



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

**INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS**

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE VARIEDADES NATIVAS DE CHILE “POBLANO” POR MEDIO DE MICROSATÉLITES

AREMI REBECA CONTRERAS TOLEDO

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

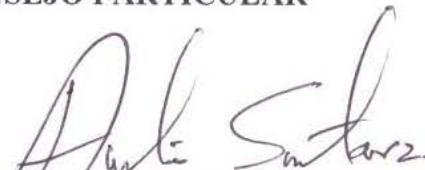
2011

La presente tesis titulada: **ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE VARIEDADES NATIVAS DE CHILE “POBLANO” MEDIANTE MICROSATÉLITES**, realizada por la C. **AREMI REBECA CONTRERAS TOLEDO**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA**

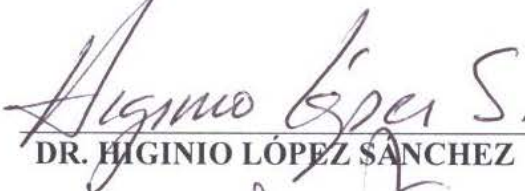
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



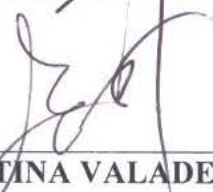
DR. AMALIO SANTACRUZ VARELA

ASESOR:



DR. HIGINIO LÓPEZ SÁNCHEZ

ASESORA:



DRA. ERNESTINA VALADEZ MOCTEZUMA

ASESOR:



DR. VÍCTOR HEBER AGUILAR RINCÓN

ASESOR:



DR. TARSICIO CORONA TORRES

ASESOR:



DR. PEDRO ANTONIO LÓPEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril de 2011

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE VARIEDADES NATIVAS DE CHILE “POBLANO” POR MEDIO DE MICROSATÉLITES

Aremi Rebeca Contreras Toledo, MC.
Colegio de Postgraduados, 2011.

A partir de la domesticación de chile (*Capsicum annuum* L.) en México, se ha generado una gran diversidad dentro de esta especie en nuestro país, derivada de la selección de los agricultores para diferentes usos, siendo el chile Poblano uno de los más importantes y el más representativo del Estado de Puebla; sin embargo, el rendimiento de chile poblano en esta región ha presentado una reducción en los últimos años, debido, en parte, a la falta de semilla mejorada que debe ser seleccionada con base en las necesidades de los propios productores, existiendo la potencial pérdida de este germoplasma. Los objetivos de este estudio fueron estimar la diversidad genética y determinar sus posibles patrones de distribución, diferenciar grupos genéticos de variedades y analizar la estructura genética de las poblaciones de chile Poblano y su relación con otros tipos de chile. Se evaluaron 63 colectas de chile Poblano, Loco, Miahuateco y Ancho provenientes de la Sierra Nevada de Puebla, Tehuacán y Zacatecas y un híbrido comercial como referencia. Se utilizaron 19 loci de SSR y se calcularon los parámetros de diversidad genética, número de alelos, proporción de loci polimórficos, índice de heterocigosidad y estadísticos F de Wright. Se realizó un análisis de componentes principales, de conglomerados y discriminante. Se detectaron 105 alelos en total, con un promedio de alelos por locus de 5.53 y 80 % de loci polimórficos, siendo las variedades locales las de mayor polimorfismo y heterocigosidad. El estadístico F_{ST} de diferenciación genética fue de 0.108, indicando que el 89.2% de la variación se encuentra dentro de las colectas, existiendo una mayor diferenciación en los grupos Poblano, Ancho y Loco. Existe una alta diferenciación entre las variedades provenientes de la Sierra Nevada de Puebla, Tehuacán y Zacatecas. Las distintas variedades formaron grupos definidos; sin embargo, se observó cierta dispersión dentro del grupo Poblano. El análisis discriminante permitió ubicar colectas sin una asociación grupal definida, ya sea por identificación *a priori* imprecisa o por compartir características con otros grupos.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, SSR, polimorfismo, diferenciación genética

ANALYSIS OF GENETIC DIVERSITY OF ‘POBLANO’ PEPPER LANDRACES WITH MICROSATELLITES

Aremi Rebeca Contreras Toledo, MC.
Colegio de Postgraduados, 2011.

Since the domestication of pepper (*Capsicum annuum* L.) in Mexico, a great diversity within this species has been generated in our country, derived from selection by the farmers toward different uses, being the Poblano pepper one of the most important and representative of Puebla State; however, yield of Poblano pepper in this region has experienced a reduction in recent years due in part to the lack of improved seed that have to be selected according to the necessities of the farmers, with a potential loss of this germplasm. The objectives of this study were to estimate genetic diversity and to determine its likely patterns of distribution, to differentiate genetic groups of varieties, to analyze the genetic structure of Poblano pepper populations and their relationships with other pepper types. Sixty three accessions of Poblano, Loco, Miahuateco, and Ancho pepper from the Sierra Nevada of Puebla, Tehuacán, and Zacatecas State were evaluated along with a commercial hybrid as reference. Nineteen SSR loci were used and the genetic diversity parameters allele number, proportion of polymorphic loci, heterozygosity and Wright F-Statistics were calculated. Principal component, cluster and discriminant analysis were also performed. A total of 105 alleles were detected with an average of 5.53 alleles per locus and 80 % of polymorphic loci, being landraces the more polymorphic and heterozygous populations. The statistic F_{ST} of genetic differentiation was 0.108, which indicates that 89.2 % of the variation resides within accessions, with larger differentiation at the Poblano, Ancho and Loco types. There is large differentiation among varieties from the Sierra Nevada of Puebla, Tehuacán and Zacatecas. Well-defined groups were obtained; however, some dispersion was observed within the Poblano group. Discriminant analysis allowed the allocation of those accessions without a clear assignment into a certain group, due to either imprecise *a priori* identification or sharing common characteristics with other groups.

Index words: *Capsicum annuum*, SSR, polymorphism, genetic differentiation

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado durante mis estudios de postgrado.

A la Fundación Produce Puebla A.C. y al Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos (SINAREFI), por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación.

Al Colegio de Postgraduados y al programa de Recursos Genéticos y Productividad-Genética, por la oportunidad de culminar mis estudios de Maestría en Ciencias en esta prestigiosa institución.

Al Dr. Amalio Santacruz Varela, al Dr. Higinio López Sánchez y a la Dra. Ernestina Valadez Moctezuma, por su importante contribución y orientación, por las valiosas recomendaciones y por el apoyo concedido durante todo el proceso de investigación.

A mi Consejo Particular, por sus valiosas aportaciones a este trabajo, y por su disposición y apoyo durante mi formación académica.

A la M. en C. Rocío Toledo Aguilar, por la donación de la semilla y por su apreciable colaboración.

Al M. en C. Abimael López López, por las asesorías y sugerencias para la realización de los procesos de laboratorio.

A mis colegas de laboratorio y compañeros, por el apoyo brindado para el desarrollo de esta investigación.

En memoria de

Lizandro Contreras Toledo

*En el año 1-Caña murió Quetzalcóatl,
se dice en verdad
que se fue a morir allá,
a la Tierra del Color Negro y Rojo.
Se dice que en el año 1-Caña
él mismo se prendió fuego y se quemó,
se llama quemadero el lugar
donde Quetzalcóatl ardió.
Se dice que cuando ardió,
en seguida se elevaron sus cenizas,
vinieron a verlas todas las aves preciosas,
que vuelan y van al cielo,
la guacamaya, el pájaro azul,
el ave tornasol, el ave roja y azul,
la de color amarillo dorado y otras aves de fino plumaje.
Cuando la hoguera dejó de arder,
se alzó el corazón de Quetzalcóatl
y llegó hasta el cielo, en él entró.
Dicen los viejos
que entonces se convirtió en la estrella de la mañana.*

(Códice Matritense del Real Palacio)

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivos.....	3
1.2. Hipótesis.....	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1. Origen y distribución.....	5
2.2. Importancia económica.....	6
2.3. Situación actual.....	7
2.4. Diversidad genética.....	8
2.5. Métodos de conservación y análisis de la diversidad genética.....	10
2.6. Marcadores moleculares basados en ADN.....	12
2.7. Microsatélites (SSR).....	13
2.8. PCR-Multiplex.....	13
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1. Material vegetal.....	16
3.2. Extracción de ADN.....	16
3.3. Amplificación por PCR.....	17
3.4. Análisis de fragmentos.....	20
3.5. Análisis estadístico.....	20
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
4.1. Parámetros de diversidad genética de las variedades de Chile.....	23

4.1.1. Frecuencias alélicas en los 19 loci de SSR.....	23
4.1.2. Diversidad génica de los grupos de Chile.....	26
4.1.3. Diferenciación genética entre tipos de Chile.....	29
4.2. Relaciones entre las poblaciones.....	31
4.3. Verificación de la ubicación de las colectas en los diferentes tipos.....	41
4.4. Comparación entre la caracterización morfológica y análisis de SSR.....	44
5. CONCLUSIONES.....	47
6. LITERATURA CITADA.....	49
7. ANEXOS.....	59

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Loci de microsatélites, su secuencia constitutiva e iniciadores utilizados para su amplificación en muestras de chile.	18
Cuadro 2. Alelos exclusivos en los 19 loci de microsatélites en los cinco grupos de poblaciones.	25
Cuadro 3. Número de alelos por locus, porcentaje de loci polimórficos y heterocigosidad esperada, estimados a partir los 19 loci de microsatélites evaluados.	28
Cuadro 4. Estadísticos F calculados a partir de los 19 loci de microsatélites para los cinco tipos de chile.	30
Cuadro 5. Valores propios y proporción de varianza explicada de los primeros 25 componentes principales, generados a partir de la matriz de correlación de los 105 alelos encontrados en 19 loci de microsatélites en 63 poblaciones de chile.	32
Cuadro 6. Clasificación de las 63 poblaciones de chile en los diferentes grupos, de acuerdo al análisis discriminante con los 105 alelos encontrados en los 19 loci de microsatélites.	42

ÍNDICE DE CUADROS ANEXOS

	Pág.
Cuadro 1A. Municipios y localidades de colecta de los materiales de chile incluidos en el estudio de diversidad genética.	60
Cuadro 2A. Número de alelos, número y proporción de loci polimórficos generados a partir de los 19 loci de microsatélites evaluados en los cinco tipos de chile.	63
Cuadro 3A. Heterocigosidad esperada generada a partir de los 19 loci de microsatélites evaluados en los cinco tipos de chile.	64
Cuadro 4A. Frecuencias alélicas de los 105 alelos derivados de los 19 loci de microsatélites evaluados en los cinco tipos de chile.	65
Cuadro 5A. Vectores propios de los primeros tres componentes principales, generados a partir de la matriz de correlación de los 105 alelos encontrados en los 19 loci de microsatélites en las 63 poblaciones de estudio.	69

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Distribución de las 63 poblaciones en grupos de Chile con base en los dos primeros componentes principales, derivados de 105 alelos de 19 loci de SSR.	35
Figura 2. Distribución de las 63 poblaciones de acuerdo al tipo de Chile con base en el primer y tercer componente principal, a partir de 105 alelos encontrados en 19 loci de microsatélites.	37
Figura 3. Dendograma de las 63 poblaciones de Chile con base en 105 alelos de SSR, usando la distancia modificada de Rogers y el método de agrupamiento UPGMA.	40

1. INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* es uno de los cultivos más antiguos en América, y la producción de las diferentes especies de chile se ha extendido a nivel mundial, situándose entre las más importantes en el mercado internacional, dentro del cual *Capsicum annuum* L. es la especie más importante, por la mayor superficie cultivada y por los beneficios económicos que ofrece, además de que está siendo altamente demandada por su valor nutricional (Djian-Caporalino *et al.*, 2006). Debido a lo anterior, durante los pasados treinta años se ha venido incrementando la producción de chile, principalmente para su uso como especia, hortaliza y para su industrialización. La superficie sembrada de chile en 2009 fue de aproximadamente 3.71 millones de hectáreas anuales, siendo China, México y Turquía los principales países productores, considerando producto en fresco y seco (FAOSTAT, 2009).

La introducción y dispersión de este cultivo en Europa, África y Asia se debió a la gran adaptabilidad del género *Capsicum*, proceso que se dio de forma exitosa con las especies provenientes de Centro y Sudamérica y México, considerado este último como el centro de origen de *Capsicum annuum* L. Estudios arqueológicos han revelado que el chile es uno de los cultivos ancestrales de los pobladores nativos, quienes comenzaron el proceso de domesticación entre 7,000 y 5,000 años a.C., probablemente en la región del Valle de Tehuacán, Puebla (McNeish 1964; Pickersgill, 1991).

A partir de la domesticación del chile en México se ha generado una gran diversidad dentro de esta especie en nuestro país, derivado de la selección de los agricultores para diferentes usos en

fresco y seco. Esta selección se desarrolló con base en la adaptación a diversos ambientes, resistencia a factores bióticos y en determinados usos y preferencias de los consumidores, incrementándose de esta manera la variabilidad fenotípica y genotípica de esta especie, proceso que sigue vigente (Rodríguez *et al.*, 2007). De la variabilidad de tipos de *C. annuum* L. presente en México, el chile Poblano es uno de los más importantes y es el más representativo del Estado de Puebla, con una presencia histórica y cultural indiscutible (Rodríguez *et al.*, 2007). Existe una gran diversidad de variedades criollas de chile poblano en esta región, que se originó por la siembra constante por parte de los agricultores, generando una vasta complejidad en tipos, formas, colores, etc. (Rodríguez, 2004); sin embargo, esta gran riqueza en diversidad genética está en riesgo de perderse. En el estado de Puebla, la superficie destinada para el cultivo de chile poblano es de 600 hectáreas, con una producción de 4,800 toneladas (SDR Puebla, 2007) y un rendimiento promedio de 8.16 t ha^{-1} , el cual ha presentado una reducción en los últimos años y es considerablemente más bajo que el registrado a nivel nacional (SAGARPA, 2009). Aspectos importantes de la problemática del chile poblano es la falta de semilla mejorada, seleccionada con base en las necesidades de los propios productores y, derivado de lo anterior, la potencial pérdida de material vegetal, lo cual podría afectar significativamente la producción futura, pudiendo llegarse incluso al abandono del cultivo. Estos y otros factores están llevando a un rápido deterioro genético y pérdida de este valioso recurso entre los agricultores (Rodríguez *et al.*, 2007).

En este contexto, resulta prioritario establecer acciones apropiadas encaminadas hacia la recuperación y protección de estos valiosos materiales. Estas acciones deben considerar aspectos como la descripción de la diversidad vegetal, generación de variedades mejoradas a partir de las

locales, definición de paquetes productivos, agregación de valor, rentabilidad del cultivo y canales de comercialización. Por lo anterior, la meta de la presente investigación es generar conocimiento para el diseño de una estrategia de conservación de los recursos fitogenéticos de variedades locales de chile poblano, mediante el estudio de su diversidad genética en una región productora tan importante como lo es la Sierra Nevada de Puebla.

1.1. OBJETIVOS

Objetivo general

Realizar un análisis de la diversidad genética de las variedades locales de chile poblano del Valle de Puebla, mediante el uso de marcadores moleculares de microsatélite (SSR), para diferenciar grupos genéticos de variedades y determinar posibles patrones de distribución de dicha diversidad.

Objetivos particulares

- a) Cuantificar la diversidad genética del chile poblano en la región del estudio, mediante marcadores moleculares basados en microsatélites (SSR).
- b) Generar un perfil alélico consenso de las poblaciones de chile poblano de la región del estudio, con el fin de dar soporte a un eventual registro de denominación de origen por parte de las comunidades poseedoras del recurso genético.

- c) Analizar la estructura genética de las poblaciones de chile poblano y su relación con otros tipos de chile de la región y de otras partes del país.
- d) Definir un grupo de alelos como herramienta de diagnóstico con capacidad de discriminar poblaciones de chile poblano con respecto a otros tipos de chile.

1.2. HIPÓTESIS

Existe una amplia diversidad genética en las variedades locales de chile poblano del Valle de Puebla, susceptible de ser caracterizada mediante marcadores moleculares de microsatélite y es posible definir una identidad genética suficientemente clara y robusta para dar soporte a un registro de denominación de origen para el chile poblano de la región de estudio.

Hipótesis particulares

- a) La diversidad genética en chile poblano es abundante cuando se evalúa utilizando marcadores de microsatélites.
- b) Los alelos generados por los diferentes loci de microsatélites empleados permiten el ensamblaje de un perfil alélico del chile poblano que lo distingue como grupo de otros tipos de chile.
- c) El chile poblano tiene una estructura genética propia y bien definida y mantiene una relación lejana de parentesco con otros tipos de chile.
- d) Se pueden identificar alelos que contribuyen significativamente a la clasificación de las distintas variedades estudiadas.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen y distribución

El género *Capsicum*, perteneciente a la familia de las Solanáceas, tuvo su origen en América del sur, y de ahí se dispersó a Centro y Norteamérica. Es uno de los cultivos más ampliamente distribuidos en las regiones tropicales, subtropicales y templadas del mundo, debido a su gran capacidad de adaptación a múltiples condiciones agroclimáticas. Existe evidencia del uso de especies silvestres, las cuales fueron posteriormente domesticadas en diferentes sitios de Perú que datan de 8500 a 5500 años AC. Estudios arqueológicos también sugieren que el chile es uno de los primeros cultivos en América y que las diferentes especies fueron domesticadas en varias regiones de forma independiente (Djian-Caporalino *et al.*, 2006).

Es probable que *C. annuum* L. haya encontrado su origen a partir de formas silvestres de chile piquín o chiltepín en México, como centro de diversificación; partiendo del análisis del cariotipo de colectas de especies domesticadas, *C. annuum* L. posee dos pares de cromosomas acrocéntricos, característica limitada a ciertas colectas de México (Pickersgill, 1991).

Después de su domesticación, el chile se dispersó a Europa, el Mediterráneo y el Medio Oriente, hasta alcanzar Asia y África, en donde *C. annuum* L. se extendió rápidamente hasta convertirse en importantes centros secundarios de diversificación (Djian-Caporalino *et al.*, 2006). Es por esta extensa diversificación en los centros de origen y de diversificación que se generó una gran variabilidad en este recurso fitogenético, debido principalmente a la selección en ambientes

totalmente contrastantes, observando ahora una extensa diversidad fenotípica (Lefebvre *et al.*, 1995).

2.2. Importancia económica

El Chile se ha colocado como la principal especia comercializada en el mundo. La superficie cultivada a nivel mundial se incrementó en 16% y su producción en 32% durante los últimos 10 años. Tales aumentos están sumamente influenciados por el incremento de la superficie destinada a este cultivo en China, ya que en el mismo periodo, este país incrementó en 33% sus tierras cultivadas y en 46% su producción (FAOSTAT, 2009).

La producción mundial de Chile, en fresco y seco, se concentra en Asia y América. En Asia participan países como China, Turquía, Indonesia, Corea e India. China se ha ubicado como el productor más importante, con el 51% de la producción mundial, debido a las grandes superficies cultivadas (36% de la superficie mundial cultivada para producto en fresco) de esta especie en dicho país (FAOSTAT, 2009).

Por otro lado, México es el principal país productor en América, con una producción cercana a los 2 millones de toneladas; sin embargo, otros países africanos como Nigeria, y países europeos como España, Italia y Holanda se ubican como productores importantes de esta especie. Entre los principales países exportadores están México, España y Holanda. El Chile se ha colocado en el cuarto lugar de las exportaciones de México, tan solo después de la cerveza, otras bebidas alcohólicas y jitomate. Estados Unidos se ubica como el principal importador de este producto,

seguido de Alemania, Inglaterra, Francia y Canadá (FAOSTAT, 2009). El consumo de chile en Estados Unidos y Europa se ha incrementado debido a un crecimiento en la demanda para la preparación de platillos mexicanos y mediterráneos. Existe una gran variedad de formas, sabores y colores que ofrece esta especie para las diferentes exigencias de las culturas alrededor del mundo. Otro mercado potencial es la industria de alimentos, la cual utiliza los chiles como condimento o colorante, primordialmente como materia prima para la elaboración de otros productos (Djian-Caporalino *et al.*, 2006).

2.3. Situación actual

En México, el chile ocupa uno de los principales lugares en producción, tan solo después de los cereales (maíz, trigo, avena, sorgo, cebada) y frijol. En el Estado de Puebla, su producción se encuentra después de los cereales, tomate verde, papa y frijol (SAGARPA, 2009).

A nivel mundial, la superficie sembrada de chile se ha venido incrementando anualmente; sin embargo, en México se ha registrado una reducción de dicha superficie. En los últimos diez años, se han perdido más de 25 mil hectáreas cultivadas de esta especie, lo que representa un 15% de la superficie registrada en 1999. En el estado de Puebla, la superficie destinada se ha mantenido; sin embargo, se ha observado una reducción en el rendimiento del 19% en el mismo periodo (SAGARPA, 2009).

Para el caso de chile poblano, la superficie destinada a nivel nacional se ha reducido de 19,610 ha en 2005 a 12,894 ha en 2009, alcanzando rendimientos máximos de 16 t ha^{-1} (SAGARPA,

2009). En el Estado de Puebla, la superficie destinada para el cultivo de chile poblano es de 600 hectáreas, con una producción de 4,800 t (SDR Puebla, 2007).

Aspectos importantes a considerar de la anterior problemática en el estado son la falta de semilla mejorada, seleccionada con base en las necesidades de los propios productores y derivado de lo anterior, la potencial pérdida de material vegetal. Lo cual podría afectar significativamente la producción futura, pudiéndose llegar incluso al abandono del cultivo (Rodríguez *et al.*, 2007).

2.4. Diversidad genética

Se han identificado 25 especies distintas para el género *Capsicum* (Baral y Bosland, 2002) y se han descrito cinco especies domesticadas de este género (McNeish, 1964; Pickersgill, 1991;). El grupo de *C. annuum* incluye tres especies: *C. annuum*, *C. frutescens* y *C. chinense*, las cuales pueden generar híbridos entre ellas y se estima que son derivadas de un ancestro común (Pickersgill, 1971). El Chiltepín es el ancestro más probable de todos los tipos de chile en *C. annuum*, es la especie más cultivada en el mundo en regiones tropicales y templadas y existe un gran número de variedades. *C. frutescens* posee corolas verde-blancas, sin manchas y frutos color amarillo o verde que al madurar son rojos, el tipo de chile representativo es el Tabasco. *C. chinense* es originario de Brasil, de frutos extremadamente picosos, flores con corolas blancas y frutos verdes en estado inmaduro y rojos, amarillos, naranja y blancos en estado maduro. Su característica distintiva es una constricción entre el cáliz y el pedicelo, siendo el chile Habanero el más representativo (DeWitt y Bosland, 2010).

El grupo de *C. baccatum* se distingue claramente debido que son plantas de hábito erecto, con múltiples tallos, flores con corolas blancas o crema con manchas verde oscuro, amarillas o cafés. y su área de distribución es en Sudamérica, de Perú a Brasil, siendo mejorada por los Incas hacia mayor tamaño y retención en la planta (DeWitt y Bosland, 2010). El otro grupo, *C. pubescens*, posee semillas negras, flores violetas y frutos de color verde en estado inmaduro, y amarillo, naranja y rojo en estado maduro (DeWitt y Bosland, 2010), y se distribuye en los altiplanos andinos, de Ecuador a Bolivia (Walsh y Hoot, 2001).

Tal diversificación se ha desarrollado ante la necesidad de modificar o mejorar características específicas con la finalidad de incrementar su valor adaptativo y de mercado, por ejemplo, la calidad nutritiva, particularmente importante para la industria alimentaria (Davies *et al.*, 1970). Por otro lado, la concentración de sustancias como la capsaicina resulta atractiva para la industria farmacéutica (Bosland y Votava, 2000). Otros atributos se han observado durante el proceso de mejoramiento, como su potencial ornamental, adaptación a diferentes condiciones ambientales, resistencia a plagas y enfermedades, diversas características del fruto como tamaño, peso, firmeza, forma, color, etc. (Djian-Caporalino *et al.*, 2006).

Debido a la enorme cantidad de material a caracterizar y evaluar, la generación de colecciones núcleo es un método práctico de conservación, con una porción representativa de muestras de una especie cultivada, que incrementa la efectividad en el mantenimiento y aprovechamiento de los recursos genéticos (Rao y Riley, 1994).

Existen diversas colectas de material vegetal a nivel mundial; sin embargo, resulta prioritario generar accesiones de las diferentes especies domesticadas y silvestres, dentro y fuera de los centros de origen y de diversificación, principalmente en México, con el fin de conservarlas como fuente de variabilidad genética, para lo cual se requiere de herramientas como la caracterización fenotípica y molecular (Djian-Caporalino *et al.*, 2006).

2.5. Métodos de conservación y análisis de la diversidad genética

Con el fin evitar la erosión genética debido a la pérdida de cultivares tradicionales se debe enfatizar en la preservación de los recursos fitogenéticos como fuente de variación genética, para futuras adaptaciones a los cambios climáticos, resistencia a plagas y enfermedades, sin descuidar la calidad y productividad de dichos recursos (Iriando, 2001).

Existen dos grandes niveles de conservación, *in situ* y *ex situ*; el primero implica la conservación de los entornos naturales donde se encuentran los organismos de interés, la segunda permite la conservación de los mismos fuera de su ambiente, existiendo diversos métodos en cada nivel, donde los más importantes para la conservación de plantas cultivadas son el cultivo en campo de variedades tradicionales y los bancos de germoplasma y (Iriando, 2001).

La generación de información relacionada con los recursos genéticos a través del proceso de caracterización y evaluación del material genético es fundamental en el proyecto de conservación y definición de variedades, para lo cual es necesaria la identificación y medición en forma sistemática de las características o propiedades que definen a un grupo de individuos (Iriando,

2001). La caracterización requiere del análisis de las diferentes estructuras de la planta, en diferentes etapas fenológicas y en diversas regiones geográficas, utilizando diferentes enfoques, en los que preferentemente se incluyan caracteres morfológicos, fisiológicos y marcadores moleculares (González-Andrés, 2001).

La diferenciación entre variedades está fundamentada en la selección de caracteres morfológicos (González-Andrés, 2001). En el caso de Chile se ha definido una lista de los principales descriptores morfológicos para el género *Capsicum*, con el fin de generar información homogénea y compatible, además de hacer más eficiente el manejo de datos y del germoplasma (IPGRI, 1995). Estos caracteres consideran atributos de las flores, semillas y frutos principalmente; sin embargo, el reconocimiento de las distintas variedades por medio de estas características puede resultar confuso o complicado, debido a que puede haber sobreposición u homogeneidad en algunos factores fenotípicos, compartidos por variedades distintas (Pickersgill, 1991). Por lo anterior, los métodos moleculares, entre los que se encuentran los marcadores basados en ADN, están siendo usados más ampliamente para este tipo de análisis, ya que resultan confiables para la medición de diversidad genética, además de que son capaces de detectar una mayor variabilidad (González-Andrés, 2001). Sin embargo, es importante realizar una combinación de diferentes métodos que ayuden a complementar el estudio global de los aspectos involucrados en el desarrollo de tal variabilidad (González-Andrés, 2001; Franco e Hidalgo, 2003).

2.6. Marcadores moleculares basados en ADN

A partir del desarrollo de marcadores basados en ADN se ha avanzado en la caracterización genética de especies y variedades. Los marcadores moleculares definen diferencias en secuencias de nucleótidos, los cuales no se ven afectados por el estado de crecimiento, el clima, la ubicación o el proceso de producción (Kwon *et al.*, 2003); además, por medio de este método, la identificación y diferenciación varietal puede ser más reproducible y objetiva, debido a que este tipo de marcadores son polimórficos, heredables, se encuentran ampliamente distribuidos en el genoma y son de fácil detección (González-Andrés, 2001).

En la última década se han desarrollado diversos métodos de marcadores moleculares útiles para evaluar el nivel de variación en Chile (Rodríguez *et al.*, 1999), para construir mapas de ligamiento molecular (Lefebvre *et al.*, 1995; Livingstone *et al.*, 1999) y para la clonación o marcado de genes relacionados con características útiles (Tai *et al.*, 1999; Huh *et al.*, 2001).

Entre tales métodos se encuentran el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs), amplificación aleatoria de marcadores de ADN polimórfico (RAPDs), polimorfismo de la longitud de fragmentos amplificados (AFLPs) y repeticiones de secuencia simple (SSR), también llamados microsatélites, entre otros (Valadez y Kahl, 2000).

2.7. Microsatélites (SSR)

El uso de microsatélites se ha incrementado recientemente, gracias a lo cual se ha definido un gran número de microsatélites para Chile (Nagy *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2004). Los microsatélites son secuencias de ADN con repeticiones cortas de 1 a 6 pares de bases (pb), presentan variación altamente polimórfica, reproducible, de herencia co-dominante y multialélica (Becher *et al.*, 2000). Se han utilizado ampliamente en mapeo de genomas, etiquetado de genes, selección asistida por marcadores, estimación de diversidad genética, e identificación de variedades (McCouch *et al.*, 1997).

En variedades de Chile, los SSR pueden ser importantes para la identificación de variedades y en la resolución de disputas en relación a la procedencia de semillas circulantes (Kwon *et al.*, 2005). Por otro lado, los microsatélites han sido reconocidos como el sistema de marcadores más ampliamente recomendado para la caracterización varietal por la UPOV con fines de registro de variedades (UPOV, 2002). Los SSR son particularmente útiles debido a su alta variabilidad, son abundantes en la mayoría de los genomas de eucariontes, están distribuidos a lo largo del genoma, y son de fácil detección a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) (Lee *et al.*, 2004).

2.8. PCR Múltiple

La PCR o reacción en cadena de la polimerasa es la amplificación o multiplicación *in vitro* de secuencias específicas de ADN (Valadez y Kahl, 2000). Existe una gran cantidad de estudios

basados en marcadores genéticos que requieren el análisis de varios loci por PCR, por lo que se requiere versatilidad y eficiencia. Lo anterior es particularmente importante cuando se trabaja con un gran número de marcadores, o bien, un gran número de muestras a evaluar, siendo preferible amplificar todas o varias de las secuencias de interés de forma simultánea en una reacción de PCR múltiple, permitiendo de esta manera economizar en costos, material genético y tiempo (Zangenberg *et al.*, 1999). La PCR múltiple requiere que los productos amplificados por los iniciadores sean de diferente tamaño, siempre que no haya traslape entre ellos, limitando así el número de loci a incluir en la reacción (Edwards y Gibbs, 1994).

A pesar de las múltiples ventajas que ofrece esta técnica, existen algunas consideraciones para su implementación, tales como el diseño y elección de los iniciadores, así como la optimización de las reacciones con el fin de obtener los productos esperados (Zangenberg *et al.*, 1999). Aspectos importantes son la semejanza en las temperaturas de alineamiento de los iniciadores, así como evitar la interacción entre éstos en la reacción, reduciendo la formación de estructuras secundarias o dímeros que impiden una adecuada función. Existen algunos programas de diseño de iniciadores que son útiles para la detección de estas características. La evaluación de las concentraciones óptimas de los diferentes componentes de la reacción múltiple, tales como los amortiguadores, $MgCl_2$, enzima *Taq* polimerasa, nucleótidos, iniciadores y ADN molde, así como de las condiciones de amplificación, ya sean las temperaturas de desnaturalización, alineamiento, extensión, o bien el número de ciclos, son la fase más difícil, ya que de ello depende en gran medida el éxito del proceso; además, es necesario considerar la función de cada elemento en la reacción, con el fin de hacer los ajustes en forma eficiente (Zangenberg *et al.*, 1999). Los SSR presentan la ventaja de que el número de loci por reacción se puede incrementar

por medio de análisis de fragmentos automatizado, siendo marcados con diferentes etiquetas fluorescentes (Zangenberg *et al.*, 1999), lo cual a su vez incrementa la precisión en la estimación del peso molecular de los alelos, así como la eficiencia en el análisis (Jain *et al.*, 2004).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Material vegetal

El estudio se llevó a cabo con colectas de variedades locales de chile Poblano procedentes de la Sierra Nevada de Puebla, Tehuacán y Zacatecas, colectadas de noviembre de 2007 a abril de 2008, además del híbrido comercial Doroteo (Ahern International de México, S.A. de C.V.) de tipo Ancho, y colectas de tres tipos criollos: Loco, Miahuateco y Ancho, utilizadas como testigos (Anexo 1A).

Las semillas recibieron un tratamiento pregerminativo con KNO_3 al 0.2 %, e Interguzan[®] 30-30 (pentacloronitrobenceno 30% i.a., disulfuro de tetrametil tiuram 30 % i.a.) para romper la latencia que suele presentarse con frecuencia en semillas de esta especie (ISTA, 2008), a una dosis de 1.0 g por cada 600 semillas. Se sembraron 20 semillas de cada muestra en sustrato Peat Moss y se realizaron dos aplicaciones de Captan 1 %. Las plántulas se dejaron crecer durante 24 días.

3.2. Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN genómico de 10 plantas por población, con el kit comercial Wizard[®] Genomic DNA Purification kit (Promega). Se utilizaron entre 60 y 80 mg de tejido fresco por planta, el cual fue macerado en nitrógeno líquido y colocado en un tubo eppendorf para microcentrífuga. Se adicionaron 600 μL de solución para lisis nuclear y se incubó a 65 °C

por 15 min. A continuación se adicionaron 2 μL de RNasa al lisado y se incubó a 37 °C por 15 min y después se colocaron a temperatura ambiente por 5 min. A continuación se adicionaron 200 μL de la solución para precipitación de proteínas y se mezclaron con ayuda de un vórtex a máxima velocidad durante 40 s. Cada tubo se centrifugó a 13,000 rpm, a temperatura ambiente durante 3 min. El sobrenadante fue transferido a otro tubo limpio con 600 μL de isopropanol frío al 100 % mezclando por inversión, y se centrifugó durante un minuto a 13,000 rpm, a temperatura ambiente. Se eliminó el sobrenadante y se agregaron 600 μL de etanol al 70 % lavando por inversión y se llevó durante un minuto a centrifugación a 13,000 rpm. El sobrenadante fue eliminado y la pastilla se dejó secar al aire durante 15 min. Se adicionaron 100 μL de solución para rehidratación de ADN [10mM Tris-HCl (pH 7.4), 1mM EDTA (pH 8.0)] y se incubaron las muestras durante 60 min a 65 °C, para finalmente ser almacenadas a 4 °C, (Promega, 2005).

Para evaluar la calidad y cantidad del ADN se colocó 1 μL de cada muestra en un espectrofotómetro de ultra-bajo volumen (NanoDrop 1000, Thermo Scientific), y se valoraron la concentración y absorbancia a 260/280 nm. Finalmente, todas las muestras se diluyeron a una concentración de 10 ng μL^{-1} y se almacenaron a -20° C.

3.3. Amplificación por PCR

Se amplificaron 19 loci de microsatélites (Lee *et al.*, 2004) por PCR múltiple, marcando los iniciadores con las etiquetas fluorescentes 6-FAM™ o HEX™ (Applied Biosystems) en el

extremo 5' para su detección en secuenciador de fragmentos. Los iniciadores no asignados a un grupo fueron amplificados de forma individual (Cuadro 1).

Cuadro 1. Loci de microsatélites, su secuencia constitutiva e iniciadores utilizados para su amplificación en muestras de Chile.

Grupo	Locus	Unidad repetitiva	Iniciadores (Delante/Reversa)	Etiqueta	Tamaño (pb)
1	<i>Hpms1-106</i>	(AAAAAT) ₄	tccaaactacaagcctgcctaacc/ tttgcattattgagtcccacagc	HEX	158-164
	<i>Hpms2-2</i>	(GT) ₉	gcaaggatgcttagttgggtgct/ tcccaaattaccttgcagcac	6-FAM	148-151
	<i>Hpms2-24</i>	(CT) ₁₇ (CA) ₅ A ₂	tcgtattgcttgtgattaccg/ ttgaatcgaatacccgaggag	6-FAM	187-205
	<i>HpmsCaSIG19</i>	(CT) ₆ (AT) ₈ (GTAT) ₅	catgaattcgtcttgaaggctccc/ aagggtgtatcgtacgcagcctta	HEX	216-223
2	<i>Hpms1-5</i>	(AT) ₁₁ (GT) ₁₇	ccaaacgaaccgatgaactc/ gacaatgtgaaaaaggtggaagac	6-FAM	289-323
	<i>Hpms1-62</i>	(TG) ₂₃ (AG) ₉	catgaggctcgcgatgattcac/ ggagaaggaccatgtactgcagag	6-FAM	184-192
3	<i>Hpms1-173</i>	(GA) ₁₆ (TG) ₂	tgctgggaaagatctcaaaagg/ atcaaggaaacaaaccaatgc	HEX	159-169
	AF244121	(TTG) _{5IMP} [†] (AT) _{6IMP} (GT) _{3IMP}	tacctctcgccaatccttctg/ ttgaaagttcttccatgacaacc	6-FAM	240-243
4	<i>Hpms1-1</i>	(CA) ₁₂ (TA) ₄	tcaaccaatattaaggtcacttcc/ ccaggcggggattgtagatg	6-FAM	270-284
	<i>Hpms1-274</i>	(GTT) ₇	tcccagaccctcgtgatag/ tctgctcctccacaactg	HEX	162-180
5	<i>Hpms1-172</i>	(GA) ₁₅	gggttgcgatgatctaagcatttt/ cgctggaatgcattgtcaaaga	HEX	335-346
	CM0005	(CCA) ₈	catgaccaccatgaggata/ gatagccacgagcatagtatt	6-FAM	154-160
	<i>Hpms1-143</i>	(AG) ₁₂	aatgctgagctggcaaggaaag/ tgaaggcagtaggtggggagtg	6-FAM	220-232
	<i>Hpms1-148</i>	(GA) ₁₄	ggcggagaagaactagacgattagc/ ccaccaatccacatagacg	HEX	184-195

Cuadro 1. Continuación

Grupo	Locus	Unidad repetitiva	Iniciadores (Delante/Reversa)	Etiqueta	Tamaño (pb)
	<i>Hpms1-214</i>	(GTTT) ₂ (TTG) ₉	tgcgagtaccgagttcttctag/ ggcagtcctgggacaactcg	6-FAM	88-108
	<i>Hpms2-21</i>	(AT) ₁₁ (AC) ₉ (ATAC) ₁₀	ttttcaattgatcatgaccgata/ catgtcattttgtcattgattgg	HEX	264-295
	<i>HpmsAT2-14</i>	(AAT) _{16IMP}	ttaggggttccaactctctcc/ ctaaccaccaccaagcaaacac	6-FAM	176
	AF039662	T _{26IMP}	ccccctcgtctctttatt/ ttgcaaatctttgtcaatttt	6-FAM	104-116
	CAN130829	T ₁₆	gctaattactgtccgtttg/ aatgggggagttgtttgg	6-FAM	182-185

[†] Repetición imperfecta

Las mezclas de reacción individuales se dispusieron en un volumen de 25 µL conteniendo 10 pM de iniciador, 0.2 mM de nucleótidos, 1X de amortiguador, 3 mM de MgCl₂, 40 ng de ADN molde y 1.0 unidad de Taq ADN polimerasa. La amplificación se realizó en un ciclo de 4 minutos a 94 °C, 35 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 63 °C, 2 minutos a 72 °C y una extensión final de 12 minutos a 72 °C. En el caso de amplificación para loci múltiples, la PCR se realizó en mezclas de reacción de 25 µL conteniendo 0.2 mM de nucleótidos, 4 mM de MgCl₂, 1.6X de buffer, 40 ng de ADN, 1 unidad de Taq ADN polimerasa y 5-15 pmol de cada iniciador. La amplificación se llevó a cabo en un ciclo de 4 minutos a 94 °C, 35 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 65 °C, 2 minutos a 72 °C y una extensión final de 12 minutos a 72 °C. Los productos fueron evaluados por electroforesis capilar en un secuenciador Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems) y analizados con el programa GeneMapper[®] V. 4.0.

3.4. Análisis de Fragmentos

Se realizó electroforesis capilar en un secuenciador Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems) utilizando de 0.3 a 1.5 μL de producto de PCR, 0.25 μL de Size Standard LIZ[®]500, y 9.5 μL de formamida para cada muestra, en placas de secuenciación de 96 pozos. Las reacciones fueron desnaturalizadas durante 3 minutos a 96 °C y después colocadas en congelación durante 3 minutos antes de ser llevadas al secuenciador. Las muestras corrieron a un voltaje de 1500 V y a una temperatura de 60 °C durante 15 minutos. Se utilizó el polímero POP7[™] como soporte de separación, el filtro G5 y la matriz DS-33 para la detección de los iniciadores en azul y verde, y del size standard interno en naranja, marcados con las etiquetas fluorescentes 6-FAM[™], HEX[™] y LIZ[®], respectivamente.

Los archivos generados, una vez finalizada la electroforesis capilar, fueron el soporte para el análisis de fragmentos mediante el programa GeneMapper[®] V.4.0. Los fragmentos fueron identificados utilizando un umbral de detección de 50 Unidades Relativas de Fluorescencia (RFU por sus siglas en inglés) y un índice mínimo de amplitud para heterocigotos de 0.5. El tamaño de los fragmentos fue calculado utilizando el método Local Southern para ser etiquetados con el nombre del alelo correspondiente.

3.5. Análisis estadístico

Se registraron los diferentes alelos detectados para cada uno de los individuos en cada uno de los loci para obtener frecuencias alélicas en cada una de las poblaciones evaluadas; se estimaron

parámetros de diversidad genética como el número de alelos por loci, proporción de loci polimórficos, índice de heterocigosidad y los estadísticos F de Wright (Wright, 1965) para dilucidar la estructura genética de las poblaciones, utilizando el programa POPGENE (Yeh *et al.*, 1999). A partir de esta información se generó un perfil alélico para cada una de las poblaciones analizadas y un perfil consenso para el grupo de chiles poblanos del estado de Puebla.

En adición a lo anterior, se realizó un análisis de componentes principales con base en la matriz de correlaciones generada a partir de las frecuencias alélicas utilizando el paquete SAS V.9.0. (SAS Institute, 2002). Con este análisis se detectaron los alelos más importantes por su contribución a la diferenciación de los diferentes grupos de Chile. De manera complementaria, se realizó un análisis de conglomerados con el programa NTSYS® (Rohlf, 2002) utilizando la distancia genética de Rogers modificada por Wright (1978) y el método de agrupamiento Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA), para definir las relaciones de similitud entre los chiles de tipo poblano y otros tipos cultivados.

Se realizó un análisis discriminante utilizando el paquete SAS V.9.0. (SAS Institute, 2002), para generar un modelo predictivo para corroborar la pertenencia de cada población a un grupo determinado. Este análisis generó una función discriminante a partir de una muestra de accesiones asignadas *a priori* (con base en la experiencia tanto de agricultores como de investigadores) como típicas de Chile poblano; la función puede entonces ser aplicada a las mismas o nuevas poblaciones con determinaciones alélicas de los loci aquí estudiados, para corroborar estadísticamente la membresía de un cierto grupo de Chile o asignar la accesión a un

grupo diferente (Rao, 1973). Para realizar este análisis, la información alélica del total de las accesiones fue utilizada como base de calibración, a excepción de la muestra a evaluar.

Finalmente, se realizó un análisis comparativo utilizando los resultados derivados del estudio de caracterización morfológica realizada por Toledo (2010), con la información de microsátélites de las muestras comunes en ambas investigaciones.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Parámetros de diversidad genética de las variedades de Chile

4.1.1. Frecuencias alélicas en los 19 loci de SSR

Se detectaron 105 alelos en total en las 63 poblaciones a través de los 19 loci estudiados (Anexo 2A). De los 19 loci estudiados, 18 fueron polimórficos, con excepción del locus *HpmsAT2-14*, lo que contrasta con los resultados del estudio de Lee *et al.* (2004), donde todos los loci probaron ser polimórficos, probablemente debido a la mayor amplitud genética del material utilizado, el cual abarcó seis diferentes especies del género *Capsicum*. Se observó también un contenido de información de polimorfismos (PIC) entre 0.12 y 0.66, con un promedio de 0.42 para los loci polimórficos (Anexo 3A). No obstante, los valores de PIC fueron más altos (0.53) en el estudio de Kwon *et al.* (2005) con variedades mejoradas, posiblemente debido a que poseen pedigrí con divergencia genética amplia. En el estudio realizado por Jain *et al.* (2004) se encontró un PIC de 0.61 utilizando microsatélites en accesiones de arroz, muchas de las cuales fueron variedades mejoradas, mientras que valores similares fueron encontrados por Wei *et al.* (2005) en trigo con un PIC de 0.65. El número de alelos para los loci polimórficos varió desde dos en el locus *Hpms1-106*, hasta 12 en los loci *Hpms1-172* y *Hpms1-5*. El tamaño de los alelos encontrados para el conjunto de los loci va desde 88 pb, en el locus *Hpms1-214*, hasta 346 pb en el locus *Hpms1-172* (Anexo 4A), los cuales son aproximados al tamaño registrado por Lee *et al.* (2004) y Kwon *et al.* (2005). En la caracterización molecular de variedades mejoradas de Chile realizada por Kwon *et al.* (2005) se utilizaron 11 loci de microsatélites en común con los aquí evaluados, encontrándose para la mayoría de ellos un menor número de alelos que los registrados en el

presente análisis, debido a la baja variación genética que presentan las variedades híbridas. Del total de alelos encontrados para el conjunto de los loci, sólo en uno o dos se presentaron frecuencias altas, mientras que en el resto aparecen en frecuencias bajas o bien no se presentaron. Se observó también la presencia de alelos comunes con frecuencias altas en los cinco grupos de chiles, tal es el caso de los alelos CM0005_C, *Hpms1-172_D*, *Hpms1-1_A* y *Hpms1-274_C*. Para otros loci, en cambio, los alelos con mayor ocurrencia variaron de acuerdo al grupo de poblaciones; por ejemplo, el alelo *Hpms2-2_A*, se presentó con mayor frecuencia en los grupos de chiles Poblano y Ancho, mientras que el alelo *Hpms2-2_B* fue el que incidió más en el grupo de chiles Miahuatecos, y el alelo *Hpms2-2_C* fue el más común en el grupo de chile Loco. Otro caso fue el de los alelos *Hpms1-173_D* y *Hpms1-173_E*, siendo el primero el más común en los grupos de chile Poblano, Loco y Miahuateco, mientras que el segundo fue el de mayor frecuencia en los grupos de chiles Ancho e Híbrido. Para el locus *Hpms1-5*, en el grupo de chile Poblano, el alelo más común fue el *Hpms1-5_E*, en chile Loco fue el *Hpms1-5_A* y en chiles Anchos, Miahuatecos e Híbrido fue el *Hpms1-5_F*. En el locus *Hpms1-143*, el alelo *Hpms1-143_G* resultó ser más abundante en el grupo de chile Loco, mientras que para el resto de los grupos, el alelo de mayor presencia fue el *Hpms1-143_C*. Por otro lado, se apreciaron ciertos grupos de poblaciones que tuvieron dos alelos con igual o similar frecuencia dentro del mismo locus, siendo estos en conjunto los más representativos; por ejemplo, los alelos *Hpms1-106_A* y *Hpms1-106_B* en el grupo de chile Poblano; *Hpms1-148_A* y *Hpms1-148_B*, AF039662_C y AF039662_D en el grupo tipo Ancho; *HpmsCaSIG19_C* y *HpmsCaSIG19_D*, AF039662_C y AF039662_D en el grupo tipo Loco; AF244121_A y AF244121_B, *Hpms1-62_C* y *Hpms1-62_E* en los Miahuatecos; y los alelos *Hpms2-2_A* y *Hpms2-2_B*, *Hpms1-214_A* y *Hpms1-214_D* se observaron en igual frecuencia para el híbrido. Sólo dentro del locus *Hpms1-62* no se pudo

definir uno o dos alelos comunes, tal es el caso de los alelos *Hpms1-62_C*, *Hpms1-62_D*, *Hpms1-62_E* y *Hpms1-62_F* que se presentaron en igual frecuencia (Anexo 4A).

Además, se observaron 32 alelos exclusivos (también llamados alelos privados) de ciertos grupos de poblaciones, que se presentaron en baja frecuencia y representaron el 30% de los alelos totales encontrados (Cuadro 2). El mayor número de estos alelos exclusivos pertenecen al grupo de Chile Poblano y sólo los alelos *Hpms1-214_F*, *Hpms1-62_G* y *AF039662_E* pertenecen a Chile Ancho y los alelos *Hpms1-148_C* y *CAN130829_D* al grupo de Chile Miahuateco (Cuadro 2).

Cuadro 2. Alelos exclusivos en los 19 loci de microsatélites en los cinco grupos de poblaciones.

	Locus	Alelo	Tamaño (pb)	Frecuencia	Grupo
1	<i>Hpms2-24</i>	C	202	0.001	Poblano
2	<i>Hpms2-24</i>	E	204	0.005	Poblano
3	<i>Hpms2-24</i>	F	205	0.011	Poblano
4	<i>HpmsCaSIG19</i>	A	216	0.003	Poblano
5	<i>HpmsCaSIG19</i>	B	217	0.001	Poblano
6	<i>Hpms1-214</i>	F	108	0.017	Ancho
7	<i>Hpms1-172</i>	A	335	0.005	Poblano
8	<i>Hpms1-172</i>	J	344	0.005	Poblano
9	<i>Hpms1-172</i>	K	345	0.027	Poblano
10	<i>Hpms1-172</i>	L	346	0.003	Poblano
11	<i>Hpms1-173</i>	A	159	0.017	Poblano
12	<i>Hpms1-173</i>	F	169	0.001	Poblano
13	<i>Hpms1-1</i>	B	272	0.004	Poblano
14	<i>Hpms1-1</i>	C	280	0.002	Poblano
15	<i>Hpms1-274</i>	A	162	0.004	Poblano
16	<i>Hpms1-274</i>	B	163	0.003	Poblano

Cuadro 2. Continuación

	Locus	Alelo	Tamaño (pb)	Frecuencia	Grupo
17	<i>Hpms1-5</i>	B	300	0.003	Poblano
18	<i>Hpms1-5</i>	C	302	0.009	Poblano
19	<i>Hpms1-5</i>	H	312	0.004	Poblano
20	<i>Hpms1-5</i>	I	314	0.015	Poblano
21	<i>Hpms1-5</i>	L	323	0.003	Poblano
22	<i>Hpms1-62</i>	A	184	0.007	Poblano
23	<i>Hpms1-62</i>	B	185	0.020	Poblano
24	<i>Hpms1-62</i>	G	190	0.052	Ancho
25	<i>Hpms1-143</i>	D	223	0.003	Poblano
26	<i>Hpms1-143</i>	F	225	0.001	Poblano
27	<i>Hpms1-143</i>	I	232	0.020	Poblano
28	<i>Hpms1-148</i>	C	194	0.025	Miahuateco
29	<i>Hpms2-21</i>	H	295	0.002	Poblano
30	AF039662	B	107	0.018	Poblano
31	AF039662	E	116	0.036	Ancho
32	CAN130829	D	185	0.025	Miahuateco

En un estudio realizado por Hanáček *et al.* (2009), en el que se analizaron 41 accesiones de chile rojo, se encontraron alelos específicos para ciertos genotipos con algunos de los iniciadores utilizados también en este estudio; sin embargo, fueron más escasos.

4.1.2. Diversidad génica de los grupos de chile

El número total de alelos encontrados para los 19 loci poblaciones fue de 105, con un promedio de 5.53 alelos por locus y un 80% de loci polimórficos (Cuadro 3). Se observó un mayor número de alelos en los chiles tipo Poblano, con 100 alelos totales, que en el resto de los grupos, siendo

también mayor el número de alelos por locus (5.26), mientras que el número de alelos por locus más bajo (1.61) se obtuvo en el híbrido, debido la homogeneidad de los progenitores en este tipo de poblaciones.

La proporción de loci polimórficos fue mayor en los grupos de chile Poblano, Ancho y Miahuateco, con un 94.7%, lo que representó 18 loci polimórficos. En las poblaciones del tipo Loco, 14 loci fueron polimórficos, lo que representó un 73.68% y para el híbrido Doroteo, el 42.11% (8 loci) fueron polimórficos. De manera general, la complejidad alélica de las poblaciones resultó más elevada en las poblaciones criollas que en el híbrido comercial. Se aprecia que los valores de heterocigosidad fueron más elevados en los grupos Poblano, Ancho y Miahuateco, mientras que, opuesto a lo esperado, se aprecia que la heterocigosidad fue más baja en el híbrido, posiblemente debido a una divergencia genética no muy pronunciada entre sus progenitores. Los datos anteriores indican que las variedades nativas, principalmente de los grupos Poblano, Ancho y Miahuateco, poseen la mayor diversidad genética, lo que pudiese implicar un mayor potencial para generar ganancias genéticas en eventuales programas de conservación o mejoramiento (Hernández *et al.*, 2006).

En el estudio realizado por Hanáček *et al.* (2009) en chile rojo, el número de alelos por locus fue menor (3.5), con un menor número de loci polimórficos (62.5%). Kwon *et al.* (2005) encontraron un promedio de 3.3 alelos por locus y un bajo nivel de polimorfismo (8.5 % de loci polimórficos) en variedades comerciales de chile, mientras que Demir *et al.* (2010) reportaron 4.8 alelos por locus en berenjena (solanácea) utilizando SSR. Similarmente, Aktas *et al.* (2009) reportaron bajos niveles de polimorfismo (3.57 %) en líneas mejoradas de chile en Turquía. Por su parte, en

el estudio realizado por Jain *et al.* (2004) con microsatélites en arroz, el número de alelos por locus fue de 7.8. Wei *et al.* (2005) reportaron 6.9 alelos por locus en genotipos de trigo, con un polimorfismo de 97.5%. Hernández *et al.* (2006) encontraron resultados contrastantes en poblaciones domesticadas de chile Serrano, Jalapeño y Morrón, analizadas con isoenzimas y RAPDs, encontrando un polimorfismo de 84.6 y 34.7%, respectivamente.

Cuadro 3. Número de alelos por locus, porcentaje de loci polimórficos y heterocigosidad esperada, estimados a partir los 19 loci de microsatélites evaluados.

Grupo	No. de Pobl.	No. de Alelos	Alelos por locus	Desv. Std.	No. de Loci Polim.	% de Loci Polim.	Het. Esp.	Desv. Std.
Poblano	55	100	5.26	3.14	18	94.74	0.442	0.267
Ancho	3	67	3.53	1.74	18	94.74	0.469	0.215
Loco	2	56	2.95	1.87	14	73.68	0.380	0.280
Miahuateco	2	56	2.95	1.31	18	94.74	0.477	0.168
Híbrido	1	29	1.61	0.85	8	42.11	0.207	0.266
Total	63	105	5.53	3.10	15.2	80.00	0.395	0.180

Contrario a lo anterior, Tam *et al.* (2005) encontraron una heterocigosidad esperada de 0.354 en una colección de líneas de *Capsicum annuum* L, analizadas con microsatélites, indicando que existe cierta variación genética aún tratándose de líneas homocigóticas. En papa, Ashkenazi *et al.* (2001) encontraron niveles de heterocigosidad esperada de 0.390, analizadas con SSR, los cuales son resultados muy similares a los presentados en este estudio.

4.1.3. Diferenciación genética entre tipos de chile

La complejidad y organización de la variabilidad entre los grupos de poblaciones está determinada por los estadísticos F de Wright. Se destaca que los grupos de poblaciones Miahuateco y el híbrido presentaron los valores de F_{IS} más bajos (Cuadro 4), lo cual indica que existe un mayor número de individuos heterocigotos, bajo el supuesto de equilibrio de Hardy-Weinberg; asimismo, estas poblaciones presentaron el valor de F_{IT} más bajo, sugiriendo una menor pérdida de heterocigotos; aún, el híbrido mostró estos valores notablemente más bajos, probablemente debido a la naturaleza de su origen. Por el contrario, el tipo Poblano presentó los valores más altos de F_{IS} y F_{IT} , revelando que existe un mayor número de homocigotos y una mayor pérdida de heterocigosidad. Los tipos Poblano, Ancho y Loco presentaron los valores más altos de F_{ST} (diferenciación genética), indicando un reducido flujo genético entre las poblaciones de cada grupo. De acuerdo con el criterio de Snyder *et al.* (1985), los tipos Miahuateco y Poblano presentaron una divergencia genética moderada, de 0.065 y 0.140, respectivamente, mientras que en los tipos Ancho y Loco fue alta, de 0.176 y 0.156, respectivamente, indicando que existe una alta diferenciación entre las colectas de cada variedad y por lo tanto un reducido flujo genético entre ellas. El híbrido mostró un valor de F_{ST} igual a cero, debido a que sólo cuenta con una población. Con un valor general de F_{ST} de 0.108 para todos los grupos, se infiere que un 89.2% de la variación en los chiles estudiados se encuentra dentro de las colectas, y sólo el 10.8% restante entre ellas (Cuadro 4), mostrando una alta proporción de diversidad genética dentro de cada colecta, lo cual es un indicador que un programa de selección recurrente intrapoblacional sería adecuado para el aprovechamiento de la diversidad existente, además se puede considerar el establecimiento de áreas de conservación *in situ*.

Cuadro 4. Estadísticos F calculados a partir de los 19 loci de microsatélites para los cinco tipos de chile.

Tipo	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
Poblano	0.205	0.316	0.140
Ancho	-0.055	0.131	0.176
Loco	0.029	0.182	0.158
Miahuateco	-0.202	-0.124	0.065
Híbrido	-0.723	-0.723	0.000
General	-0.149	-0.044	0.108

Resultados parecidos en cuanto a la partición de la diversidad fueron encontrados por Oyama *et al.* (2006) en poblaciones domesticadas de chile Serrano, Jalapeño y Morrón analizadas con RAPDs, las cuales mostraron una diferenciación genética de 0.32, indicando que el 32.2% de la diversidad se encuentra entre poblaciones y el 67.8% dentro de ellas. Por otro lado, Hernández *et al.* (2006) encontraron una diferenciación genética de 0.17 en las mismas poblaciones domesticadas analizadas con isoenzimas, mostrando que la variación genética es mayor dentro de las poblaciones, que entre éstas. Por el contrario, Guzmán *et al.* (2005) encontraron una diferenciación genética de 0.021 entre accesiones semicultivadas y cultivadas de 40 accesiones de *Capsicum* analizadas con AFLPs, la cual es considerada como muy baja de acuerdo con el criterio de Snyder *et al.* (1985). Similarmente, Aktas *et al.* (2009) reportaron una diferenciación genética de 0.017 en líneas mejoradas de chile en Turkía, mientras que en genotipos locales esta diferenciación fue de 0.177. Aguilar-Meléndez *et al.* (2009) encontraron un valor de F_{ST} de 0.150 en poblaciones domesticadas de chile de diferentes regiones del país analizadas con SNPs, el cual es muy similar a los valores encontrados en este trabajo.

4.2. Relaciones entre las poblaciones

El análisis de componentes principales (ACP) se conceptualizó en este estudio como una herramienta para determinar el nivel de asociación que existe entre las 63 poblaciones de Chile evaluadas. Los primeros 10 componentes principales explicaron el 50% de la variación total (Cuadro 5). El primer componente principal (CP1) aportó el 14% de dicha variación, mientras que el CP2 y CP3 explicaron 5.5 y 5.1%, respectivamente. En contraste, el mayor porcentaje de la variación observada en los estudios de caracterización morfológica de Chile generalmente es explicada por los tres primeros componentes principales; a manera de antecedentes, Castañón-Nájera *et al.* (2008) encontraron que los tres primeros componentes principales explicaron el 78.47% de la varianza total, mientras que Moreno *et al.* (2007) indican que en su estudio el 57.46% de la variación fue explicada por los tres primeros componentes principales en Chile Guajillo.

Los alelos que influyeron de manera más importante en la conformación del CP1 fueron *Hpms1-214_A*, *Hpms1-214_C*, *AF244121_A*, *AF244121_B*, *Hpms1-1_A*, *Hpms1-1_D*, *Hpms1-274_C*, *Hpms1-274_D*, *Hpms1-5_F*, *Hpms1-62_F*, *Hpms1-143_C*, *Hpms2-21_A*, *AF039662_C*, *AF039662_D* (Anexo 3A). En el CP2 los alelos con una mayor contribución fueron *Hpms2-24_D*, *HpmsCaSIG19_C*, *HpmsCaSIG19_D*, *Hpms1-214_B*, *Hpms1-173_D* y *Hpms1-173_E*; mientras que los alelos *Hpms2-2_B*, *Hpms2-2_C*, *Hpms2-2_D*, *Hpms1-214_E* y *Hpms1-5_A* fueron los más representativos en el CP3.

Cuadro 5. Valores propios y proporción de varianza explicada de los primeros 25 componentes principales generados a partir de la matriz de correlación de los 105 alelos encontrados en 19 loci de microsatélites en 63 poblaciones de Chile.

CP	Valores Propios	Proporción de Varianza	Varianza Acumulada
1	14.712	0.142	0.142
2	5.955	0.057	0.199
3	5.285	0.051	0.250
4	4.723	0.045	0.295
5	4.185	0.040	0.335
6	4.058	0.039	0.374
7	3.726	0.036	0.410
8	3.490	0.034	0.444
9	3.405	0.033	0.476
10	3.021	0.029	0.505
11	2.886	0.028	0.533
12	2.791	0.027	0.560
13	2.659	0.026	0.586
14	2.513	0.024	0.610
15	2.369	0.023	0.633
16	2.291	0.022	0.655
17	2.093	0.020	0.675
18	2.054	0.020	0.694
19	2.013	0.019	0.714
20	1.868	0.018	0.732
21	1.822	0.018	0.749
22	1.715	0.017	0.766
23	1.526	0.015	0.780
24	1.491	0.014	0.795
25	1.474	0.014	0.809

La presencia conjunta de los alelos de mayor influencia en los tres primeros componentes principales, aunada a la frecuencia de los mismos, determinaron en mayor medida la identidad de las poblaciones; por ejemplo, en el CP1, el alelo AF244121_B se encontró en todas las poblaciones, excepto en las pertenecientes al grupo de chile Loco, siendo más frecuentes en las poblaciones de Miahuateco y en el híbrido. El alelo *Hpms1-62_F* se encontró en todos los grupos menos en el Miahuateco, siendo más común en los de tipo Poblano; el alelo *Hpms2-24_D* del CP2 estuvo presente en los grupos de poblaciones criollas pero no en el híbrido, y se mostró con mayor frecuencia en el grupo de los chiles Anchos. Asimismo, en el grupo donde se ubicó el híbrido sólo se observó el alelo *Hpms1-173_E*, mientras que el alelo *Hpms1-173_D* se mostró con mayor frecuencia en los chiles tipo Loco. El alelo *Hpms1-214_E* en el CP3 se registró únicamente en las poblaciones de tipo Poblano y Ancho, siendo más comunes en estas últimas. Los loci *Hpms2-2*, *Hpms1-214* y AF244121 fueron muy importantes ya que todos o la mayoría de sus respectivos alelos contribuyeron en los tres primeros componentes principales para la definición de la identidad de grupos (Anexo 3A).

La dispersión de las poblaciones en un plano cartesiano, definido por el CP1 y CP2, permitió apreciar que aquellas pertenecientes al tipo Poblano tendieron a agruparse formando un conglomerado medianamente compacto entre los cuadrantes II y III (Figura 1). Esta distribución fue determinada fundamentalmente por los alelos en el CP1 con mayor frecuencia en este grupo, *Hpms1-214_C*, AF244121_A, *Hpms1-1_A*, *Hpms1-274_C*, *Hpms1-62_F* y AF039662_D. El grupo de poblaciones de tipo Miahuateco se ubicó en el cuadrante IV formando un grupo aislado, definido preponderantemente por los alelos con frecuencias altas *Hpms1-214_A*, AF244121_B, *Hpms1-1_D*, *Hpms1-274_D*, *Hpms1-5_F*, *Hpms1-143_C*, *Hpms2-21_A* y AF039662_C en el

CP1 y los alelos *HpmsCaSIG19_C*, *Hpms1-214_B*, *Hpms1-173_D* en el CP2. En el cuadrante I se observaron dos poblaciones del tipo Ancho y el híbrido comercial, con una mayor dispersión entre ellas, pero diferenciándose del resto de los grupos. Los alelos más comunes para estas poblaciones fueron *HpmsCaSIG19_D*, *Hpms1-173_E*, *Hpms1-214_A*, *Hpms1-5_F*, *Hpms1-143_C* y *AF039662_C*; sin embargo, se apreciaron ciertas diferencias entre ambos grupos, como la presencia de los alelos *Hpms2-24_D*, *Hpms1-1_D* y *Hpms1-274_D* que fueron más frecuentes en los chiles tipo Ancho, mientras que el alelo *AF244121_B* fue más frecuente en el híbrido (Figura 1). La integración del híbrido en el grupo de chile Ancho fue debido a que sus progenitores se ubicaron en este mismo grupo.

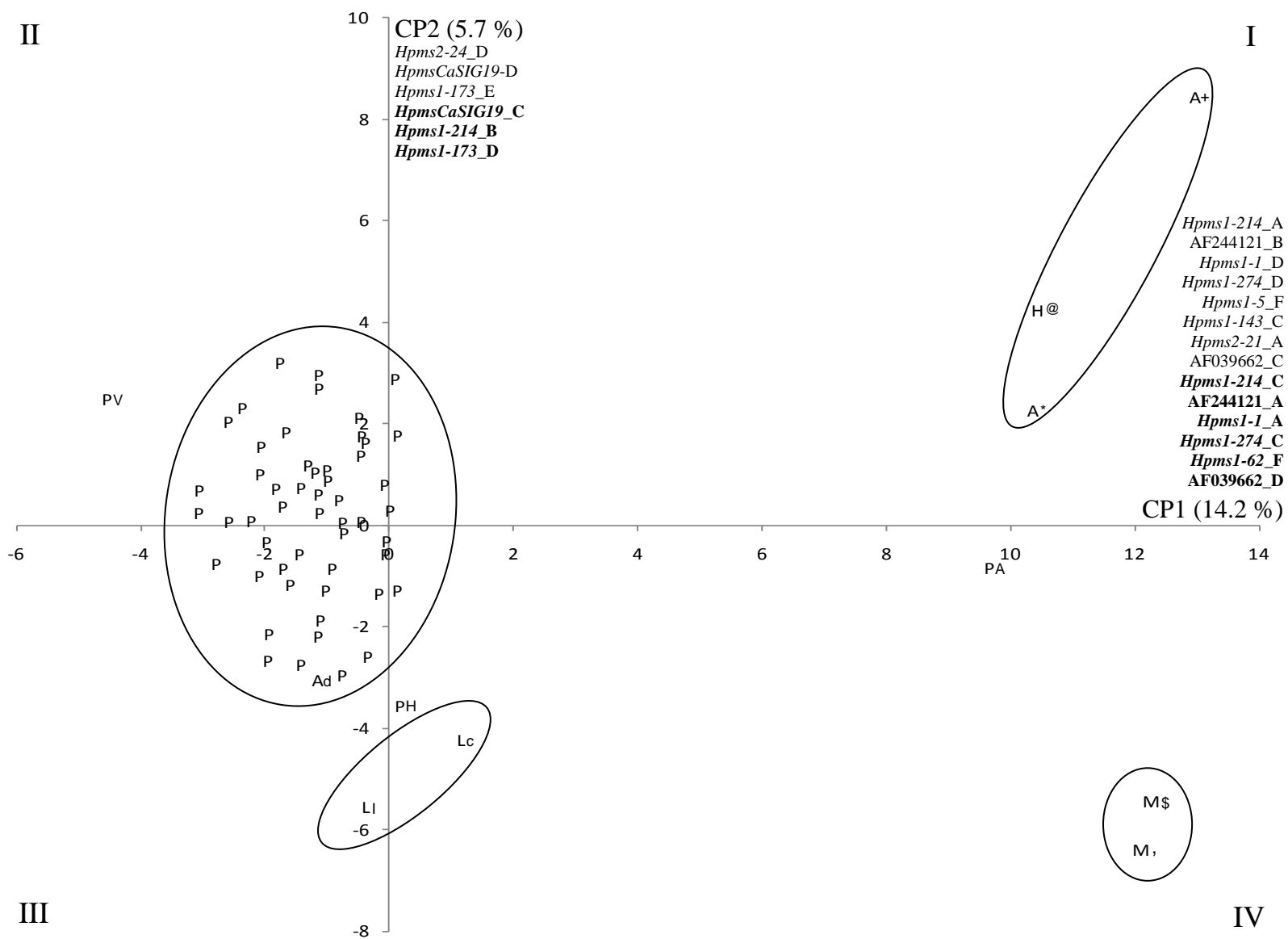


Figura 1. Distribución de las 63 poblaciones en grupos de Chile con base en los dos primeros componentes principales, derivados de 105 alelos de 19 loci de SSR. P: Poblano, A: Ancho, L: Loco, M: Miahuateco, H: Híbrido. Se indican los loci y alelos de mayor influencia en cada componente principal.

Las poblaciones de tipo Loco FT4-L (LI) y MC7-L (Lc) se ubicaron cerca del tipo Poblano, entre los cuadrantes III y IV, compartiendo los alelos *HpmsCaSIG19_C*, *Hpms1-214_B* y *Hpms1-173_D*, mientras que el resto de los alelos fueron menos comunes. En la Figura 1 se identificaron las poblaciones distribuidas en el CP1 y CP2. Existen algunas poblaciones del tipo Poblano que no se encontraron bien diferenciadas y no fueron incluidas en ninguno de los grupos, tal es el caso de las poblaciones FT3-P (PH), LG5-P (PV) y CH1-P (PA), que fueron las más diferenciada entre las de tipo Poblano por los alelos que más influenciaron en el primer componente principal; además, se aprecia que la población MC8-A (Ad), de tipo Ancho, estuvo incluida en el tipo Poblano, en tanto que las poblaciones RG1-A (A*) y RG2-A (A+) de tipo Ancho provenientes del Estado de Zacatecas y las poblaciones MI1-M (M,) y MI2-M (M\$) de tipo Miahuateco procedentes de Tehuacán, Puebla estuvieron bien delimitadas (Figura 1).

La proyección de las poblaciones en el CP1 y CP3 mostró tendencias similares de asociación (Figura 2). En el cuadrante I se localizan las poblaciones de tipo Ancho del Estado de Zacatecas RG1-A (A*) y RG2-A (A+), la población CH1-P (PA), que compartieron los alelos *Hpms2-2_C*, *Hpms1-214_E*, *Hpms1-5_A*, *Hpms1-143_C* y *Hpms2-21_A*, pero se diferencian por los alelos *Hpms1-214_A*, *AF244121_B*, *Hpms1-1_D*, *Hpms1-274_D*, *Hpms1-5_F* y *AF039662_C*, que fueron más abundantes en los chiles tipo Anchos. En el cuadrante IV se concentraron las poblaciones de Tehuacán, Puebla MI1-M (M,) y MI2-M (M\$) de tipo Miahuateco, además del híbrido comercial Doroteo (H@). Dentro de este grupo se compartieron los alelos *Hpms2-2_B*, *AF244121_A*, *Hpms1-1_A* y *Hpms1-274_C*, pero se distinguen de otros por los alelos *Hpms2-2_D*, *Hpms1-214_C* y *AF039662_D*, que se encontraron en los chiles de tipo Miahuateco, y el alelo *Hpms1-62_F* en el híbrido (Figura 2).

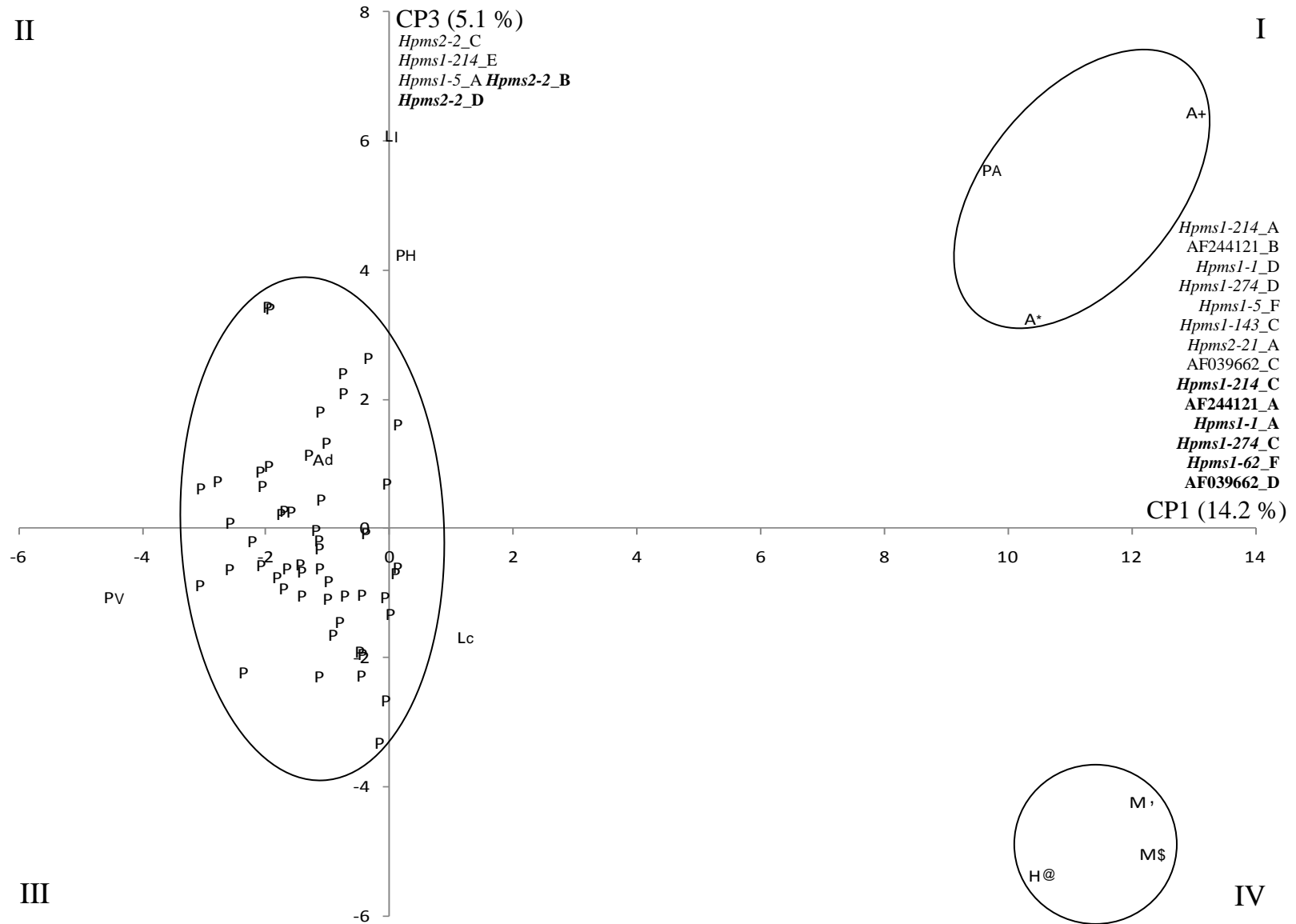


Figura 2. Distribución de las 63 poblaciones de acuerdo al tipo de chile con base en el primer y tercer componente principal, a partir de 105 alelos encontrados en 19 loci de microsatélites. P: Poblano, A: Ancho, L: Loco, M: Miahuateco, H: Híbrido. Se indican los loci y alelos de mayor influencia en cada componente principal.

Un tercer grupo comprendido entre los cuadrantes II y III, concentró la mayoría de las poblaciones de tipo Poblano, e incluye la población MC8-A (Ad) de tipo Ancho y MC7-L (Lc) de tipo Loco. Estas poblaciones se caracterizaron por compartir los alelos con mayor frecuencia en este grupo *Hpms1-214_C*, *AF244121_A*, *Hpms1-1_A*, *Hpms1-274_C*, *Hpms1-62_F* y *AF039662_D*; sin embargo, la población MC7-L (Lc) se alcanzó a separar por poseer mayor frecuencia en el alelo *AF039662_C*. Asimismo, las poblaciones FT4-L (LI), de tipo Loco, y FT3-P (PH), de tipo Poblano, se separaron de este grupo mayoritario y quedaron hasta cierto punto aisladas, por lo que es probable que esta última comparta algunas características del tipo Loco. Nuevamente la población LG5-P (PV), que es un chile conocido localmente como Poblano Negro, se separó del grupo principal (Figura 2). La extensa distribución dentro de los chiles de tipo Poblano sugiere que no existe una diferenciación tajante dentro de las colectas, lo que fue corroborado por el bajo valor del estadístico F_{ST} para este grupo de chiles (Cuadro 4); sin embargo, se observa que existe cierta estructura entre los tipos que se encuentran bien definidos, debido a los diferentes esquemas de selección aplicados por parte de los agricultores (Oyama *et al.*, 2006).

Los agrupamientos anteriores son similares a los derivados del análisis de conglomerados (Figura 3), indicando una alta consistencia en la definición de las asociaciones. Se formaron dos grupos principales, el mayor de ellos integró todas las variedades locales de la Sierra Nevada de Puebla, excepto a la población CH1-P, que se ubicó en el segundo grupo compuesto por las poblaciones provenientes del estado de Zacatecas y Tehuacán, Puebla, respectivamente, además del híbrido comercial. A una distancia genética de 0.28 se distinguen dos poblaciones aisladas y tres grupos. El primero de los grupos está formado por las poblaciones de tipo Ancho RG1-A,

RG2-A, de Zacatecas, y la población de tipo Poblano CH1-P, de la Sierra Nevada de Puebla, aunque esta última se encontró notablemente menos relacionada. En el segundo grupo se encuentran las poblaciones de tipo Miahuateco provenientes de Tehuacán, MI1-M y MI2-M. Se observa al híbrido comercial HI1-A situado de forma independiente, así como a la población FT4-L de tipo Loco, que se encuentra bien diferenciada. El tercer grupo se encuentra formado por el resto de las poblaciones locales; sin embargo, a una distancia genética de 0.23 pueden distinguirse tres subgrupos. El subgrupo I incluye a la gran mayoría de las colectas procedentes de las principales localidades productoras de chile Poblano, como son Cháhuac, Domingo Arenas, Juárez Coronaco, San Antonio Chautla, San Lorenzo Chiautzingo, San Lucas el Grande, San Mateo Capultitlan y San Miguel Tianguistengo, con excepción de las poblaciones LC1-P, LG5-P y MC2-P que se ubicaron en el subgrupo II, y las poblaciones JC3-P, LC3-P, LG1-P y LG4-P que se encuentran aisladas, esta última conocida localmente como Poblano Rojo. En el subgrupo II se encuentran la mayoría de las poblaciones originarias de San Rafael Tlanalapan y Santa María Moyotzingo, ambas en el municipio de San Martín Texmelucan, con excepción de las poblaciones RT1-P, RT3-P y RT8-P, que se localizan en el subgrupo I y la población RT2-P, que no se integra en algún grupo. Las poblaciones procedentes de San Felipe Teotlatzingo y San Matías Tlalancaleca se encuentran disgregadas entre ambos grupos. El subgrupo III está formado por las poblaciones MC3-P y MC7-L (Figura 3), clasificada originalmente esta última como del tipo Loco e incluida junto con la población FT4-L de tipo Loco en el análisis de componentes principales, siendo factible que la primera también posea características de chile Loco.

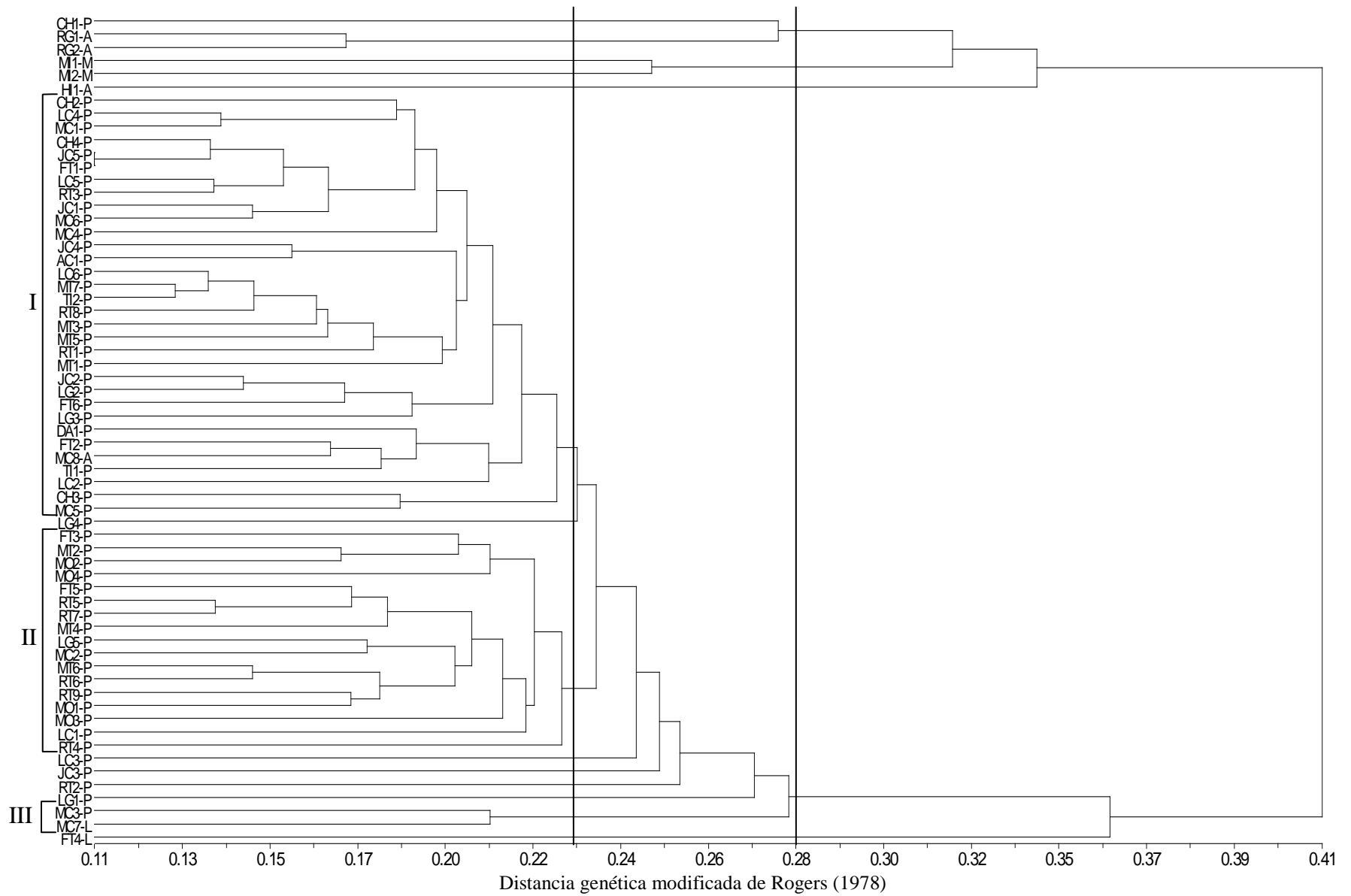


Figura 3. Dendrograma de las 63 poblaciones de Chile con base en 105 alelos de SSR, usando la distancia modificada de Rogers y el método de agrupamiento UPGMA.

Los análisis de SSR poseen un alto poder de discriminación ya que permitieron la distinción de todas las poblaciones. Oyama *et al.* (2006) señalan que a una distancia genética aproximada de 0.254 se pueden separar diferentes poblaciones domesticadas de chile Serrano, Jalapeño y Morrón, analizadas con RAPDs utilizando el coeficiente de Jaccard y el método UPGMA de agrupamiento, indicando que se encuentran altamente diferenciadas. Resultados similares fueron obtenidos por Hernández *et al.* (2006) en las mismas poblaciones analizadas con isoenzimas y utilizando la distancia genética de Nei (1972), diferenciándose cada una a una distancia de 0.212.

4.3. Verificación de la ubicación de las colectas en los diferentes tipos

Se realizó el análisis discriminante como un elemento más para corroborar el grupo al que pertenece cada población, así como para precisar aquellas poblaciones que aparecen como no definidas en el análisis de componentes principales y en el análisis de agrupamiento (Cuadro 6). La mayoría de las accesiones mantuvieron el tipo asignado *a priori*, con algunas excepciones, lo que valida la experiencia de los agricultores en el manejo de su germoplasma. La población CH1-P, reclasificada como Ancho, se agrupó también en los análisis anteriores junto con las poblaciones tipo Ancho de Zacatecas RG1-A y RG2-A, por lo que comparten ciertos rasgos genéticos de este tipo. Las poblaciones FT3-P, FT6-P, TI1-P, RT2-P, MO3-P, de tipo Poblano, y MC8-A, de tipo Ancho, obtuvieron una nueva clasificación dentro del tipo Loco, lo que es congruente con el análisis de componentes principales, ya que estas poblaciones se ubicaron en el extremo inferior del grupo del tipo Poblano, más cercanas al grupo del tipo Loco (Figura 1).

Cuadro 6. Clasificación de las 63 poblaciones de Chile en los diferentes grupos de acuerdo al análisis discriminante con los 105 alelos encontrados en los 19 loci de microsatélites.

Población	Tipo	Clasificado <i>a priori</i>	Probabilidad de clasificación posterior				
			Ancho	Híbrido	Loco	Miahuateco	Poblano
CH1-P	P	A	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CH2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
CH3-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
CH4-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
DA1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
FT1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
FT2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
FT3-P	P	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
FT4-L	L	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
FT5-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
FT6-P	P	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
LC1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LC2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LC3-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LC4-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LC5-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LC6-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LG1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LG2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LG3-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LG4-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
LG5-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MC1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MC2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MC3-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MC4-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MC5-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MC6-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MC7-L	L	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MC8-A	A	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
JC1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
JC2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
JC3-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

Cuadro 6. Continuación

Población	Tipo	Clasificado <i>a priori</i>	Probabilidad de clasificación posterior				
			Ancho	Híbrido	Loco	Miahuateco	Poblano
JC4-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
JC5-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
AC1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MT1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MT2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MT3-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MT4-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MT5-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MT6-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MT7-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
TI1-P	P	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
TI2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
RT1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
RT2-P	P	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
RT3-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
RT4-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
RT5-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
RT6-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
RT7-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
RT8-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
RT9-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MO1-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MO2-P	P	P	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
MO3-P	P	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
MO4-P	P	H	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
MI1-M	M	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
MI2-M	M	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
RG1-A	A	L	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
RG2-A	A	A	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
HI1-A	H	P	0.00		0.00	0.00	1.00

P= Poblano, A= Ancho, L= Loco, M= Miahuateco, H= Híbrido

La población MO4-P fue recatalogada como híbrido, lo cual fue inesperado, ya que en todos los análisis anteriores ésta permaneció dentro del grupo de chile Poblanos. Por otro lado, las poblaciones FT4-L, MC7-L, de tipo Loco, y el Híbrido HI1-A fueron reclasificadas como tipo Poblano y las poblaciones MI1-M, MI2-M, de tipo Miahuateco, y RG1-A, de tipo Ancho, fueron reubicadas como tipo Loco, lo que resulta incongruente, probablemente debido a que sólo se cuenta con una o dos poblaciones definidas de estos tipos, reduciendo substancialmente el espacio multivariado asignado a los grupos en la matriz de calibración durante el análisis.

4.4. Comparación entre la caracterización morfológica y análisis de SSR

La integración de la caracterización morfológica realizada por Toledo (2010) y el análisis mediante microsatélites de este estudio, ofrece un panorama más amplio para la determinación de la diversidad genética de las variedades locales de chile Poblano. El ACP realizado por Toledo (2010) con 49 de las 63 colectas de este estudio, indican que los cuatro primeros componentes principales explicaron el 56 % de la variación total, siendo las características más importantes en la determinación de la variabilidad aquellas relacionadas con la calidad del fruto. Lo anterior responde a los criterios utilizados de forma tradicional por los agricultores de la región para la selección de sus variedades, entre las que se encuentran el rendimiento y apariencia del fruto (Rodríguez *et al.*, 2007).

El comportamiento de las colectas caracterizadas morfológicamente sigue en mayor medida el mismo patrón de asociación en el ACP, así como en el análisis de conglomerados derivado del análisis molecular con microsatélites, concentrándose las variedades locales en un grupo más o

menos compacto y diferenciándose claramente de los tipos Ancho, Loco, Miahuateco y del híbrido. Nuevamente, la colecta CH1-P, de tipo poblano, se separó del grupo principal, indicando que posee características distintivas, tales como mayor altura de planta, bajo rendimiento, bajo peso de fruto y fruto de color negro. A diferencia del resto de las poblaciones de tipo Poblano, los alelos con mayor frecuencia en esta población son *Hpms1-214_A*, *AF244121_B*, *Hpms1-1_D*, *Hpms1-274_D*, *Hpms1-5_F*, *Hpms1-143_C*, *Hpms2-21_A* y *AF039662_C* en el CP1 (Figura 1).

Las poblaciones FT3-P, LG4-P, MC5-P y MC8-A poseen otras características como mayor rendimiento, peso de fruto intermedio con frutos color rojo oscuro. Estas poblaciones fueron agrupadas dentro del conjunto de chile poblano; no obstante, en el análisis molecular las colectas FT3-P y MC8-A fueron reclasificadas como del tipo Loco, mientras que la población LG4-P, llamada localmente “Poblano Rojo”, tuvo un comportamiento independiente dentro del grupo de chile Poblano y la población MC5-P se mantuvo como chile Poblano. Por otro lado, la población LG5-P, de tipo Poblano, también tuvo un comportamiento diferente al Poblano típico en el análisis molecular, ya que presenta con mayor frecuencia los alelos *Hpms1-214_C*, *AF244121_A*, *Hpms1-1_A*, *Hpms1-274_C*, *Hpms1-62_F* y *HpmsCaSIG19_D* (Figura 1), siendo conocida como “Poblano Negro”; sin embargo, no fue diferenciada en el análisis morfológico. Finalmente, la población T11-P, clasificada originalmente como de tipo Poblano en este estudio, mostró mayores similitudes con el tipo Loco, adquiriendo esta tipificación tanto en la caracterización molecular como en la morfológica.

La extensa diversidad detectada por ambos análisis indica que existen diferentes fuentes de recursos genéticos para el chile Poblano de la región, así como para otros tipos de chiles del género *Capsicum*, lo cual puede ser capitalizado, por ejemplo, en la generación de una colección núcleo para conservación de los materiales representativos, genéticamente diversos y particularmente valiosos para el mejoramiento de variedades (Zewdie *et al.*, 2004). La falta de semilla mejorada, seleccionada con base en las necesidades de los productores de la región, es un problema que está contribuyendo a una eventual pérdida de este valioso recurso. El mejoramiento debe incluir aspectos como la resistencia a enfermedades, rendimiento y apariencia del fruto, los cuales responden a los principales criterios utilizados por los agricultores en la selección de sus variedades (Rodríguez *et al.*, 2007); sin embargo, la detección y fijación de tales caracteres multialélicos resulta complicada, por lo que la integración de técnicas moleculares, tal como los microsatélites, durante la selección y desarrollo de materiales apropiados es importante (Pickersgill, 1997; Ortiz *et al.*, 2010). El uso de los SSR es un método eficiente para la autenticación y postulación de candidatos a registro de tipos o variedades (Jain *et al.*, 2004; Kwon *et al.*, 2005).

5. CONCLUSIONES

La complejidad genética resultó ser más elevada en las variedades locales de chile, existiendo una mayor diversidad dentro del tipo Poblano. Los análisis estadísticos basados en SSR permitieron un mayor grado de discernimiento de la diversidad dentro de este tipo de chile.

Se detectaron 105 alelos generados a partir de los 19 loci de microsatélites evaluados en las colectas, los cuales permitieron la diferenciación entre las distintas variedades provenientes de la Sierra Nevada de Puebla, Tehuacán y Zacatecas.

Los tipos de chile Poblano y Miahuateco poseen una diferenciación genética moderada, mientras que en los tipos Ancho y Loco esta diferenciación es alta, indicando que la variabilidad se encuentra distribuida en mayor proporción dentro de las poblaciones.

Se identificaron al menos 25 alelos significativos que contribuyeron en mayor medida en la variabilidad de los tres primeros componentes principales y la clasificación de las variedades, dentro de los cuales destacan tres loci, *Hpms2-2*, *Hpms1-214* y AF244121, ya que todos o la mayoría de sus respectivos alelos aportan de manera significativa a la explicación de la variación en dichos componentes principales.

De manera global, se determinó que un 89.2% de la variación total se encuentra dentro de las colectas, y sólo el 10.8% entre ellas, lo cual es un indicador de que un programa de selección

recurrente dentro de poblaciones sería adecuado para un aprovechamiento más eficiente de la diversidad existente.

El uso de los marcadores moleculares de microsatélites permitió distinguir entre las diferentes poblaciones, asimismo permitió la identificación de poblaciones con diferente clasificación pertenecientes al mismo tipo, facilitando la correcta categorización de los materiales; además, permitió la estimación de la diversidad genética, cuyos parámetros deben ser tomados en cuenta en el diseño de estrategias de conservación de las variedades nativas de chile Poblano de la Sierra Nevada de Puebla.

6. LITERATURA CITADA

- Aguilar-Meléndez, A., P. L. Morrell, M. L. Roose y S. C. Kim. 2009. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum* L; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany* 96:1190–1202.
- Aktas, H., K. Abak y S. Sensoy. 2009. Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. *African Journal of Biotechnology* 8(18):4378-4386.
- Ashkenazi, V., E. Chani, U. Lavi, D. Levy, J. Hillel y R. E. Veilleux. 2001. Development of microsatellite markers in potato and their use in phylogenetic and fingerprinting analyses. *Genome* 44:50-62.
- Baral, J. B. y P. W. Bosland. 2002. An updated synthesis of the *Capsicum* genus. *Capsicum & Eggplant Newsletter* 21: 11–21.
- Becher, S. A., K. Steinmetz, K. Weising, S. Boury, D. Peltier, J.-P. Renou, G. Kahl y K. Wolff. 2000. Microsatellites for cultivar identification in *Pelargonium*. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 643–651.
- Bosland, P. W. y E. J. Votava. 2000. *Peppers: Vegetable and Spice Capsicums*. CABI Publishing. Wallingford, UK. 204 p.

- Castañón-Nájera, G., L. Latournerie-Moreno, M. Mendoza-Elos, A. Vargas-López, y H. Cárdenas-Morales. 2008. Colección y caracterización de Chile (*Capsicum* spp) en Tabasco, México. *Phyton* (Buenos Aires) 77: 189-202.
- Davies, B. H., S. Matthews, y J.T.O. Kirk. 1970. The nature and biosynthesis of the carotenoids of different colour varieties of *Capsicum annuum*. *Phytochemistry* 9: 797-805.
- Demir, K., M. Bakır, G. Sarıkamış y S. Acunalp. 2010. Genetic diversity of eggplant (*Solanum melongena*) germplasm from Turkey assessed by SSR and RAPD markers. *Genetics and Molecular Research* 9: 1568-1576.
- DeWitt, D. y Bosland, P.W. 2010. The Complete Chile Pepper Book. Timber Press, Inc. Segunda impresión. China. 336 p.
- Djian-Caporalino, C., V. Lefebvre, A.M. Sage-Daubèze, y A. Palloix. 2006. Capsicum. *In: Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement*. Vol. 3. Vegetable Crops. R.J. Singh (ed.). CRC Press. Boca Raton, FL. pp.185-243.
- Edwards, M. C. y R. A. Gibbs. 1994. Multiplex PCR: Advantages, Development, and Applications. *Genome Research* 3:S65 S75.

- FAOSTAT. 2009. FAO Statistical Databases. Publishing Management Service, Information Division, Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO). Rome, Italy. <http://faostat.fao.org> (Consultado el 23 de marzo de 2011).
- Franco, T. L. y R. Hidalgo. 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín Técnico IPGRI No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. 89 p.
- González-Andrés, F. 2001. Caracterización de los recursos fitogenéticos. *In: Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos*. F. González-Andrés y J. M. Pita (eds.). Publicaciones INEA. Valladolid, España. pp: 189-217.
- Guzmán, F. A., H. Ayala, C. Azurdía, M. C. Duque y M. C. de Vicente. 2005. AFLP assessment of genetic diversity of *Capsicum* genetic resources in Guatemala: home gardens as an option for conservation. *Crop Science* 45: 363-370.
- Hanáček, P., T. Vyhnánek, M. Rohrer, J. Cieslarová, y H. Stavělíková. 2009. DNA polymorphism in genetic resources of red pepper using microsatellite markers. *Horticultural Science (Prague)* 36: 127-132.
- Hernández V. S., A. González R., P. Sánchez P., A. Casas y K. Oyama. 2006. Estructura y diferenciación genética de poblaciones silvestres y domesticadas de Chile del noroeste de

- México analizada con isoenzimas y RAPDs. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29 (Núm. Especial 2):25-29.
- Huh, J.H., B.C. Kang, S.H. Nahm, S. Kim, K.S. Ha, M.H. Lee y B.D. Kim. 2001. A candidate gene approach identified phytoene synthase as the locus for mature fruit color in red pepper (*Capsicum* spp.). *Theoretical and Applied Genetics* 102: 524-530.
- IPGRI, AVRDC y CATIE. 1995. Descriptors for *Capsicum* (*Capsicum* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy; the Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan, and the Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. 49 p.
- Iriondo, A. J. M. 2001. Conservación de recursos fitogenéticos. *In: Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos*. F. González-Andrés y J. M. Pita (eds.). Publicaciones INEA. Valladolid, España. pp: 15-32.
- ISTA. 2008. International Rules for Seed Testing. Germination. The International Seed Testing Association. Bassersdorf CH-Switzerland. pp: 5-31.
- Jain, S., R. K. Jain y S. R. McCouch. 2004. Genetic analysis of Indian aromatic and quality rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using panels of fluorescently-labeled microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 109: 965-977.

- Kwon, Y.S., K.M. Kim, D.H. Kim, M.Y. Eun y J.K. Sohn. 2003. Marker-assisted introgression of quantitative trait loci associated with plant regeneration ability in anther culture of rice (*Oryza sativa* L.). *Molecules and Cells* 14: 24–28.
- Kwon, Y.S., J.M. Lee, G.B. Yi, S.I. Yi, K.M. Kim, E.H. Soh, K.M. Bae, E.K. Park, I.H. Song y B.D. Kim. 2005. Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Molecules and Cells* 19: 428-435.
- Lee, J.M., S.H. Nahm, Y.M. Kim y B.D. Kim. 2004. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 619–627.
- Lefebvre, V., A. Palloix, C. Caranta y E. Pochard. 1995. Construction of an intraspecific integrated linkage map of pepper using molecular markers and doubled-haploid progenies. *Genome* 38: 112–121.
- Livingstone, K.D., V.K. Lackney, J.R. Blauth, R. van Wijk y M.K. Jahn. 1999. Genome mapping in *Capsicum* and the evolution of genome structure in the Solanaceae. *Genetics* 152:1183–1202.
- McCouch, S. R., X. Chen, O. Panaud, S. Temnykh, Y. Xu, Y.G. Cho, N. Huang, T. Ishii y M. Blair. 1997. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Molecular Biology* 35: 89–99.

- McNeish, R. S. 1964. Ancient Mesoamerican civilization. *Science* 143: 531–537.
- Moreno P., E. C., O. Cruz A., C. H. Avendaño A, M. A. T. Martínez D. y A. Peña L. 2007. Morphological variation in *Guajillo* chili pepper plants (*Capsicum annum* L.). African Crop Science Conference Proceedings 8: 327-332.
- Nagy, I., A. Polley y M. Ganal. 1998. Development and characterization of microsatellite markers in pepper. *In: Proceedings Xth Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant*. A. Palloix and M.C. Daunay (eds). Avignon, France. pp. 235–237.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106: 283-292.
- Ortiz, R., F. Delgado F., G. Alvarado, y J. Crossa. 2010. Classifying vegetable genetic resources– A case study with domesticated *Capsicum* spp. *Scientia Horticulturae* 126:186-191.
- Oyama, K., S. Hernández-Verdugo, C. Sánchez, A. González-Rodríguez, P. Sánchez-Peña, J. A. Garzón-Tiznado y A. Casas. 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annum* (Solanaceae) from Northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 553-562.
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). *Evolution* 25: 683–691.

- Pickersgill, B. 1991. Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L. *In: Chromosome Engineering in Plants, Genetics, Breeding and Evolution. Part B.* T. Tsuchiya and P.K. Gupta (eds.). Elsevier. Amsterdam. pp. 139–160.
- Pickersgill, B. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129-133.
- Promega. 2005. Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit. Technical Manual. Promega Corporation. Madison, WI, USA. 20 p.
- Rao, C.R. 1973. *Linear Statistical Inference and its Applications.* John Wiley & Sons. New York. 656 p.
- Rao, R. y K. W. Riley. 1994. The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Genetic Resources Newsletter* 97: 3-19.
- Rodríguez M., J.N. 2004. Desarrollo endógeno local de productores rurales de chile poblano (*Capsicum annuum* L.) en dos comunidades rurales de Puebla, México. Tesis Doctoral. Campus Puebla. Colegio de Postgraduados, Puebla, Pue. 242 p.
- Rodríguez, J., B.V. Peña O., A. Gil M., B. Martínez C., F. Manzo y L. Salazar L. 2007. Rescate *in situ* del chile “poblano” en Puebla, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30:25-32.

- Rodríguez, J.M., T. Berke, L. Engle y J. Nienhuis. 1999. Variation among and within *Capsicum* species revealed by RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* 99:147–156.
- Rohlf, F. J. 2002. NTSYS pc: Numerical Taxonomy System, Version 2.1. Exeter Publishing. Setauket, NY.
- SAGARPA. 2009. Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. http://siea.sagarpa.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350 (Consultado el 20 de febrero de 2011).
- SAS Institute. 2002. SAS/STAT User's Guide. Software Version 9.0. SAS Institute Inc. Cary, N.C., USA. 4424 p.
- SDR Puebla. 2007. Cadenas Productivas Agropecuarias y Acuícolas del Estado de Puebla. Primera Edición. Gobierno del Estado de Puebla. México. P 97.
- Snyder L. A., D. Freifelder, y D. L. Hartl. 1985. *General Genetics*. Jones & Bartlett. Boston, MA. 666 p.
- Tai, T.H., D. Dahlbeck, E.T. Clark, P. Gajiwala, R. Pasion, M.C. Whalen, R.E. Stall y B.J. Staskawicz. 1999. Expression of the *Bs2* pepper gene confers resistance to bacterial spot disease in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96(24): 14153–14158.

- Tam, S. M., C. Mhiri, A. Vogelaar, M. Kerkveld, S. R. Pearce y M. A. Grandbastien. 2005. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. *Theoretical and Applied Genetics* 110:819–831.
- Toledo A., R. 2010. Diversidad morfológica y potencial productivo de variedades nativas de Chile “poblano”. Tesis de Maestría en Ciencias. Campus Puebla. Colegio de Postgraduados. Puebla, Pue. 64 p.
- UPOV. 2002. Progress report of the 36th session of the Technical Committee, the Technical Working Parties and Working Group on Biochemical and Molecular Techniques and DNA-profiling in Particular. BMT/36/10 Document. Geneva, Switzerland.
- Valadez M., E. y G. Kahl. 2000. Huellas de ADN en Genomas de Plantas. Ed. Mundi Prensa. México, D.F. 147 p.
- Walsh, B. M. y S. B. Hoot. 2001. Phylogenetic relationships of *Capsicum* (Solanaceae) using DNA sequences from two noncoding regions: the chloroplast *atpB-rbcL* spacer region and nuclear *waxy* introns. *International Journal of Plant Science* 162:1409-1418.
- Wei, Y.M., Y.C. Hou, Z.H. Yan, W. Wu, Z.Q. Zhang, D.C. Liu, y Y.L. Zheng. 2005. Microsatellite DNA polymorphism divergence in Chinese wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces highly resistant to *Fusarium* head blight. *Journal of Applied Genetics* 46:3-9.

- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
- Wright, S. 1978. *Evolution and the Genetics of Populations*. Vol. 4. Variability within and among Natural Populations. University of Chicago Press. Chicago, IL, USA. 510 p.
- Yeh, F.C., R. Yang y T. Boyle. 1999. POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Quick User Guide. University of Alberta and Centre for International Forestry Research. Edmonton, Canada.
<http://www.ualberta.ca/~fyeh/>. Consultado el 15 de enero de 2011.
- Zangenberg, G., R. K. Saiki y R. Reynolds. 1999. Multiplex PCR: optimization guidelines. *In: PCR Applications. Protocols for Functional Genomics*. Innis, M.A., D.H. Gelfand y J.J. Sninsky (eds). Academic Press. San Diego, California, USA. pp: 73-94.
- Zewdie, Y., N. Tong y P. Bosland. 2004. Establishing a core collection of *Capsicum* using a cluster analysis with enlightened selection of accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51:147–151.

7. ANEXOS

Cuadro 1A. Municipios y localidades de colecta de los materiales de chile incluidos en el estudio de diversidad genética.

Colecta	Etiqueta	Tipo	Localidad	Municipio
CH1-P	A	Poblano	Cháhuac	Domingo Arenas
CH2-P	B	Poblano	Cháhuac	Domingo Arenas
CH3-P	C	Poblano	Cháhuac	Domingo Arenas
CH4-P	D	Poblano	Cháhuac	Domingo Arenas
DA1-P	E	Poblano	Domingo Arenas	Domingo Arenas
FT1-P	F	Poblano	San Felipe Teotlatzingo	San Felipe Teotlatzingo
FT2-P	G	Poblano	San Felipe Teotlatzingo	San Felipe Teotlatzingo
FT3-P	H	Poblano	San Felipe Teotlatzingo	San Felipe Teotlatzingo
FT4-L	I	Loco	San Felipe Teotlatzingo	San Felipe Teotlatzingo
FT5-P	J	Poblano	San Felipe Teotlatzingo	San Felipe Teotlatzingo
FT6-P	K	Poblano	San Felipe Teotlatzingo	San Felipe Teotlatzingo
LC1-P	L	Poblano	San Lorenzo Chiautzingo	San Lorenzo Chiautzingo
LC2-P	M	Poblano	San Lorenzo Chiautzingo	San Lorenzo Chiautzingo
LC3-P	N	Poblano	San Lorenzo Chiautzingo	San Lorenzo Chiautzingo
LC4-P	O	Poblano	San Lorenzo Chiautzingo	San Lorenzo Chiautzingo
LC5-P	P	Poblano	San Lorenzo Chiautzingo	San Lorenzo Chiautzingo
LC6-P	Q	Poblano	San Lorenzo Chiautzingo	San Lorenzo Chiautzingo
LG1-P	R	Poblano	San Lucas El Grande	San Salvador el Verde
LG2-P	S	Poblano	San Lucas El Grande	San Salvador el Verde
LG3-P	T	Poblano	San Lucas El Grande	San Salvador el Verde
LG4-P	U	Poblano	San Lucas El Grande	San Salvador el Verde
LG5-P	V	Poblano	San Lucas El Grande	San Salvador el Verde
MC1-P	W	Poblano	San Mateo Capultitlán	San Miguel Huejotzingo
MC2-P	X	Poblano	San Mateo Capultitlán	San Miguel Huejotzingo
MC3-P	Y	Poblano	San Mateo Capultitlán	San Miguel Huejotzingo
MC4-P	Z	Poblano	San Mateo Capultitlán	San Miguel Huejotzingo

Cuadro 1A. Continuación

Colecta	Etiqueta	Tipo	Localidad	Municipio
MC5-P	a	Poblano	San Mateo Capultitlán	San Miguel Huejotzingo
MC6-P	b	Poblano	San Mateo Capultitlán	San Miguel Huejotzingo
MC7-L	c	Loco	San Mateo Capultitlán	San Miguel Huejotzingo
MC8-A	d	Ancho	San Mateo Capultitlán	San Miguel Huejotzingo
JC1-P	e	Poblano	Juárez Coronaco	San Matías Tlalancaleca
JC2-P	f	Poblano	Juárez Coronaco	San Matías Tlalancaleca
JC3-P	g	Poblano	Juárez Coronaco	San Matías Tlalancaleca
JC4-P	h	Poblano	Juárez Coronaco	San Matías Tlalancaleca
JC5-P	i	Poblano	Juárez Coronaco	San Matías Tlalancaleca
AC1-P	j	Poblano	San Antonio Chautla	San Matías Tlalancaleca
MT1-P	k	Poblano	San Matías Tlalancaleca	San Matías Tlalancaleca
MT2-P	l	Poblano	San Matías Tlalancaleca	San Matías Tlalancaleca
MT3-P	m	Poblano	San Matías Tlalancaleca	San Matías Tlalancaleca
MT4-P	n	Poblano	San Matías Tlalancaleca	San Matías Tlalancaleca
MT5-P	o	Poblano	San Matías Tlalancaleca	San Matías Tlalancaleca
MT6-P	p	Poblano	San Matías Tlalancaleca	San Matías Tlalancaleca
MT7-P	q	Poblano	San Matías Tlalancaleca	San Matías Tlalancaleca
TI1-P	r	Poblano	San Miguel Tianguistengo	Tlahuapan
TI2-P	s	Poblano	San Miguel Tianguistengo	Tlahuapan
RT1-P	t	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
RT2-P	u	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
RT3-P	v	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
RT4-P	w	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
RT5-P	x	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
RT6-P	y	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
RT7-P	z	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
RT8-P	.	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
RT9-P	^	Poblano	San Rafael Tlanalapan	San Martín Texmelucan
MO1-P	=	Poblano	Sta. María Moyotzingo	San Martín Texmelucan

Cuadro 1A. Continuación

Colecta	Etiqueta	Tipo	Localidad	Municipio
MO2-P	-	Poblano	Sta. María Moyotzingo	San Martín Texmelucan
MO3-P	<	Poblano	Sta. María Moyotzingo	San Martín Texmelucan
MO4-P	>	Poblano	Sta. María Moyotzingo	San Martín Texmelucan
MI1-M	,	Miahuateco	Santiago Miahuatlán	Tehuacán
MI2-M	\$	Miahuateco	Santiago Miahuatlán	Tehuacán
RG1-A	*	Ancho	Rancho Grande	Fresnillo, Zacatecas
RG2-A	+	Ancho	Rancho Grande	Fresnillo, Zacatecas
Doroteo	@	Híbrido	Comercial	Ahern Int. S.A. de C.V.

Cuadro 2A. Número de alelos, número y proporción de loci polimórficos generados a partir de los 19 loci de microsatélites evaluados en los cinco tipos de Chile.

Locus	Poblano	Ancho	Loco	Miahuateco	Híbrido	Alelos Totales	AL[†]
<i>Hpms2-2</i>	4	4	4	3	2	4	3.4
<i>Hpms2-24</i>	6	3	3	3	0	6	3
<i>Hpms1-106</i>	2	2	2	2	1	2	1.8
<i>HpmsCaSIG19</i>	5	2	3	2	1	5	2.6
<i>Hpms1-214</i>	5	6	4	4	2	6	4.2
CM0005	3	3	2	2	1	3	2.2
<i>Hpms1-172</i>	12	6	1	6	1	12	5.2
<i>HpmsAT2-14</i>	1	1	1	1	1	1	1
AF244121	2	2	1	2	2	2	1.8
<i>Hpms1-173</i>	6	4	3	3	1	6	3.4
<i>Hpms1-1</i>	4	2	1	2	1	4	2
<i>Hpms1-274</i>	4	2	1	2	1	4	2
<i>Hpms1-5</i>	12	7	7	3	2	12	6.2
<i>Hpms1-62</i>	7	5	4	2	4	8	4.4
<i>Hpms1-143</i>	9	4	5	3	1	9	4.4
<i>Hpms1-148</i>	3	3	3	4	3	4	3.2
<i>Hpms2-21</i>	8	6	7	6	1	8	5.6
AF039662	4	3	2	3	2	5	2.8
CAN130829	3	2	2	3	2	4	2.4
No. de alelos	100	67	56	56	29	105	3.24
Media	5.26	3.53	2.95	2.95	1.61	5.53	
Desv. Std.	3.14	1.74	1.87	1.31	0.85	3.10	
NLP^{††}	18	18	14	18	8	15.2	
PLP^{†††} (%)	94.74	94.74	73.68	94.74	42.11	80.00	

[†]Número de alelos promedio por locus; ^{††}Número de loci polimórficos; ^{†††}Proporción de loci polimórficos.

Cuadro 3A. Heterocigosidad esperada generada a partir de los 19 loci de microsatélites evaluados en los cinco tipos de chile.

Locus	Poblano	Ancho	Loco	Miahuateco	Híbrido	PIC
<i>Hpms2-2</i>	0.490	0.606	0.704	0.650	0.526	0.595
<i>Hpms2-24</i>	0.621	0.539	0.383	0.603	0.000	0.429
<i>Hpms1-106</i>	0.498	0.468	0.356	0.272	0.000	0.319
<i>HpmsCaSIG19</i>	0.419	0.267	0.531	0.492	0.000	0.342
<i>Hpms1-214</i>	0.257	0.763	0.350	0.709	0.526	0.521
CM0005	0.123	0.159	0.224	0.358	0.000	0.173
<i>Hpms1-172</i>	0.710	0.455	0.000	0.538	0.000	0.340
<i>HpmsAT2-14</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AF244121	0.117	0.352	0.000	0.512	0.521	0.300
<i>Hpms1-173</i>	0.661	0.571	0.309	0.422	0.000	0.392
<i>Hpms1-1</i>	0.046	0.481	0.000	0.409	0.000	0.187
<i>Hpms1-274</i>	0.075	0.066	0.000	0.467	0.000	0.122
<i>Hpms1-5</i>	0.742	0.615	0.679	0.381	0.100	0.503
<i>Hpms1-62</i>	0.762	0.664	0.729	0.513	0.621	0.658
<i>Hpms1-143</i>	0.762	0.553	0.669	0.396	0.000	0.476
<i>Hpms1-148</i>	0.588	0.525	0.562	0.627	0.637	0.588
<i>Hpms2-21</i>	0.708	0.787	0.811	0.744	0.000	0.610
AF039662	0.342	0.543	0.513	0.445	0.268	0.422
CAN130829	0.483	0.507	0.409	0.522	0.526	0.489
Het. Esp. Grupo	0.442	0.469	0.380	0.477	0.207	0.395
Std. Dev	0.267	0.215	0.280	0.168	0.266	0.180

Cuadro 4A. Frecuencias alélicas de los 105 alelos derivados de los 19 loci de microsatélites evaluados en los cinco tipos de chile.

Locus	Alelo	Tamaño (pb)	Poblano	Ancho	Loco	Miahuateco	Híbrido	General
<i>Hpms2-2</i>	A	148	0.691	0.500	0.225	0.225	0.500	0.428
<i>Hpms2-2</i>	B	149	0.108	0.050	0.225	0.475	0.500	0.272
<i>Hpms2-2</i>	C	150	0.127	0.383	0.450	0.000	0.000	0.192
<i>Hpms2-2</i>	D	151	0.075	0.067	0.100	0.300	0.000	0.108
<i>Hpms2-24</i>	A	187	0.280	0.052	0.211	0.389	0.000	0.186
<i>Hpms2-24</i>	B	188	0.516	0.569	0.763	0.500	0.000	0.470
<i>Hpms2-24</i>	C	202	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Hpms2-24</i>	D	203	0.187	0.379	0.026	0.111	0.000	0.141
<i>Hpms2-24</i>	E	204	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms2-24</i>	F	205	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002
<i>Hpms1-106</i>	A	158	0.465	0.643	0.222	0.844	1.000	0.635
<i>Hpms1-106</i>	B	164	0.535	0.357	0.778	0.156	0.000	0.365
<i>HpmsCaSIG19</i>	A	216	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>HpmsCaSIG19</i>	B	217	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>HpmsCaSIG19</i>	C	219	0.271	0.155	0.553	0.400	0.000	0.276
<i>HpmsCaSIG19</i>	D	221	0.713	0.845	0.421	0.600	1.000	0.716
<i>HpmsCaSIG19</i>	E	223	0.012	0.000	0.026	0.000	0.000	0.008
<i>Hpms1-214</i>	A	88	0.027	0.300	0.050	0.300	0.500	0.235
<i>Hpms1-214</i>	B	91	0.051	0.133	0.125	0.425	0.000	0.147
<i>Hpms1-214</i>	C	95	0.858	0.317	0.800	0.150	0.000	0.425
<i>Hpms1-214</i>	D	98	0.058	0.033	0.025	0.125	0.500	0.148
<i>Hpms1-214</i>	E	101	0.006	0.200	0.000	0.000	0.000	0.041
<i>Hpms1-214</i>	F	108	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000	0.003
CM0005	A	154	0.053	0.050	0.125	0.225	0.000	0.091
CM0005	B	157	0.012	0.033	0.000	0.000	0.000	0.009
CM0005	C	160	0.935	0.917	0.875	0.775	1.000	0.900
<i>Hpms1-172</i>	A	335	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-172</i>	B	336	0.005	0.000	0.000	0.033	0.000	0.008

Cuadro 4A. Continuación

Locus	Alelo	Tamaño (pb)	Poblano	Ancho	Loco	Miahuateco	Híbrido	General
<i>Hpms1-172</i>	C	337	0.137	0.039	0.000	0.033	0.000	0.042
<i>Hpms1-172</i>	D	338	0.490	0.731	1.000	0.667	1.000	0.777
<i>Hpms1-172</i>	E	339	0.044	0.000	0.000	0.067	0.000	0.022
<i>Hpms1-172</i>	F	340	0.048	0.019	0.000	0.167	0.000	0.047
<i>Hpms1-172</i>	G	341	0.014	0.039	0.000	0.000	0.000	0.010
<i>Hpms1-172</i>	H	342	0.073	0.115	0.000	0.033	0.000	0.044
<i>Hpms1-172</i>	I	343	0.149	0.058	0.000	0.000	0.000	0.041
<i>Hpms1-172</i>	J	344	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-172</i>	K	345	0.027	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005
<i>Hpms1-172</i>	L	346	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>HpmsAT2-14</i>	A	176	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
AF244121	A	240	0.938	0.778	1.000	0.525	0.550	0.758
AF244121	B	243	0.062	0.222	0.000	0.475	0.450	0.242
<i>Hpms1-173</i>	A	159	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
<i>Hpms1-173</i>	B	161	0.187	0.035	0.050	0.000	0.000	0.054
<i>Hpms1-173</i>	C	163	0.028	0.052	0.000	0.025	0.000	0.021
<i>Hpms1-173</i>	D	165	0.452	0.362	0.825	0.725	0.000	0.473
<i>Hpms1-173</i>	E	167	0.315	0.552	0.125	0.250	1.000	0.448
<i>Hpms1-173</i>	F	169	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Hpms1-1</i>	A	270	0.976	0.617	1.000	0.725	1.000	0.864
<i>Hpms1-1</i>	B	272	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-1</i>	C	280	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Hpms1-1</i>	D	284	0.018	0.383	0.000	0.275	0.000	0.135
<i>Hpms1-274</i>	A	162	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-274</i>	B	163	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-274</i>	C	176	0.961	0.967	1.000	0.650	1.000	0.916
<i>Hpms1-274</i>	D	180	0.032	0.033	0.000	0.350	0.000	0.083
<i>Hpms1-5</i>	A	289	0.084	0.033	0.500	0.000	0.000	0.123
<i>Hpms1-5</i>	B	300	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-5</i>	C	302	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002

Cuadro 4A. Continuación

Locus	Alelo	Tamaño (pb)	Poblano	Ancho	Loco	Miahuateco	Híbrido	General
<i>Hpms1-5</i>	D	304	0.046	0.067	0.056	0.150	0.050	0.074
<i>Hpms1-5</i>	E	306	0.439	0.133	0.278	0.075	0.000	0.185
<i>Hpms1-5</i>	F	308	0.052	0.600	0.028	0.775	0.950	0.481
<i>Hpms1-5</i>	G	310	0.064	0.033	0.028	0.000	0.000	0.025
<i>Hpms1-5</i>	H	312	0.004	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-5</i>	I	314	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003
<i>Hpms1-5</i>	J	316	0.211	0.100	0.083	0.000	0.000	0.079
<i>Hpms1-5</i>	K	318	0.071	0.033	0.028	0.000	0.000	0.026
<i>Hpms1-5</i>	L	323	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-62</i>	A	184	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-62</i>	B	185	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004
<i>Hpms1-62</i>	C	186	0.248	0.345	0.353	0.500	0.450	0.379
<i>Hpms1-62</i>	D	187	0.246	0.069	0.147	0.000	0.050	0.102
<i>Hpms1-62</i>	E	188	0.274	0.466	0.353	0.500	0.450	0.408
<i>Hpms1-62</i>	F	189	0.204	0.069	0.147	0.000	0.050	0.094
<i>Hpms1-62</i>	G	190	0.000	0.052	0.000	0.000	0.000	0.010
<i>Hpms1-62</i>	H	192	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Hpms1-143</i>	A	220	0.093	0.000	0.075	0.000	0.000	0.034
<i>Hpms1-143</i>	B	221	0.006	0.017	0.000	0.000	0.000	0.005
<i>Hpms1-143</i>	C	222	0.323	0.617	0.125	0.750	1.000	0.563
<i>Hpms1-143</i>	D	223	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
<i>Hpms1-143</i>	E	224	0.272	0.117	0.275	0.025	0.000	0.138
<i>Hpms1-143</i>	F	225	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Hpms1-143</i>	G	226	0.216	0.250	0.500	0.225	0.000	0.238
<i>Hpms1-143</i>	H	228	0.067	0.000	0.025	0.000	0.000	0.018
<i>Hpms1-143</i>	I	232	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004
<i>Hpms1-148</i>	A	184	0.502	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
<i>Hpms1-148</i>	B	193	0.385	0.483	0.447	0.350	0.150	0.363
<i>Hpms1-148</i>	C	194	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.005
<i>Hpms1-148</i>	D	195	0.113	0.017	0.053	0.125	0.350	0.131

Cuadro 4A. Continuación

Locus	Alelo	Tamaño (pb)	Poblaro	Ancho	Loco	Miahuateco	Híbrido	General
<i>Hpms2-21</i>	A	264	0.004	0.086	0.088	0.333	0.000	0.102
<i>Hpms2-21</i>	B	283	0.048	0.000	0.029	0.028	0.000	0.021
<i>Hpms2-21</i>	C	285	0.061	0.138	0.147	0.056	0.000	0.080
<i>Hpms2-21</i>	D	287	0.477	0.345	0.324	0.333	0.000	0.296
<i>Hpms2-21</i>	E	289	0.088	0.035	0.029	0.000	0.000	0.030
<i>Hpms2-21</i>	F	291	0.169	0.224	0.235	0.028	0.000	0.131
<i>Hpms2-21</i>	G	293	0.152	0.172	0.147	0.222	1.000	0.339
<i>Hpms2-21</i>	H	295	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
AF039662	A	104	0.005	0.000	0.000	0.100	0.150	0.051
AF039662	B	107	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	0.004
AF039662	C	111	0.187	0.464	0.500	0.725	0.850	0.545
AF039662	D	114	0.789	0.500	0.500	0.175	0.000	0.393
AF039662	E	116	0.000	0.036	0.000	0.000	0.000	0.007
CAN130829	A	182	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
CAN130829	B	183	0.392	0.464	0.275	0.400	0.500	0.406
CAN130829	C	184	0.604	0.536	0.725	0.575	0.500	0.588
CAN130829	D	185	0.000	0.000	0.000	0.025	0.000	0.005

Anexo 5A. Vectores propios de los primeros tres componentes principales generados a partir de la matriz de correlación de los 105 alelos encontrados en los 19 loci de microsatélites en las 63 poblaciones de estudio.

Alelo	CP1	CP2	CP3	Alelo	CP1	CP2	CP3
<i>Hpms2-2(A)</i>	-0.1102	0.1310	0.0452	<i>Hpms1-274(C)</i>	-0.1574	0.1222	-0.0023
<i>Hpms2-2(B)</i>	0.0708	-0.0872	-0.2492	<i>Hpms1-274(D)</i>	0.1650	-0.1175	0.0050
<i>Hpms2-2(C)</i>	0.0558	-0.0005	0.3310	<i>Hpms1-5(A)</i>	-0.0474	-0.1550	0.2029
<i>Hpms2-2(D)</i>	0.0332	-0.1491	-0.1966	<i>Hpms1-5(B)</i>	-0.0104	0.0529	-0.0243
<i>Hpms2-24(A)</i>	-0.0347	-0.0226	-0.0817	<i>Hpms1-5(C)</i>	-0.0142	0.0001	0.0127
<i>Hpms2-24(B)</i>	0.0202	-0.0868	0.0541	<i>Hpms1-5(D)</i>	0.1309	-0.0315	-0.0147
<i>Hpms2-24(C)</i>	0.0031	0.0401	0.0365	<i>Hpms1-5(E)</i>	-0.1479	0.0518	-0.1417
<i>Hpms2-24(D)</i>	0.0364	0.2339	0.0372	<i>Hpms1-5(F)</i>	0.2440	0.0329	-0.0046
<i>Hpms2-24(E)</i>	-0.0186	0.0158	-0.0115	<i>Hpms1-5(G)</i>	-0.0554	-0.0380	-0.0033
<i>Hpms2-24(F)</i>	-0.0291	0.0151	0.0569	<i>Hpms1-5(H)</i>	-0.0314	0.0708	-0.0181
<i>Hpms1-106(A)</i>	0.1310	0.1137	-0.1719	<i>Hpms1-5(I)</i>	-0.0362	-0.0055	0.0203
<i>Hpms1-106(B)</i>	-0.1310	-0.1139	0.1718	<i>Hpms1-5(J)</i>	-0.1314	-0.0021	0.0122
<i>HpmsCaSIG19(A)</i>	-0.0209	0.0253	-0.0274	<i>Hpms1-5(K)</i>	-0.0797	0.0593	0.0440
<i>HpmsCaSIG19(B)</i>	-0.0124	-0.0122	-0.0134	<i>Hpms1-5(L)</i>	-0.0320	-0.0046	-0.0093
<i>HpmsCaSIG19(C)</i>	-0.0403	-0.2815	0.1089	<i>Hpms1-62(A)</i>	-0.0078	0.0806	-0.0161
<i>HpmsCaSIG19(D)</i>	0.0443	0.2852	-0.1103	<i>Hpms1-62(B)</i>	-0.0275	0.0876	-0.0949
<i>HpmsCaSIG19(E)</i>	-0.0122	-0.0462	0.0272	<i>Hpms1-62(C)</i>	0.1500	-0.1511	0.0512
<i>Hpms1-214(A)</i>	0.2312	0.0339	0.0341	<i>Hpms1-62(D)</i>	-0.1432	0.0897	-0.0679
<i>Hpms1-214(B)</i>	0.1248	-0.1912	-0.0450	<i>Hpms1-62(E)</i>	0.1502	-0.0579	0.1379
<i>Hpms1-214(C)</i>	-0.2387	0.0066	0.0167	<i>Hpms1-62(F)</i>	-0.1650	0.0797	-0.1248
<i>Hpms1-214(D)</i>	0.0711	0.0328	-0.1928	<i>Hpms1-62(G)</i>	0.0375	0.0152	0.0885
<i>Hpms1-214(E)</i>	0.1510	0.1441	0.2004	<i>Hpms1-62(H)</i>	0.0017	-0.0762	0.1030
<i>Hpms1-214(F)</i>	0.1129	0.1816	0.1562	<i>Hpms1-143(A)</i>	-0.0644	0.0655	-0.1067
CM0005(A)	0.0378	-0.1518	-0.1703	<i>Hpms1-143(B)</i>	0.0666	0.0960	0.0985
CM0005(B)	0.0263	0.0142	0.1093	<i>Hpms1-143(C)</i>	0.1622	0.1009	-0.0663
CM0005(C)	-0.0474	0.1467	0.1305	<i>Hpms1-143(D)</i>	0.0452	0.0050	0.0513

Cuadro 5A. Continuación

Alelo	CP1	CP2	CP3	Alelo	CP1	CP2	CP3
<i>Hpms1-172(A)</i>	-0.0256	-0.0380	0.0497	<i>Hpms1-143(E)</i>	-0.1299	-0.0220	-0.0208
<i>Hpms1-172(B)</i>	0.0353	-0.0902	-0.0160	<i>Hpms1-143(F)</i>	-0.0037	0.0378	-0.0468
<i>Hpms1-172(C)</i>	-0.0882	0.0357	0.0255	<i>Hpms1-143(G)</i>	-0.0282	-0.1888	0.1472
<i>Hpms1-172(D)</i>	0.1001	0.0138	-0.0762	<i>Hpms1-143(H)</i>	-0.0881	0.0266	0.0172
<i>Hpms1-172(E)</i>	-0.0037	-0.0234	-0.0005	<i>Hpms1-143(I)</i>	-0.0358	0.0169	0.0220
<i>Hpms1-172(F)</i>	0.0441	-0.0722	-0.0522	<i>Hpms1-148(A)</i>	-0.0193	-0.0605	0.0770
<i>Hpms1-172(G)</i>	0.0337	0.1482	0.0693	<i>Hpms1-148(B)</i>	0.0212	0.0299	0.1113
<i>Hpms1-172(H)</i>	-0.0457	-0.0487	-0.0120	<i>Hpms1-148(C)</i>	0.1053	-0.1373	-0.1024
<i>Hpms1-172(I)</i>	-0.0623	0.0185	0.1122	<i>Hpms1-148(D)</i>	-0.0263	-0.0121	-0.1159
<i>Hpms1-172(J)</i>	-0.0242	0.0479	-0.0166	<i>Hpms2-21(A)</i>	0.1658	-0.1706	-0.1164
<i>Hpms1-172(K)</i>	-0.0520	-0.0373	0.0597	<i>Hpms2-21(B)</i>	-0.0588	0.0646	-0.0682
<i>Hpms1-172(L)</i>	-0.0088	0.0233	-0.0620	<i>Hpms2-21(C)</i>	0.0319	-0.1479	0.1148
<i>HpmsAT2-14(A)</i>	0.0000	0.0000	0.0000	<i>Hpms2-21(D)</i>	-0.0756	0.0631	0.0592
AF244121(A)	-0.2014	-0.0556	0.0779	<i>Hpms2-21(E)</i>	-0.0829	0.0289	0.0068
AF244121(B)	0.2015	0.0558	-0.0777	<i>Hpms2-21(F)</i>	-0.0337	-0.0521	0.0062
<i>Hpms1-173(A)</i>	-0.0377	-0.0139	0.0531	<i>Hpms2-21(G)</i>	0.0964	0.1013	-0.0807
<i>Hpms1-173(B)</i>	-0.1135	0.0449	-0.0911	<i>Hpms2-21(H)</i>	0.0013	-0.0276	-0.0144
<i>Hpms1-173(C)</i>	-0.0356	-0.1062	0.0390	AF039662(A)	0.1410	-0.0316	-0.1895
<i>Hpms1-173(D)</i>	-0.0297	-0.2706	-0.0008	AF039662(B)	-0.0336	0.0597	-0.0401
<i>Hpms1-173(E)</i>	0.1261	0.2437	0.0491	AF039662(C)	0.1965	-0.0228	-0.0175
<i>Hpms1-173(F)</i>	-0.0393	0.0538	-0.0256	AF039662(D)	-0.2002	0.0005	0.0401
<i>Hpms1-1(A)</i>	-0.2024	-0.0369	-0.1683	AF039662(E)	0.1129	0.1816	0.1562
<i>Hpms1-1(B)</i>	-0.0096	0.0053	0.0441	CAN130829(A)	-0.0071	-0.0299	-0.0227
<i>Hpms1-1(C)</i>	0.0017	-0.0762	0.1030	CAN130829(B)	-0.0077	0.0471	-0.1385
<i>Hpms1-1(D)</i>	0.2059	0.0431	0.1529	CAN130829(C)	0.0044	-0.0396	0.1459
<i>Hpms1-274(A)</i>	-0.0273	0.0193	-0.0451	CAN130829(D)	0.1067	-0.1167	-0.1221
<i>Hpms1-274(B)</i>	-0.0093	-0.0651	0.0346				