanford J.C. 1991. Biolistic transformation of a procar-yote, *Bacillus megaterium*. *Applied and Environmental Microbiology* 57:480-485.

- Silvertown J.W. 1981. Seed size, lifespan and germination date as coadapted features of plant life history. *The American Naturalist* **118**:860-864.
- Soltis D.E. y Soltis P. S. 1989. *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press, Portland Oregon.
- Stalker H.T. 1980. Utilization of the wild species for crop improvement. *Advances in Agronomy* **33**:717-724.
- Stuber C.W., Wendel J.M. y Goodman M.M. 1988. Techniques and scoring procedures for starch electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays*). *Technical Bulletin* 286. North Carolina State University, NC.
- Swofford D.L. 1989. *Biosys-1*. Users manual. Release 1.7. The University of Illinois, Chicago.
- Torres-Pacheco I. 1997. Geminivirus involucrados en el rizado amarillo del chile: interacción entre el PHV y TPV. Tesis Doctoral. Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. Irapuato, Guanajuato.
- Torres-Pacheco I., Garzón-Tiznado J.A., Brown J.K., Becerra-Flora A. y Rivera-Bustamante R.F. 1996. Detection and distribution of geminiviruses in Mexico and southern United States. *Phytopathology* **86**:1186-1192.
- Torres-Pacheco I., Garzón-Tiznado J.A., Herrera-Estrella L. y Rivera-Bustamante R.F. 1993. Complete nucleotide sequence of pepper huasteco virus: Analysis and comparison with bipartite geminiviruses. *Journal of General Virology* **74**:2225-2231.
- Venable D.L. y Brown J.S. 1988. The selective interaction of dispersal, dormancy, and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *The American Naturalist* **131**:360-384.
- Vida G. 1994. Global issues of genetic diversity. En: Loeschcke V., Tomiuk J. y Jain S.K. Eds. *Conservation genetics*. Birkhäuser Verlag, Basel. pp. 9-19.
- Williams P.H. 1988. Screening for resistance to disease. En: Brown A.H.D., Frankel O.H., Marshal D.R. y Williams J.T. Eds. *The use of plant genetic resources*. Cambridge University Press, New York. pp. 335-364.
- Zakay Y., Navot M., Zeidan M., Kedar N., Rabinowitch H. y Zmir D. 1991. Screening *Lycopersicon* accessions for resistance to Tomato Yellow Leaf Curl Virus: Presence of viral DNA and symptom development. *Plant Disease* **75**:297-281.