



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA**

**CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE  
VARIETADES DE CHILE 'GUAJILLO' NATIVAS DE ZACATECAS A  
NIVEL MORFOLÓGICO, BIOQUÍMICO Y MOLECULAR**

**YOLANDA DEL ROCÍO MORENO RAMÍREZ**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTORA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

**2015**

---

La presente tesis titulada **Caracterización de la diversidad genética de variedades de chile 'Guajillo' nativas de Zacatecas a nivel morfológico, bioquímico y molecular** realizada por la alumna: **Yolanda del Rocío Moreno Ramírez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTORA EN CIENCIAS**

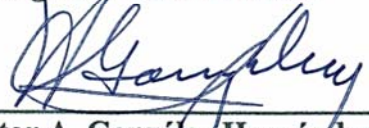
**RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
GENÉTICA**

**CONSEJO PARTICULAR**


**CONSEJERO:**   
Dr. Amalio Santacruz Varela

**DIRECTOR DE TESIS:**   
Dr. Higinio López Sánchez

**ASESOR:**   
Dr. Leobigildo Córdova Téllez

**ASESOR:**   
Dr. Víctor A. González Hernández

**ASESOR:**   
Dr. Pedro Antonio López

**ASESOR:**   
Dr. Tarsicio Corona Torres

Montecillo, Texcoco, México, 01 de Diciembre de 2015

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT**), por la beca otorgada para la realización de mis estudios de postgrado.

A la **Fundación Produce Zacatecas A. C.**, por el financiamiento otorgado para la realización de los estudios de caracterización.

Al **Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos**, por el financiamiento para la realización de los estudios moleculares y bioquímicos.

Al **Colegio de Postgraduados**, en especial a **PREGEP-Genética**, por la oportunidad de conocer y aprender de la investigación agrícola.

A los integrantes del **Consejo Particular** y al **sinodal**, por su apoyo, dirección, sugerencias, compromiso y esfuerzo en este proyecto de investigación.

Al **Dr. F. Omar Holguin**, al **M.Sc. Barry Dungan**, al **Dr. P. W. Bosland** y a **The Chile Pepper Institute de New Mexico State University**, Las Cruces NM, por las facilidades y apoyo otorgado para realizar mi estancia académica.

A la **Bióloga Luz María Olivares**, por su apoyo en la toma de datos en campo para la realización del estudio morfológico.

Al **Ing. Víctor M. Nuñez Villada** y al **Ing. Ricardo López Ortega** por su apoyo en campo para obtener el material vegetal para la realización de los estudios bioquímicos.

## AGRADECIMIENTOS

A las **MC Diana Garfías Sánchez y Verónica Trujillo Pahua**, por su apoyo en laboratorio en el análisis molecular y compartir conmigo su conocimiento, experiencia, compañía y, amistad.

Al **Dr. Mario Rocandio Rodríguez** y al **MC Aurelio Hernández Bautista**, por su apoyo en análisis estadístico molecular así como comentarios y recomendaciones al escrito.

Así como al **Dr. Fernando Castillo González** por sus aportaciones y grandes enseñanzas.

A **Aremí Contreras, César del Ángel H. Galeno, Edgardo Bautista, Nallely Carreón, Braulio Torres, Any López, Elisa Martínez Ochoa, Mary Ángeles Maldonado, Nelly Arellano, Gregorio H. Salinas, Fernando López y Viridiana Trejo**, por su amistad, apoyo, cariño y risas a través de estos años.

A **Doña Yolanda Ramírez**, *mi madre*... porque sin ti nada hubiera sido posible...

*infinitas gracias.*

## DEDICATORIA

*Con amor para mi hijo **Diego** Alonso...*

## CONTENIDO

	Pág.
<b>RESUMEN GENERAL</b> .....	vii
<b>GENERAL ABSTRACT</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	ix
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	1
<b>1. Marco conceptual</b> .....	1
<b>2. Planteamiento del problema</b> .....	9
<b>3. Ojetivos</b> .....	10
<b>4. Hipótesis</b> .....	11
<b>5. Literatura citada</b> .....	12
<b>CAPITULO I. DIVERSIDAD MORFOLÓGICA DE VARIEDADES DE CHILE 'GUAJILLO' NATIVAS DE ZACATECAS, MÉXICO</b> .....	30
<b>1.1. Resumen</b> .....	30
<b>1.2. Summary</b> .....	32
<b>1.3. Introducción</b> .....	33
<b>1.4. Materiales y métodos</b> .....	35
<b>1.5. Resultados y discusión</b> .....	39
<b>1.6. Conclusiones</b> .....	52
<b>1.7. Literatura citada</b> .....	52
<b>CAPITULO II. PATRÓN COMPOSICIONAL DE POBLACIONES NATIVAS DE CHILE 'GUAJILLO'</b> .....	58
<b>2.1. Resumen</b> .....	58
<b>2.2. Summary</b> .....	60
<b>2.3. Introducción</b> .....	61
<b>2.4. Materiales y métodos</b> .....	63
<b>2.5. Resultados y discusión</b> .....	66
<b>2.6. Conclusiones</b> .....	86
<b>2.7. Literatura citada</b> .....	87

<b>CAPITULO III. ANALISIS DE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES NATIVAS DE CHILE 'GUAJILLO' MEDIANTE MICROSATÉLITES.....</b>	<b>97</b>
<b>3.1. Resumen.....</b>	<b>97</b>
<b>3.2. Summary.....</b>	<b>99</b>
<b>3.3. Introducción.....</b>	<b>100</b>
<b>3.4. Materiales y métodos.....</b>	<b>103</b>
<b>3.5. Resultados y discusión.....</b>	<b>107</b>
<b>3.6. Conclusiones.....</b>	<b>122</b>
<b>3.7. Literatura citada.....</b>	<b>122</b>
<b>DISCUSIÓN GENERAL.....</b>	<b>133</b>
<b>LITERATURA GENERAL CITADA.....</b>	<b>138</b>
<b>CONCLUSIONES GENERALES.....</b>	<b>143</b>

# CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE VARIETADES DE CHILE 'GUAJILLO' NATIVAS DE ZACATECAS A NIVEL MORFOLÓGICO, MOLECULAR Y BIOQUÍMICO

Yolanda del Rocío Moreno Ramírez, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2015

Los chiles nativos abastecen gran parte de la producción de chile seco del país, impulsan la economía nacional y son fuertemente apreciados en la cultura culinaria por su sabor, olor y picor. Chile 'Guajillo' destaca por su importancia económica y de valor gastronómico; sin embargo, su diversidad, aunque amplia, no ha sido analizada en condiciones reales de producción, dónde su valoración puede ser más efectiva. El objetivo de este estudio fue analizar la diversidad genética de chile 'Guajillo' nativo de Zacatecas junto a los chiles 'Pasilla', 'Puya' y 'De Árbol' como referentes poblacionales. El análisis de la diversidad se realizó en tres fases: i) La caracterización morfológica, con la descripción de 17 atributos de planta, fruto y semilla altamente discriminantes, evaluadas en 98 poblaciones de chile 'Guajillo' y 12 referentes poblacionales (cuatro de 'Puya', tres de 'Pasilla', una de chile 'De Árbol', y cuatro testigos), establecidas en un diseño experimental látice simple  $10 \times 11$  con dos repeticiones en dos localidades de Zacatecas. La diversidad fenotípica se analizó a través de análisis de componentes principales (ACP) y de conglomerados, que permitieron además la definición de la colección núcleo para el análisis fitoquímico y molecular; ii) El análisis bioquímico sobre el contenido de capsaicinoides, carotenoides y vitamina A en 33 poblaciones nativas de chile 'Guajillo', junto a chiles 'Puya' (3), 'Pasilla' (2), 'De Árbol' (1) y un híbrido comercial utilizados como referentes de picor y color, que se establecieron en un diseño de bloques al azar con dos repeticiones en una localidad de Zacatecas, cuyos datos fueron analizados por comparación de medias, análisis de componentes principales (ACP) y de conglomerados; iii) La caracterización molecular, mediante 19 *loci* de microsatélites de poblaciones de chile 'Guajillo' (32), 'Pasilla' (2), 'Puya' (3), 'De Árbol' (1), y una accesión silvestre tipo 'Piquín' (*C. annuum* L. var. *glabriusculum*) como grupo externo para obtener parámetros de diversidad, estructura y relación genética de las poblaciones mediante análisis de agrupamiento y ACP, y la diferenciación genética entre las poblaciones con base en el análisis conglomerado del modelo bayesiano. Se encontró amplia diversidad a través de los tres estudios; las características de fruto, tamaño, color, forma, longitud de placenta y pedicelo, arrugamiento transversal y días a fructificación, principalmente, definieron los rasgos distintivos de cada tipo de chile, que explicaron de manera precisa la variabilidad fenotípica observada. Se observó alta heterogeneidad en la composición fitoquímica de chile 'Guajillo', que presentó un patrón característico en la composición de capsaicinoides, carotenoides y vitamina A, en el cual se identificaron variantes particulares. Los microsatélites permitieron una clara descripción de la diversidad y relaciones genéticas en las poblaciones de chile 'Guajillo', que mostraron amplia base genética y diversidad intrapoblacional. La diversidad de las poblaciones nativas de chile 'Guajillo' es alta, y su valoración debe ser considerada para establecer estrategias de conservación y aprovechamiento adecuadas para este germoplasma.

**Palabras clave:** *Capsicum annuum* L., caracterización, heterogeneidad, composición fitoquímica, variantes particulares.



# GENETIC DIVERSITY CHARACTERIZATION OF 'GUAJILLO' CHILE LANDRACES FROM ZACATECAS AT MORPHOLOGICAL, MOLECULAR AND BIOCHEMICAL LEVEL

Dr. Yolanda del Rocio Moreno Ramírez

Colegio de Postgraduados, 2015

Native chiles supply much of the country's production of dry chile, driving the national economy, and are highly appreciated in the culinary culture for its taste, smell and pungency. 'Guajillo' chile stands out for its economic importance and gastronomic value; however, its diversity, although wide, has not been analyzed in real production conditions where its assessment may be more effective. The aim of this study was to analyze the genetic diversity of 'Guajillo' chile native of Zacatecas along with 'Pasilla', 'Puya' and 'De Árbol' chiles as population references. The diversity analysis was conducted in three phases: i) morphological characterization, with the description of 17 attributes of plant, fruit and seed highly discriminative, evaluated in 98 'Guajillo' chile populations and 12 population referents (four of 'Puya', three of 'Pasilla', one of chile 'De Árbol', and four controls), established in simple lattice experimental design 10 x 11 with two replications in two localities from Zacatecas. The phenotypic diversity was analyzed by principal component analysis (PCA) and clusters, which also allowed the definition of the core collection for the phytochemical and molecular analysis; ii) Biochemical analysis on the content of capsaicinoids, carotenoids and vitamin A in 33 landraces of 'Guajillo' chile, with 'Puya' chilies (3), 'Pasilla' (2), 'De Árbol' (1) and a commercial hybrid used as benchmarks of pungency and color, which were established in a randomized block design with two replications in a locality from Zacatecas, whose data were analyzed by comparison of means, principal components analysis and clusters; iii) The molecular characterization, using 19 microsatellite *loci* of 'Guajillo' chile populations (32), 'Pasilla' (2), 'Puya' (3), 'De Árbol' (1), and a wild 'Piquín' type accession (*C. annuum* L. var. *glabriusculum*) as an external group to obtain diversity parameters, genetic structure and relationship of the populations by cluster analysis and PCA, and the genetic differentiation among populations based on cluster analysis of the Bayesian model. Wide diversity was found across the three studies; fruit characteristics, size, color, shape, placenta and pedicel length, transversal shriveling and days to fruiting, mainly defined the distinctive features of each type of chile, which accurately explained the observed phenotypic variability. High heterogeneity was observed in the phytochemical composition of 'Guajillo' chile which presented a characteristic pattern in the compositions of capsaicinoids, carotenoids and vitamin A, in which particular variants were identified. Microsatellites allowed a clear description of the diversity and genetic relationships among 'Guajillo' chile populations, which showed wide genetic base and intrapopulation diversity. The diversity of 'Guajillo' chile landraces is high, and its valuation should be considered in order to establish conservation strategies and appropriate use for this germplasm.

**Keywords:** *Capsicum annuum* L., characterization, heterogeneity, phytochemical composition, particular variants.

## ÍNDICE DE CUADROS

	<u>Página</u>
<b>Cuadro 1.1. Vectores propios de los cinco primeros componentes principales derivados de 17 características de 110 genotipos de <i>Capsicum annuum</i> L.....</b>	40
<b>Cuadro 1.2. Comparación de medias para 17 características morfológicas de cinco grupos de <i>C. annuum</i> L. obtenidos por Ward-MLM.....</b>	51
<b>Cuadro 2.1. Contenido de capsaicinoides de poblaciones nativas y del híbrido de <i>C. annuum</i> L.....</b>	67
<b>Cuadro 2.2. Carotenoides totales e individuales en poblaciones de <i>C. annuum</i> L. identificados por HPLC.....</b>	73
<b>Cuadro 2.3. Proporción de fracción roja, fracción amarilla y contenido de vitamina A en poblaciones nativas e híbrido de <i>C. annuum</i> L.....</b>	76
<b>Cuadro 2.3. Valores propios de los primeros tres componentes principales obtenidos a partir de 18 características bioquímicas de 40 genotipos de <i>C. annuum</i> L.....</b>	82
<b>Cuadro 3.1. <i>Loci</i> de microsatélites e iniciadores, condiciones de alineamiento para las PCR múltiples y PIC analizados en poblaciones nativas y germoplasma silvestre de <i>C. annuum</i> L.....</b>	105
<b>Cuadro 3.2. Análisis de la diversidad genética de cuatro tipos nativos y un genotipo silvestre de <i>C. annuum</i> L., con base en 19 <i>loci</i> de microsatélites.....</b>	108
<b>Cuadro 3.3. Estructura genética de poblaciones nativas y germoplasma silvestre de <i>C. annuum</i> L. a partir de los estadísticos F de Wright calculados con 19 <i>loci</i> de microsatélites.....</b>	111

**Cuadro 3.4. Variación explicada y acumulada y alelos de mayor influencia sobre los primeros tres componentes principales, generados a partir de 66 alelos seleccionados para 19 *loci* de microsatélites, en poblaciones nativas y germoplasma silvestre de *C. annuum***  
L.....

115

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<u>Página</u>
<b>Figura 1.1.</b> Dispersión de 110 genotipos de <i>Capsicum annuum</i> L., con base en los primeros dos componentes principales del análisis para 17 características morfológicas.....	42
<b>Figura 1.2.</b> Dendrograma obtenido por el método Ward-MLM de 110 poblaciones de <i>Capsicum annuum</i> L., a partir de 17 variables morfológicas seleccionadas, basado en distancias de Gower.....	50
<b>Figura 2.1.</b> Dispersión de poblaciones nativas e híbrido de <i>C. annuum</i> L., con base en los primeros tres componentes principales a partir del análisis de 18 variables bioquímicas.....	81
<b>Figura 2.2.</b> Dendrograma de 40 genotipos de <i>C. annuum</i> L., formado a partir de 18 variables bioquímicas mediante distancias euclidianas y el método de agrupamiento UPGMA. Tipo de chile: A= 'De Árbol', G= 'Guajillo', Pu='Puya', Pa='Pasilla', H= Híbrido. Procedencia: Z= Zacatecas, D= Durango, P=Puebla.....	85
<b>Figura 3.1.</b> Dispersión de poblaciones de chile con base en los tres primeros componentes principales, derivados de 66 alelos seleccionados del análisis de 19 <i>loci</i> microsatélites.....	114
<b>Figura 3.2.</b> Árbol filogenético de poblaciones nativas y silvestre de <i>C. annuum</i> L., a partir de 19 <i>loci</i> microsatélites, distancias modificadas de Rogers y el método de agrupamiento de Neighbor Joining y Estructura poblacional de genotipos de chile (K=6) al lado derecho.....	118

# INTRODUCCIÓN GENERAL

## 1. Marco conceptual

### Origen, domesticación e importancia de *Capsicum*

El olor, sabor y picor son las características más apreciadas del género *Capsicum* (Ornelas-Paz *et al.*, 2010), el cual presenta más de 30 especies y pertenece a la familia de las Solanáceas (Meckelmann *et al.*, 2015). Su divergencia inició de un ancestro común con tomate (*Solanum lycopersicum* L.), que ocurrió hace 20 millones de años (Wu *et al.*, 2009), mediante un evento evolutivo asociado con picor (Tewksbury *et al.*, 2006), de la cual los capsaicinoides son responsables y exclusivos de los frutos de *Capsicum* (Iorizzi *et al.*, 2001; Jarret *et al.*, 2007).

En Sur América existe una región que se ha considerado como centro de origen de *Capsicum* spp., región llamada área núcleo, que incluye regiones de Perú, Argentina, además de Bolivia (Olmstead *et al.*, 2008), a lo largo del Río Grande (Stewart *et al.*, 2005), así como también a la región donde se extiende el Río Amazonas en Brasil (Clement *et al.*, 2010). Perú es considerado como área núcleo de domesticación, por conservar la mayor diversidad de chiles domesticados (Meckelmann *et al.*, 2015); sin embargo, estudios antropológicos y genéticos señalan que la domesticación del género se suscitó a través de eventos independientes (Perry *et al.*, 2007), en al menos dos regiones de América: *C. annuum* y *C. frutescens* en Mesoamérica y *C. chinense*, *C. pubescens* y *C. baccatum* en América del Sur (Pickersgill, 2007).

Con base en características morfológicas, citogenéticas e hibridación, las especies de *Capsicum* han sido separadas en tres complejos: i) el complejo *C. annuum*, al que pertenecen *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, sus parientes silvestres y *C. galapagoense*; ii) el complejo *C.*

*baccatum*, el cual integra a *C. baccatum*, *C. praetermissum* y *C. tovarii*; y iii) el complejo *C. pubescens*, con *C. pubescens*, *C. cardenasii* y *C. eximium* (Ince *et al.*, 2010; González-Pérez *et al.*, 2014). *C. annuum*, *C. chinense* y *C. frutescens* son las especies que destacan por su mayor importancia económica, producción y versatilidad de usos, tanto alimenticios como no alimenticios (Lannes *et al.*, 2007); y de éstas, la mayor parte de sus variedades y poblaciones nativas se distribuyen en toda Latinoamérica (Liu *et al.*, 2013a). *C. annuum* es la especie con mayor distribución y valor, así como la más utilizada en los programas de mejoramiento de cultivares comerciales (González-Pérez *et al.*, 2014).

La domesticación de *Capsicum annuum* ocurrida en México generó amplia diversidad fenotípica (Hill *et al.*, 2013; Kraft *et al.*, 2014) con base en la selección, aprovechamiento y manejo diferencial (Ortiz *et al.*, 2010). Como resultado de dicha domesticación, los frutos de esta especie muestran enorme variabilidad en tamaños, formas e intensidades de color, tanto en estado inmaduro como en la madurez, heterogeneidad fenotípica que se observa a través de sus morfotipos y poblaciones nativas de Chile, que cumplen múltiples satisfactores antropocéntricos (Camacho *et al.*, 2005).

En cada población se ha logrado definir una amplia fuente de variación, en particular para los alelos de interés agrícola y de adaptaciones locales (Nicolai *et al.*, 2013), derivados de los numerosos eventos independientes asociados con la domesticación de *C. annuum* (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009), la cual se sugiere ocurrió en distintos centros geográficos, tales como un centro primario de domesticación (Tamaulipas, Nuevo León, San Luis Potosí, Veracruz e Hidalgo) y un centro secundario ubicado en el occidente de México (Nayarit). Estos dos centros fueron propuestos por Loaiza-Figueroa *et al.* (1989), a partir del análisis de diversidad genética, así como de las regiones noreste y el centro-este de México, definidas por Kraft *et al.* (2014) con base en

estudios genético-antropocéntricos, así como la península de Yucatán a la que Aguilar-Meléndez *et al.* (2009) atribuyen la existencia de haplotipos únicos. La selección natural y artificial dieron lugar a la amplia variación de formas silvestres, semi domesticadas y poblaciones nativas (Hernández-Verdugo *et al.*, 2012; Kraft *et al.*, 2013) que en México suman más de 64 diferentes tipos de chiles de los cuales 55 son domesticados (Aguilar *et al.*, 2010), razón por la que este país ha sido propuesto también centro de diversidad (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999; Vera-Guzmán *et al.*, 2011).

El papel histórico-cultural del chile en México tiene antecedentes precolombinos. En tiempos del imperio azteca formó parte del tributo imperial y fue utilizado como aditivo en la bebida de chocolate, el cual era consumido únicamente por los estratos sociales más altos del gobierno, así como correctivo infantil que se lograba con la inhalación del humo que se desprendía al quemar los chiles (Bosland y Votava, 2012). Hay registros históricos que señalan que a la llegada de los españoles en la conquista de México, la diversidad de chiles cultivados era amplia y con versatilidad de formas y colores, que podían categorizarse por atributos organolépticos particulares para consumo y guisos específicos (Bañuelos *et al.*, 2008). Luego, esas múltiples formas fueron introducidas a Europa en el siglo XV, para su posterior dispersión hacia el Mediterráneo, África, India y China (Bosland y Votava, 2012).

Las preferencias de consumo son de tipo afectivo y cognitivo, con base en la percepción de estímulos, y se transforman en necesidades dentro de su contexto sociocultural y territorial (Castellón-Martínez *et al.*, 2012). En este sentido, los alimentos otorgan parte de la identidad cultural, que en el caso particular del chile ésta es asociada fuertemente a la gastronomía nacional, por su amplio uso atribuido a sus propiedades de olor, sabor y color (Aza-González y Ochoa-Alejo,

2012). En 2010, la cocina mexicana tradicional, elaborada con base en maíz, frijoles y chiles fue denominada 'Patrimonio cultural no material' por la UNESCO (2010).

El consumo nacional *per cápita* nacional se ha reportado entre 8 y 9 kg, del cual 75 % es consumido en fruto fresco (Castellón-Martínez *et al.*, 2012), datos que resaltan la gran importancia social y económica del cultivo de chile. Además, México es el segundo productor de chile fresco con 2,294,400 t, precedido por China que aporta 15,800,000 t a la producción mundial. En cambio, en la producción de chile seco, en la que México, con 60,000 t, es superado de manera contundente por India (1,376,000 t), China (300,000 t), Perú (164,000 t), Tailandia (156,000 t) y Pakistán (150,000 t) (FAOSTAT, 2013), lo que indica una pobre competencia en la que problemáticas fitosanitarias y de comercialización han incidido. Entre los morfotipos de chile seco con mayor importancia económica y cultural en el país se encuentran: 'Guajillo', 'Pasilla', 'Cascabel', 'Ancho', 'Puya', 'Huacle', 'Piquín' y 'De Árbol', que son ingredientes importantes en moles, adobos y salsas, y cuyo aprovechamiento agronómico está basado principalmente en el cultivo de poblaciones nativas (Kraft *et al.*, 2010), de las que anualmente se obtienen de una superficie cultivada de 32,500 ha (FAOSTAT, 2013).

El uso de chile como ingrediente tiene gran importancia no sólo en la gastronomía mexicana, sino además en la cultura culinaria de Tailandia, India, Corea y del Mediterráneo (Guzmán *et al.*, 2011) en la que se observan diferentes demandas hacia un tipo, color, forma, madurez y picor específico (Liu *et al.*, 2013a). El aprovechamiento de *Capsicum* es principalmente alimenticio; sin embargo, sus derivados tienen amplias aplicaciones en la medicina tradicional, así como en las industrias de aditivos, drogas, productos promotores de salud, agentes de control de plagas y productos cosméticos (analgésicos externos, agentes acondicionadores y aromatizantes, colorantes y, como aditivo de fragancias) (Bosland y Votava, 2012).



## **Análisis de la diversidad de *Capsicum***

El análisis de la diversidad es considerada como prioridad mundial, ya que es la base del suministro de alimentos y supervivencia (Bellon, 2004). La caracterización permite describir, cuantificar y clasificar la diversidad fenotípica y genética de las poblaciones, y posibilita identificar variantes individuales que resultan de la interacción dinámica de adaptación con los factores ambientales en los que se desarrolla esta población, ya que en su interacción adaptativa las poblaciones acumulan información genética que a manera de variantes, cada especie va incorporando entre sus miembros (Franco e Hidalgo, 2003).

En este sentido, los recursos genéticos de *Capsicum* han sido descritos con base en características morfológicas (Geleta *et al.*, 2005; Palacios y García, 2008; Sudré *et al.*, 2010; Shrestha *et al.*, 2011), marcadores isoenzimáticos (Morán *et al.*, 2004; Quintero *et al.*, 2005; Oyama *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2014), estudios citogenéticos (Dash *et al.*, 2001; Shrestha *et al.*, 2010) y marcadores moleculares tales como: RFLP, AFLP, RAPD, S-SAP, SSR, ISSR, CAPS y DAMD-PCR, utilizados de manera principal en estudios de clasificación taxonómica (Eshbaugh, 1993; Prince *et al.*, 1992; Rodríguez *et al.*, 1999; Lefebvre *et al.*, 2001; Baral y Bosland, 2002; Guzman *et al.*, 2005; Adetula y Olakojo, 2006; Ince *et al.*, 2009).

En años recientes, los microsatélites o SSR (Simple Sequence Repeats) han adquirido gran importancia en el análisis genético de *Capsicum* y han contribuido al conocimiento de su variabilidad genética (Tam *et al.*, 2005; Nagy *et al.*, 2007; Portis *et al.*, 2007; Hanáček *et al.*, 2009; Patel *et al.*, 2011; Dhaliwal *et al.*, 2014), mapeo genómico (Lee *et al.*, 2004; Minamiyama *et al.*, 2006; Yi *et al.*, 2006; Nagy *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2009; Mimura *et al.*, 2012; Sugita *et al.*, 2013;

Ahn *et al.*, 2014), identificación de genotipos (Juhász *et al.*, 2006) y análisis de estructura genética (Ibiza *et al.*, 2012; Pacheco-Olvera *et al.*, 2012).

Respecto a los atributos fitoquímicos, farmacológicos, terapéuticos y de valor industrial que *Capsicum* presenta se han desarrollado estudios de caracterización acerca de su composición metabólica en capsaicinoides (Schweiggert *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2013b; Barbero *et al.*, 2014) y el control genético de su biosíntesis (Ben-Chaim *et al.*, 2006; Stewart *et al.*, 2007; Yarnes *et al.*, 2013), y perfiles de ácidos grasos (Keum *et al.*, 2012; Jarret *et al.*, 2013; Sora *et al.*, 2015), perfil de carotenoides individuales (Minguez-Mosquera y Hornero-Méndez, 1993; Deli *et al.*, 2001; Giuffrida *et al.*, 2013), flavonoides (Butcher *et al.*, 2012; Butcher *et al.*, 2013), tocoferoles (Meckelmann *et al.*, 2015), antioxidantes y capacidad antioxidante (Materska y Perucka, 2005; Conforti *et al.*, 2007; Tundis *et al.*, 2011; Zimmer *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2013), así como el color extraíble para usos industriales (Kim *et al.*, 2002), compuestos fenólicos (Conforti *et al.*, 2007; Vega-Gálvez *et al.*, 2009; Eggink *et al.*, 2012). También se ha estudiado la variación de estos compuestos químicos conforme a la madurez de fruto (Howard *et al.*, 2000; Rodríguez-Uribe *et al.*, 2012) y su regulación genética (Liu *et al.*, 2013b; Keyhaninejad *et al.*, 2014).

Todos estos estudios sustentan la alta variabilidad genética, bioquímica y morfológica del género *Capsicum*, en la que se asocian entre otros a múltiples procesos y patrones evolutivos e interacción genético ambiental que incidieron en su especiación.

### **Diversidad de las poblaciones nativas de México**

La documentación de la diversidad de *C. annuum* en México se ha logrado por la caracterización isoenzimática, morfológica, fitoquímica y genética de morfotipos nativos, como los estudios desarrollados por Corona-Torres *et al.* (2000), quienes identificaron alta diversidad

genética de poblaciones de *C. annuum* y *C. chinense* medida por isoenzimas. Otro estudio similar fue realizado por Morán-Bañuelos *et al.* (2004), quienes descubrieron altos porcentajes de polimorfismo entre poblaciones de chile local de Yucatán. De igual modo, Latournerie *et al.* (2002) mostraron amplia variabilidad morfológica en chiles 'XCat'ic', 'Dulce', 'Ya'ax ic', 'Succurre', 'Cha'huá', 'Maaxito' y 'Habanero' de Yucatán.

En chile tipo 'Guajillo' Moreno-Pérez *et al.* (2007, 2011), con base en el análisis morfológico y fenológico de la planta e involucrando características específicas de la flor y del fruto, lograron la descripción de la alta variación fenotípica de sus poblaciones. En variedades locales de Tabasco, Pérez-Castañeda *et al.* (2008) realizaron la caracterización y separación en tipos que mostró heterogeneidad fenotípica de los recursos de chile de ese estado. En chile 'De Agua', Martínez-Sánchez *et al.* (2010) describieron características seleccionadas de raíz, tallo, flor, fruto y semilla, que contribuyeron a la variabilidad morfológica e identificación de germoplasma con el mayor potencial para mejoramiento genético.

Por su parte, Castañón-Nájera *et al.* (2010) señalaron amplia diversidad intra e inter poblacional en los tipos 'Piquín', 'Blanco', 'Garbanzo', 'Pico Paloma', 'Amashito', 'Pico Paloma Blanco', 'Muela', 'Ojo de Cangrejo' y 'Habanero', a partir de la descripción morfológica *in situ* e hicieron la identificación de variables ideales para su caracterización. El análisis fenotípico y cambios durante la vida postcosecha indicó variabilidad en poblaciones de chile 'Amashito' (Salinas *et al.*, 2010).

Respecto a la caracterización bioquímica de poblaciones de *C. annuum*, Cázares-Sánchez *et al.* (2005) identificaron alta variabilidad en el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en morfotipos de Yucatán, y una fuerte asociación entre picor y usos culinarios. Por otra parte, Morán-

Bañuelos *et al.* (2008) revelaron amplia variación en el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en poblaciones nativas de *C. annuum* procedentes de Puebla. Por su parte, Collera-Zúñiga *et al.* (2005) compararon los contenidos de carotenoides en tres variedades mexicanas tipo 'Ancho', 'Guajillo' y 'Mulato', entre las que encontraron diferencias considerables.

En poblaciones de chile de Oaxaca de los tipos 'Solterito', 'Nanchita', 'De Agua', 'Tusta', 'Costeño', 'Canario', 'Tabaquero', 'Güero y 'Piquín', Vera-Guzmán *et al.* (2011) encontraron diferencias entre morfotipos, sobre todo en vitamina C, fenoles, flavonoides,  $\beta$ -caroteno, color y capsaicinoides.

En los chiles 'Guajillo', 'Ancho', 'Pasado', 'Pasilla', 'Puya', 'Tres Venas', 'Chipotle', 'Jalapeño', 'Mirasol', 'Morita', 'Serrano', 'De Árbol' y 'Piquín', Orellana-Escobedo *et al.* (2012) determinaron el contenido de capsaicinoides y la composición proximal de chiles, lo que permitió encontrar variaciones atribuidas al ambiente y a la constitución genética, resultados que fueron similares a los obtenidos por González-Zamora *et al.* (2013) para contenido de capsaicina, dihidrocapsaicina y picor analizados en poblaciones nativas y variedades comerciales de los tipos 'Ancho', 'De Árbol', 'Chiltepín', 'Guajillo', 'Jalapeño', 'Puya' y 'Serrano'.

La variabilidad genética descubierta por González-Pérez *et al.* (2014) mediante microsatélites en variedades locales de chiles en México, indica alto polimorfismo genético en accesiones mexicanas de *C. annuum*, lo que mostró heterogeneidad genética y amplia cantidad de alelos exclusivos. En poblaciones nativas de chile 'Poblano' *C. annuum*, Contreras-Toledo *et al.* (2011) también encontraron amplia variabilidad genética y diversidad intra poblacional. Similarmente, Pacheco-Olvera *et al.* (2012) encontraron amplia diversidad en poblaciones

silvestres y nativas del noreste de México mediante siete SSR seleccionados, al igual que González-Jara *et al.* (2011) en poblaciones silvestres (*C. annuum* var. *glabriusculum*).

Los avances acerca del estudio y conocimiento del origen, evolución, diversificación y de genética básica y de poblaciones de *C. annuum* L., tanto en germoplasma silvestre como nativo, requieren de análisis complejos basados en el estudio de germoplasma representativo del género, con tamaño de muestra óptimos, regiones amplias de colecta, descriptores seleccionados, y marcadores moleculares. Ello permitirá obtener información congruente y, particularmente, estadísticamente robusta.

## **2. Planteamiento del problema**

La importancia de identificar y mantener la diversidad genética de cultivos es reconocida como una prioridad mundial porque los genes son materia base para cambios evolutivos y, al mismo tiempo, mantienen memoria de registros genéticos que han ocurrido en el pasado. La documentación de la diversidad genética permite identificar variabilidad, patrones y estructura genética, y así establecer estrategias eficientes de conservación y aprovechamiento.

La caracterización de *Capsicum* describe, cuantifica y clasifica la diversidad fenotípica y genética. Sin embargo, la descripción morfológica no es suficiente, pese a la facilidad de ser desarrollada, ya que depende de la heredabilidad de la característica e influencia del ambiente, por lo que se sugiere sea complementada con marcadores moleculares. En este sentido, los microsatélites tienen la capacidad de diferenciar fenotipos muy similares o confirmar la diversidad fenotípica observada con base en su amplia cobertura del genoma y nula interacción con el ambiente. Por su parte, la caracterización bioquímica valoriza la heterogeneidad composicional así

como la acumulación y síntesis de metabolitos secundarios, los cuales son de importancia en la interacción de las plantas con el ambiente donde se desarrollan.

La producción nacional de chiles secos, que incluye al tipo 'Guajillo', es abastecida por poblaciones nativas que enfrentan problemas fitosanitarios, de comercialización y ambientales, que pese a su importancia económica, genética y cultural son pocos los estudios asociados al análisis de su diversidad, mismos que no se han efectuado en los ambientes de las regiones productoras, con el manejo agronómico correspondiente a las prácticas aplicadas por los agricultores que mantienen y utilizan este germoplasma.

La caracterización del germoplasma nativo de *Capsicum annuum* L. tipo 'Guajillo' evaluado junto a otros tipos poblacionales de chile seco crecidos en las condiciones de la región productora, a través del análisis fenotípico, de metabolitos y molecular brinda amplia confiabilidad en la descripción de la diversidad, cuya valoración permite desarrollar estrategias efectivas de conservación y mejoramiento genético, así como prevenir su erosión genética y la pérdida de estas poblaciones de chile fuertemente ligadas a contextos culturales y culinarios.

Con base en el contexto anterior, en este estudio se plantean los objetivos e hipótesis siguientes:

### **3. Objetivos**

#### **Objetivo general**

Describir la variabilidad morfológica, fitoquímica y genética de poblaciones de chile 'Guajillo' nativas de México, principalmente de Zacatecas, para conocer la estructura genética,

magnitud y patrones de diversidad y su relación con otros tipos poblacionales cultivados en la región productora.

### **Objetivos particulares**

- ♣ Determinar la diversidad fenotípica de poblaciones de chile tipo 'Guajillo' y otros tipos similares nativos de Zacatecas, mediante descriptores cuantitativos y cualitativos seleccionados para ese fin, así como visualizar la formación de grupos y estructura entre y dentro de los mismos.
- ♣ Valorar la heterogeneidad fitoquímica a través del análisis de capsaicinoides, carotenoides y vitamina A presentes en poblaciones de chile 'Guajillo' y otros tipos poblacionales utilizados como referentes de picor y color producidos en Zacatecas.
- ♣ Analizar la diversidad de las poblaciones nativas de chile 'Guajillo' mediante microsatélites.
- ♣ Identificar poblaciones con características agronómicas y de composición sobresalientes para el futuro aprovechamiento de dicho potencial genético dirigido a mejorar rendimiento, calidad y valor nutraceutico.

## **4. Hipótesis**

### **Hipótesis general**

Se postula que la diversidad de chile 'Guajillo' nativo de México es amplia a nivel morfológico, fitoquímico y genético.

### **Hipótesis particulares**

- ♣ Existe alta variabilidad morfológica (fenotípica) en las poblaciones de chile 'Guajillo' nativos procedentes de Zacatecas.
- ♣ Chile 'Guajillo' presenta heterogeneidad en la acumulación y síntesis de capsaicinoides, carotenoides y vitamina A, asociada con la interacción genético-ambiental y con la selección antropocéntrica diferencial.
- ♣ Las poblaciones nativas de 'Guajillo' analizadas mediante *loci* microsatélites presentan amplio polimorfismo genético.
- ♣ Existen poblaciones de chile 'Guajillo' sobresalientes en características agronómicas y en contenido de metabolitos de interés.

### **5. Literatura citada**

- Adetula, A. O. y S. A. Olakojo. 2006. Genetic characterization and evaluation of some pepper accessions *Capsicum frutescens* (L): The Nigerian 'Shombo' collections. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 1:273-281.
- Aguilar R., V. H., T. Corona T., P. López L., L. Latournerie M., M. Ramírez M., H. Villalón M. y J. A. Aguilar C. 2010. Los Chiles de México y su Distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 108 p.



- Aguilar-Meléndez, A., P. L. Morrell, M. L. Roose and S. C. Kim. 2009. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany* 96:1190-1202.
- Ahn, Y.-K., S. Tripathi, J. H. Kim, Y. I. Cho, H. E. Lee, D. S. Kim, J. G. Woo and M. K. Yoon. 2014. Microsatellite marker information from high-throughput next-generation sequence data of *Capsicum annuum* varieties Mandarin and Blackcluster. *Scientia Horticulturae* 170:123-130.
- Aza-González, C. y N. Ochoa-Alejo. 2012. Characterization of anthocyanins from fruits of two Mexican chili peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of the Mexican Chemical Society* 56:149-151.
- Bañuelos, N., P. L. Salido y A. Gardea. 2008. Etnobotánica del chiltepín. Pequeño gran señor en la cultura de los sonorenses. *Estudios Sociales* 16:178-205.
- Baral, J. and P. W. Bosland. 2002. Genetic diversity of a *Capsicum* germplasm collection from Nepal as determined by randomly amplified polymorphic DNA markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127:316-324.
- Barbero, G. F., A. G. Ruiz, A. Liazid, M. Palma, J. C. Vera and C. G. Barroso. 2014. Evolution of total and individual capsaicinoids in peppers during ripening of the Cayenne pepper plant (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry* 153:200-206.
- Bellon, M. R. 2004. Conceptualizing interventions to support on-farm genetic resource conservation. *World Development* 32:159-172.

- Ben-Chaim, A., Y. Borovsky, M. Falise, M. Mazourek, B.-C. Kang, I. Paran and M. Jahn. 2006. QTL analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics* 113:1481-1490.
- Bosland P. W. and E. J. Votava. 2012. Peppers. *Vegetable and Spice Capsicums*. 2nd ed. Vol. 22. *Crop Production Science in Horticulture*. CABI Publishing. Cambridge, UK. 230 p.
- Butcher, J. D., K. M. Crosby, K. S. Yoo, B. Patil, J. L. Jifon and W. L. Rooney. 2013. Heterosis in different F<sub>1</sub> *Capsicum annuum* genotypes for fruit traits, ascorbic acid, capsaicin, and flavonoids. *Scientia Horticulturae* 159:72-79.
- Butcher, J. D., K. M. Crosby, K. S. Yoo, B. S. Patil, A. M. H Ibrahim, D. I. Leskovar and J. L. Jifon. 2012. Environmental and genotypic variation of capsaicinoid and flavonoid concentrations in Habanero (*Capsicum chinense*) peppers. *HortScience* 47: 574-579.
- Camacho V., T. C., N. Maxted, M. Scholten and B. Ford-Lloyd. 2005. Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 3:373-384.
- Castañón-Nájera, G., L. Latournerie-Moreno, J. M. Lesher-Gordillo, E. de la Cruz-Lázaro y M. Mendoza-Elos. 2010. Identificación de variables para caracterizar morfológicamente colectas de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Universidad y Ciencia* 26:225-234.
- Castellón-Martínez, É., J. L. Chávez-Servia, J. C. Carrillo-Rodríguez y A. M. Vera-Guzman. 2012. Preferencias de consumo de chiles (*Capsicum annuum* L.) nativos en los valles centrales de Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35 (Núm. Especial 5):27-35.
- Cázares-Sánchez, E., P. Ramírez-Vallejo, F. Castillo-González, R. M. Soto-Hernández, M. T. Rodríguez-González y J. L. Chávez-Servia. 2005. Capsaicinoides y preferencia de uso en

diferentes morfotipos de chile (*Capsicum annum* L.) del centro-oriente de Yucatán. *Agrociencia* 39:627-638.

Clement, C. R., M. de Cristo-Araújo, G. Coppens d'Eeckenbrugge, A. Alves P. and D. Picanço-Rodrigues. 2010. Origin and domestication of native Amazonian crops. *Diversity* 2:72-106.

Collera-Zúñiga, O., F. García J. and R. Meléndez G. 2005. Comparative study of carotenoid composition in three Mexican varieties of *Capsicum annum* L. *Food Chemistry* 90:109-114.

Conforti, F., G. A. Statti and F. Menichini. 2007. Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annum* var. *acuminatum* L.) in relation to maturity stage. *Food Chemistry* 102:1096-1104.

Contreras T., A. R., H. López S., A. Santacruz V., E. Valadez M., V. H. Aguilar R., T. Corona T. y P. A. López. 2011. Diversidad genética en México de variedades nativas de chile 'Poblano' mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34:225-232.

Corona-Torres, T., A. García-Velázquez, F. Castillo-González, V. Montero-Tavera y H. S. Azpiroz-Rivero. 2000. Caracterización isoenzimática de la diversidad genética de colectas de chile (*Capsicum annum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 6:5-17.

Dash, S. S., S. Kumar and J. N. Singh. 2001. Cytomorphological characterization of a nuclear male sterile line of chilli pepper (*Capsicum annum* L.). *Cytologia* 66:365-371.

- Deli, J., P. Molnár, Z. Matus and G. Tóth. 2001. Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersiciforme rubrum*) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:1517-1523.
- Dhaliwal, M. S., A. Yadav and S. K. Jindal. 2014. Molecular characterization and diversity analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology* 13:3137-3143.
- Eggink, P. M., C. Maliepaard, Y. Tikunov, J. P. W. Haanstra, A. G. Bovy and R. G. F. Visser. 2012. A taste of sweet pepper: volatile and non-volatile chemical composition of fresh sweet pepper (*Capsicum annuum*) in relation to sensory evaluation of taste. *Food Chemistry* 132:301-310.
- Eshbaugh, W. H. 1993. Peppers: history and exploitation of a serendipitous new crop discovery. *In: New Crops*. Janick, J. y J. E. Simon (eds.). Wiley. New York. pp. 132-139.
- FAOSTAT. 2013. Production. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> (Consultado octubre, 2015).
- Franco T. L. e Hidalgo, R. (eds). 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Boletín Técnico No. 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. 89 p.
- Geleta, L. F., M. T. Labuschagne and C. D. Viljoen. 2005. Genetic variability in pepper (*Capsicum annuum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. *Biodiversity and Conservation* 14: 2361-2375.

- Giuffrida, D., P. Dugo, G. Torre, C. Bignardi, A. Cavazza, C. Corradini and G. Dugo. 2013. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry* 140:794-802.
- González-Jara P., A. Moreno-Letelier, A. Fraile, D. Piñero and F. García-Arenal. 2011. Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. *PLoS One* 6: e28715. DOI: 10.1371/journal.pone.0028715.
- González-Pérez, S., A. Garcés-Claver, C. Mallor, L. E. Sáenz de M., O. Fayos, F. Pomar, F. Merino and C. Silvar. 2014. New insights into *Capsicum* spp relatedness and the diversification process of *Capsicum annuum* in Spain. *PloS One* 9: 1-23. DOI:10.1371/journal.pone.0116276.
- González-Zamora, A., E. Sierra-Campos, J. G. Luna-Ortega, R. Pérez-Morales, J. C. Rodríguez O. and J. L. García-Hernández. 2013. Characterization of different *Capsicum* varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. *Molecules* 18:13471-13486.
- Guzman I., P. W. Bosland and M. A. O'Connell. 2011. Heat, color, and flavor compounds in *Capsicum* fruit. *In: The Biological Activity of Phytochemicals*. Vol. 41. Recent Advances in Phytochemistry. D. R. Gang (ed.). Springer. New York. pp: 109-126
- Guzmán, F. A., H. Ayala, C. Azurdia, M. C. Duque and M. C. de Vicente. 2005. AFLP assessment of *Capsicum* genetic resources in Guatemala. *Crop Science* 45: 363-370.

- Hanáček, P., T. Vyhnánek, M. Rohrer, J. Cieslarová and H. Stavěliková. 2009. DNA polymorphism in genetic resources of red pepper using microsatellite markers. Horticultural Science (Prague) 36:127-132.
- Hernández-Verdugo S., P. Dávila A y K. Oyama. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. Boletín de la Sociedad Botánica de México 64:65-84.
- Hernández-Verdugo, S., F. Porras, A. Pacheco-Olvera, R. G. López-España, M. Villarreal-Romero, S. Parra-Terraza y T. Osuna-Enciso. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. Polibotánica 33:175-191.
- Hill, T. A., H. Ashrafi, S. Reyes-Chin-Wo, J. Yao, K. Stoffel, M-J. Truco, A. Kozik, R.W. Michelmore and A. Van Deynze. 2013. Characterization of *Capsicum annuum* genetic diversity and population structure based on parallel polymorphism discovery with a 30K unigene pepper genechip. PLoS One 8:1-16. DOI: 10.1371/journal.pone.0056200.
- Howard, L. R., S. T. Talcott, C. H. Brenes and B. Villalon. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48:1713-1720.
- Ibiza, V. P., J. Blanca, J. Cañizares and F. Nuez. 2012. Taxonomy and genetic diversity of domesticated *Capsicum* species in the Andean region. Genetic Resources and Crop Evolution 59:1077-1088.

- Ince, A. G., M. Karaca and A. N. Onus. 2009. Development and utilization of diagnostic DAMD-PCR markers for *Capsicum* accessions. *Genetic Resources Crop Evolution* 56:211-221.
- Ince, A. G., M. Karaca, M. and A. N. Onus. 2010. Genetic relationships within and between *Capsicum* species. *Biochemical Genetics* 48:83-95.
- Iorizzi, M., V. Lanzotti, S. De Marino, F. Zollo, M. Blanco-Molina, A. Macho and E. Muñoz. 2001. New glycosides from *Capsicum annuum* L. var. *acuminatum*. Isolation, structure determination, and biological activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:2022-2029.
- Jarret, R. L., E. Baldwin, B. Perkins, R. Bushway and K. Guthrie. 2007. Diversity of fruit quality characteristics in *Capsicum frutescens*. *HortScience* 42:16-19.
- Jarret, R. L., I. J. Levy, T. L. Potter and S. C. Cermak. 2013. Seed oil and fatty acid composition in *Capsicum* spp. *Journal of Food Composition and Analysis* 30:102-108.
- Juhász, G. A., A. Stágel, S. Ács, L. Zatykó and I. Nagy. 2006. Microsatellite markers and automated fragment analysis techniques for efficient and precise hybrid identification and genetic purity testing in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Acta Agronomica Hungarica* 54:141-146.
- Keum, Y. S., H. W. Park, H.-H. Song, B.-D. Kim, B.-C Kang and J.-H. Kim. 2012. Metabolite analysis of long chain branched fatty acids and capsaicin biosynthesis in *Capsicum annuum* placenta. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 55:189-195.

- Keyhaninejad, N., J. Curry, J. Romero and M. A. O'Connell. 2014. Fruit specific variability in capsaicinoid accumulation and transcription of structural and regulatory genes in *Capsicum* fruit. *Plant Science* 215: 59-68.
- Kim, S., J.-B. Park and I.-K. Hwang. 2002. Quality attributes of various varieties of Korean red pepper powders (*Capsicum annuum* L.) and color stability during sunlight exposure. *Journal of Food Science* 67:2957-2961.
- Kraft, K. H., C. H. Brown, G. P. Nabhan, E. Luedeling, J. J. Luna R., G. C. d'Eeckenbrugge, R. J. Hijmans and P. Gepts. 2014. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111:6165-6170.
- Kraft, K. H., J. J. Luna-Ruiz y P. Gepts. 2010. Different seed selection and conservation practices for fresh market and dried chile farmers in Aguascalientes, Mexico. *Economic Botany* 64:318-328.
- Kraft, K. H., J. J. Luna-Ruiz and P. Gepts. 2013. A new collection of wild populations of *Capsicum* in Mexico and the southern United States. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60:225-232.
- Kumar, O. A., S. S. Tata y T. Rupavathi. 2014. Evaluation of genetic diversity in 21 cultivars of chili pepper (*Capsicum annuum* L.) using isozyme markers. *European Journal of Experimental Biology* 4:44-49.
- Lannes, S. D., F. L. Finger, A. R. Schuelter and V. W. D. Casali. 2007. Growth and quality of Brazilian accessions of *Capsicum chinense* fruits. *Scientia Horticulturae* 112:266-270.



- Latournerie M., L., J. L. Chávez S., M. Pérez P., G. Castañón N., S. A. Rodríguez H., L. M. Arias R. y P. Ramírez V. 2002. Valoración *in situ* de la diversidad morfológica de chiles (*Capsicum annuum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.) en Yaxcabá, Yucatán. Revista Fitotecnia Mexicana 25:25-33.
- Lee, J. M., S. H. Nahm, Y. M. Kim and B. D. Kim. 2004. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. Theoretical and Applied Genetics 108:619-627.
- Lefebvre, V., B. Goffinet, J. C. Chauvet, B. Caromel, P. Signoret, R. Brand and A. Palloix. 2001. Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD and phenotypic data. Theoretical and Applied Genetics 102:741-750.
- Liu, A., C. Han, X. Zhou, Z. Zhu, F. Huang and Y. Shen. 2013a. Determination of three capsaicinoids in *Capsicum annuum* by pressurized liquid extraction combined with LC-MS/MS. Journal of Separation Science 36:857-862.
- Liu, S., W. Li, Y. Wu, C. Chen and J. Lei. 2013b. *De novo* transcriptome assembly in chili pepper (*Capsicum frutescens*) to identify genes involved in the biosynthesis of capsaicinoids. PloS One 8: e48156. DOI: 10.1371/journal.pone.0048156.
- Loaiza-Figueroa, F., K. Ritland, J. A. Laborde C. and S. D. Tanksley. 1989. Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in México. Plant Systematics and Evolution 165:159-188.

- Martínez-Sánchez, D., M. Pérez-Grajales, J. E. Rodríguez-Pérez y E. C. Moreno P. 2010. Colecta y caracterización morfológica de 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 16:169-176.
- Materska, M. and I. Perucka. 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1750-1756.
- Meckelmann, S. W., C. Jansen, D. W. Riegel, M. van Zonneveld, L. Ríos, K. Peña, E. Mueller-Seitz and M. Petz. 2015. Phytochemicals in native Peruvian *Capsicum pubescens* (Rocoto). *European Food Research and Technology* 241:817-825.
- Mimura, Y., T. Inoue, Y. Minamiyama and N. Kubo. 2012. An SSR-based genetic map of pepper (*Capsicum annuum* L.) serves as an anchor for the alignment of major pepper maps. *Breeding Science* 62:93-98.
- Minamiyama, Y., M. Tsuru and M. Hirai. 2006. An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding* 8:157-169.
- Minguez-Mosquera, M. I. and D. Hornero-Méndez. 1993. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red peppers (*Capsicum annuum* L.), paprika, and oleoresin by reversed-phase HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41:1616-1620.
- Morán B., S. H., M. Ribero B., Y. García F. y P. Ramírez V. 2004. Patrones isoenzimáticos de chiles criollos (*Capsicum annuum* L.) de Yucatán, México. *In: Manejo de la Diversidad de los Cultivos en los Agroecosistemas Tradicionales*. J. L. Chávez-Servia, J. Tuxill y D. I. Jarvis (eds.). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia. pp. 83-89.

- Moreno-Pérez, E. C., C. H. Avendaño-Arrazate, R. Mora-Aguilar, J. Cadena-Iñiguez, V. H. Aguilar-Rincón, y J. F. Aguirre-Medina. 2011. Diversidad morfológica en colectas de chile Guajillo (*Capsicum annuum* L.) del centro-norte de México. Revista Chapingo Serie Horticultura 17:23-30.
- Moreno-Pérez, E. C., O. Cruz A., C. H. Avendaño A., M. A. T. Martínez-Damián and A. Peña L. 2007. Morphological variation in *Guajillo* chili pepper plants (*Capsicum annuum* L.). African Crop Science Conference Proceedings 8:327-332.
- Nagy, I., A. Stágel, Z. Sasvári, M. Röder and M. Ganal. 2007. Development, characterization, and transferability to other Solanaceae of microsatellite markers in pepper (*Capsicum annuum* L.). Genome 50:668-688.
- Nicolaï, M., M. Cantet, V. Lefebvre, A.-M. Sage-Palloix and A. Palloix. 2013. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. Genetic Resources and Crop Evolution 60:2375-2390.
- Olmstead, R. G., L. Bohs, H. A. Migid, E. Santiago-Valentin, V. F. Garcia and S. M. Collier. 2008. A Molecular phylogeny of the Solanaceae. Taxon 57: 1159-1181.
- Orellana-Escobedo, L., L. E. Garcia-Amezquita, G. I. Olivas, J. J. Ornelas-Paz and D. R. Sepulveda. 2013. Capsaicinoids content and proximate composition of Mexican chili peppers (*Capsicum* spp.) cultivated in the state of Chihuahua. CyTA-Journal of Food 11:179-184.

- Ornelas-Paz, J. J., J. M. Martínez-Burrola, S. Ruiz-Cruz, V. Santana-Rodríguez, V. Ibarra-Junquera, V., G. I. Olivas and J. D. Pérez-Martínez. 2010. Effect of cooking on the capsaicinoids and phenolics contents of Mexican peppers. *Food Chemistry* 119:1619-1625.
- Ortiz, R., F. Delgado de la Flor, G. Alvarado and 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. Sanchez-Peña, J. A. Garzon-Tiznado and A. Casas. 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53:553-562.
- Pacheco-Olvera, A., S. Hernández-Verdugo, V. Rocha-Ramírez, A. González-Rodríguez and K. Oyama. 2012. Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern México analyzed by microsatellite markers. *Crop Science* 52:231-241.
- Palacios C., S. y M. A. García D. 2008. Caracterización morfológica de 93 accesiones de *Capsicum spp* del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia-Sede Palmira. *Acta agronómica (Palmira)*. 57:247-252.
- Patel, A. S., N. Sasidharan, A. G. Vala and V. Kumar. 2011. Genetic relation in *Capsicum annuum* [L.] cultivars through microsatellite markers: SSR and ISSR. *Electronic Journal of Plant Breeding* 2:67-76.
- Pérez-Castañeda, L. M., G. Castañón-Nájera y N. Mayek-Pérez. 2008. Diversidad morfológica de chiles (*Capsicum spp.*) de Tabasco, México. *Cuadernos de Biodiversidad* 27:11-22.

- Perry, L., R. Dickau, S. Zarrillo, I. Holst, D. M. Pearsall, D. R. Piperno, M. J. Berman, R. G. Cooke, K. Rademaker, A. J. Ranere, J. S. Raymond, D. H. Sandweiss, F. Scaramelli, K. Tarble and J. A. Zeidler. 2007. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science* 315:986-988.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany* 100:925-940.
- Portis, E., I. Nagy, Z. Sasvári, A. Stágel, L. Barchi and S. Lanteri. 2007. The design of *Capsicum* spp. SSR assays via analysis of *in silico* DNA sequence, and their potential utility for genetic mapping. *Plant Science* 172:640-648.
- Prince, J. P., F. Loaiza-Figueroa and S. D. Tanksley. 1992. Restriction fragment length polymorphism and genetic distance among Mexican accessions of *Capsicum*. *Genome* 35:726-732.
- Quintero B., L., M. Cudris G., M. C. Giraldo and L. M. Melgarejo. 2005. Isozyme characterization of *Capsicum* accessions from the Amazonian Colombian collection. *Revista Colombiana de Biotecnología* 7:59-65.
- Rodríguez, J. M., T. Berke, L. Engle and J. Nienhuis. 1999. Variation among and within *Capsicum* species revealed by RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* 99:147-156.
- Rodriguez-Uribe L, I. Guzman, W. Rajapakse, R. D. Richins, M. A. O'Connell. 2012. Carotenoid accumulation in orange-pigmented *Capsicum annuum* fruit, regulated at multiple levels. *Journal Experimental Botany* 63: 517-526

- Salinas H., R. M., E. A. Liévano L., F. Ulín-Montejo, J. N. Mercado y D. Petit J. 2010. Caracterización morfológica y cambios durante la vida postcosecha de cuatro tipos de chile Amashito (*Capsicum annuum* L.) variedad *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 11:92-100.
- Schweiggert, U., R. Carle and A. Schieber. 2006. Characterization of major and minor capsaicinoids and related compounds in chili pods (*Capsicum frutescens* L.) by high-performance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 557:236-244.
- Shrestha, S. L., B. P. Luitel and W. H. Kang. 2011. Agro-morphological characterization of anther derived plants in sweet pepper (*Capsicum annuum* L. cv. Boogie). *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 52:196-203.
- Shrestha, S. L., B. P. Luitel, T. J. Lee and W. H. Kang. 2010. Cytological and morphological characterization of anther derived plants from sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) cv. "Special". *Korean Journal of Breeding Science* 42:431-438.
- Silva, L. R., J. Azevedo, M. J. Pereira, P. Valentão and P. B. Andrade. 2013. Chemical assessment and antioxidant capacity of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. *Food and Chemical Toxicology* 53:240-248.
- Sora, G. T. S., A. H. P. Souza, A. A. F. Zielinski, C. W. I. Haminiuk, M. Matsushita and R. M. Peralta. 2015. Fatty acid composition of *Capsicum* genus peppers. *Ciência e Agrotecnologia Lavras* 39:372-380.

- Stewart, C., B.-C. Kang, K. Liu, M. Mazourek, S. L. Moore, E. Y. Yoo, B.-D. Kim, I. Paran and M. M. Jahn. 2005. The *Pun1* gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *The Plant Journal* 42:675-688.
- Stewart, C., M. Mazourek, G. M. Stellari, M. O'Connell and M. Jahn. 2007. Genetic control of pungency in *C. chinense* via the *Pun1* locus. *Journal of Experimental Botany* 58:979-991.
- Sudré, C. P., L. S. A. Gonçalves, R. Rodrigues, A. T. do Amaral Júnior, E. M. Riva-Souza and C. dos S. Bento. 2010. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. *Genetics and Molecular Research* 9:283-294.
- Sugita, T., Y. Semi, H. Sawada, Y. Utoyama, Y. Hosomi, E. Yoshimoto, Y. Maehata, H. Fukuoka, R. Nagata and A. Ohyama. 2013. Development of simple sequence repeat markers and construction of a high-density linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding* 31:909-920.
- Tam, S. M., C. Mhiri, A. Vogelaar, M. Kerkveld, S. R. Pearce and 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.
- Tewksbury, J. J., C. Manchego, D. C. Haak and D. J. Levey. 2006. Where did the chili get its spice? Biogeography of capsaicinoid production in ancestral wild chili species. *Journal of Chemical Ecology* 32: 547-564.

Tundis, R., M. R. Loizzo, F. Menichini, M. Bonesi, F. Conforti, G. Statti, D. De Luca, B. de Cindio and F. Menichini. 2011. Comparative study on the chemical composition, antioxidant properties and hypoglycaemic activities of two *Capsicum annuum* L. cultivars (*Acuminatum* small and *Cerasiferum*). *Plant Foods for Human Nutrition* 66:261-269.

UNESCO (United Nations Organization for Education, Science and Culture). 2010. Traditional Mexican cuisine: Ancestral, ongoing community culture, the Michoacán paradigm. Documentary. Paris: UNESCO.  
<http://www.unesco.org/culture/ich/index.php?lg=en&pg=00011&RL=00400>.

Vega-Gálvez, A., K. Di Scala, K. Rodríguez, R. Lemus-Mondaca, M. Miranda, J. López and M. Perez-Won. 2009. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annuum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry* 117:647-653.

Vera-Guzmán, A. M., J. L. Chávez-Servia, J. C. Carrillo-Rodríguez and M. G. López. 2011. Phytochemical evaluación of wild and cultivated pepper (*Capsicum annuum* L. and *C. pubescens* Ruiz & Pav.) from Oaxaca, Mexico. *Chilean Journal of Agricultural Research* 4:578-585.

Wu, F., N. T. Eannetta, Y. Xu, R. Durrett, M. Mazourek, M. M. Jahn and S. D. Tanksley. 2009. A COSII genetic map of the pepper genome provides a detailed picture of synteny with tomato and new insights into recent chromosome evolution in the genus *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics* 118:1279-1293.



- Yarnes, S. C., H. Ashrafi, S. Reyes-Chin-Wo, T. A. Hill, K. M. Stoffel and A. Van Deynze. 2013. Identification of QTLs for capsaicinoids, fruit quality, and plant architecture-related traits in an interspecific *Capsicum* RIL population. *Genome* 56:61-74.
- Yi, G., J. M. Lee, S. Lee, D. Choi and B.-D. Kim. 2006. Exploitation of pepper EST–SSRs and an SSR-based linkage map. *Theoretical and Applied Genetics* 114:113-130.
- Zimmer, A. R., B. Leonardi, D. Miron, E. Schapoval, J. R. de Oliveira and G. Gosmann. 2012. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: from traditional use to scientific approach. *Journal of Ethnopharmacology* 139:228-233.

## CAPÍTULO I

### DIVERSIDAD MORFOLÓGICA DE VARIEDADES DE CHILE 'GUAJILLO' NATIVAS DE ZACATECAS, MÉXICO<sup>1</sup>

Yolanda del Rocío Moreno-Ramírez, Amalio Santacruz-Varela, Higinio López-Sánchez,  
Leobigildo Córdova-Téllez, Víctor A. González-Hernández, Pedro Antonio López, Tarsicio  
Corona-Torres.

#### 1.1. Resumen

Las poblaciones nativas de chile 'Guajillo' y otros tipos de chile producidos en Zacatecas requieren de estudios de diversidad genética, a fin de describir y cuantificar la variación existente y así plantear estrategias de conservación y mejoramiento genético. El objetivo de este estudio fue determinar la diversidad morfológica de poblaciones de chile 'Guajillo' nativas del estado de Zacatecas, México, mediante descriptores que permitieran diferenciar grupos morfológicos. Se evaluaron 32 características de planta, fruto, flor, semilla y fenología, en 101 poblaciones nativas de chile 'Guajillo' (98), y como referencia poblaciones de 'Puya' (4), 'Pasilla' (3) y chile 'De Árbol' (1), además de cuatro variedades mejoradas como testigos, mediante un diseño experimental Látice simple 10 × 11 con dos repeticiones en dos localidades de Zacatecas. Los análisis de varianza y correlación identificaron 17 características altamente discriminantes que correspondieron al 53% del total de variables evaluadas. El ancho, longitud, peso, color, forma y fenología del fruto, así como la longitud de placenta y forma del pedicelo explicaron mayormente la heterogeneidad fenotípica observada a través de los Análisis de Componentes Principales (ACP)

---

<sup>1</sup> Manuscito enviado a Genetics and Molecular Research para su publicación como artículo científico.

y de conglomerados. Se encontró una amplia diversidad morfológica de chile 'Guajillo' y otros tipos de chile, diversidad que parece mantenerse a través de la selección y manejo de morfotipos similares y específicos, dentro y entre tipos. Existe una amplia variación morfológica y agronómica del germoplasma de chile 'Guajillo' manejado por los agricultores tradicionales, con gran potencial para ser aprovechado de manera inmediata para incrementar la producción de este cultivo.

**Palabras clave:** *C. annuum* L., poblaciones nativas, tipos de chile, diversidad genética, germoplasma.

## 1.2. Summary

Native populations of 'Guajillo' chile peppers, as well as other types of chiles produced in Zacatecas, require studies on their genetic diversity in order to describe and quantify existing variation and propose conservation and breeding strategies. The objective of this study was to determine morphological diversity of native 'Guajillo' chile populations from the state of Zacatecas, Mexico, using descriptors that enable differentiation of morphological groups. Thirty-two plant, fruit, flower, seed and phenological traits were assessed in 98 native 'Guajillo' chile populations. The same traits were also assessed in reference populations: 'Puya' (4), 'Pasilla' (3) and chile 'De Árbol' (1), as well as in four improved varieties used as controls. The experimental design was a simple  $10 \times 11$  lattice with two replications in two locations in Zacatecas. Analysis of variance and correlations identified 17 highly discriminating characteristics that corresponded to 53 % of all of the traits assessed. The width, length, weight, color, shape and phenology of the fruit, as well as placenta length and pedicel shape explained most of the phenotypical heterogeneity revealed by principal component (PCA) and cluster analyses. Broad morphological diversity of 'Guajillo' and other types of chiles was found. This diversity appears to be maintained through selection and management of similar and specific morphotypes, within and among types. There is broad morphological and agronomic variation in the 'Guajillo' chile germplasm managed by traditional farmers. This diversity has great potential to be used immediately to increase production of this crop.

**Key words:** *Capsicum annuum* L., native populations, chile types, genetic diversity, germplasm.

### 1.3. Introducción

El chile (*Capsicum annuum* L.) es valorado por su aroma, sabor y picor; destaca mundialmente por su amplia distribución e importancia económica, junto con la diversidad morfológica que presenta (Wang y Bosland, 2006). México, como su centro de domesticación y de diversidad, posee una amplia variedad de tipos cultivados y silvestres (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009; Kraft *et al.*, 2014). Sus poblaciones nativas son dinámicas y altamente heterogéneas (Camacho *et al.*, 2005); cada tipo de chile muestra características morfológicas y de sabor propios, y además con morfotipos adaptados a ambientes específicos. Dicha variación se ha generado por la selección agronómica, hortícola y natural aplicada en cada región y agrosistema (Cázares-Sánchez *et al.*, 2005; Votava *et al.*, 2005).

En Zacatecas el cultivo de chile contribuye con 35 % al valor económico del sector; 80 % de su producción se destina al mercado en seco, donde destaca el chile Guajillo. El manejo, cultivo y utilización de variedades locales de 'Guajillo' y otros tipos de chiles deshidratados es amplio en la región, pero se han hecho muy pocos estudios de la valoración genética de su diversidad; dicha valoración permitiría la identificación de genotipos con características agronómicas potenciales para iniciar estrategias de manejo, conservación y mejoramiento genético, acordes con las preferencias y condiciones de producción donde han sido seleccionados y adaptados por largos periodos de tiempo, y donde la susceptibilidad de los híbridos comerciales ante las plagas y enfermedades propias del cultivo es cada vez mayor (Pacheco-Olvera *et al.*, 2012).

En *Capsicum* se han caracterizado morfológicamente diversos órganos de la planta, estructuras reproductivas, fruto y componentes del rendimiento (Castañón-Nájera *et al.*, 2008; Toledo-Aguilar *et al.*, 2011; Castellón *et al.*, 2014). Tal caracterización permite la valoración y

conservación genética (Chávez-Servia, 2006), así como la utilización efectiva y eficiente del germoplasma de interés en los programas de mejoramiento genético, al identificar accesiones con atributos sobresalientes (Naghavi y Jahansouz, 2005), mediante la aplicación de métodos estadísticos diversos como análisis de componentes principales (Pla, 1986) que clasifican y distinguen grupos genéticos de manera efectiva (Martínez-Sánchez *et al.*, 2010).

Geleta *et al.* (2005) y Pacheco-Olvera *et al.* (2012) resaltan la importancia del germoplasma domesticado, semidomesticado y silvestre en el uso y conservación de *Capsicum* a través de estudios morfológicos, genéticos y ecológicos. En colectas de Chile 'Guajillo', Moreno *et al.* (2007) y Moreno-Pérez *et al.* (2006, 2011) encontraron variación de órganos vegetativos, de estructuras reproductivas, así como en color y contenido de antocianinas útil para iniciar mejoramiento genético.

Dada la importancia económica y genética del Chile 'Guajillo', se requiere de mayor número de estudios de la diversidad genética y del potencial agronómico y fitogenético de sus variedades locales. Es conveniente que tales estudios se efectúen en los ambientes de las regiones productoras, con el manejo agronómico correspondiente a las prácticas aplicadas por los agricultores que conservan y utilizan este germoplasma. La medición de características más heredables o poco afectadas por el ambiente, apropiadas para diseñar programas de conservación y mejoramiento a nivel regional, puede ser más precisa si se efectúa en las condiciones donde se desarrolla el germoplasma nativo.

La descripción de recursos fitogenéticos comúnmente considera el análisis separado de las variables cuantitativas y cualitativas: sin embargo, su análisis conjunto ofrece una mejor descripción y divergencia genética de las poblaciones. Gonçalves *et al.* (2009) señalaron que la

caracterización obtenida del análisis conjunto de datos morfológicos y moleculares brinda una mejor cuantificación de la diversidad genética del cultivo. En el mismo sentido, Oliveira *et al.* (2015) demostraron que el agrupamiento de genotipos con base en el análisis de datos mixtos a través del método de Ward-MLM da mayor precisión de los grupos formados que los obtenidos con variables separadas. Por la eficiencia del método y a la naturaleza de las diferentes variables fenotípicas evaluadas, se ha incrementado su aplicación en estudios de recursos genéticos y programas de mejoramiento (Franco *et al.*, 2005, Ortiz *et al.*, 2008, Sudré *et al.*, 2010, Brasileiro *et al.*, 2015).

Bajo este contexto, el objetivo del presente estudio fue determinar la diversidad fenotípica de poblaciones de chile tipo 'Guajillo' y otros tipos de chiles locales de Zacatecas, mediante descriptores cuantitativos y cualitativos seleccionados para valorar la variabilidad genética existente, así como visualizar la formación de grupos y estructura entre y dentro de los mismos.

#### **1.4. Materiales y métodos**

Se dispuso de semilla de frutos secos de 106 variedades nativas, recolectadas en Zacatecas (97), Durango (8), Puebla (1), de las cuales 98 correspondieron al tipo 'Guajillo', 4 a 'Puya', 3 a 'Pasilla' REy una a chile 'De Árbol'; además, se incluyeron cuatro testigos mejorados de chile 'Guajillo', tres de ellos (Don Ramón, Don Luis y VR91) desarrollados en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), y el híbrido comercial Castillo® de la empresa Mar Seed Company. Estas 110 variedades constituyeron los tratamientos que aquí se evaluaron.

## **Obtención de plántulas**

Se efectuó en condiciones de invernadero en charolas de unicel de 200 cavidades; en cada cavidad se depositaron dos semillas a 0.5 cm de profundidad, previamente tratadas en una solución de 1 g L<sup>-1</sup> de benomyl (Benlate<sup>®</sup>, i. a. Methyl-1-(butylcarbamoil) benzimidazol-2-ylcarbamate). El sustrato fue una mezcla de Cosmopeat<sup>®</sup> y vermiculita (4:1), regado a punto de saturación. Las charolas se cubrieron con plástico negro hasta que al menos 50 % de las plántulas emergió. Posteriormente se aplicaron dos aspersiones al día con una solución de N-P-K-Ca-Mg (4:1:4:3:1).

## **Sitio experimental y conducción del experimento**

En el ciclo Primavera-Verano de 2012 se trasplantaron plántulas de 45 días de edad con cepellón, en predios de productores cooperantes en dos localidades del estado de Zacatecas: (i) Rancho San Felipe, Fresnillo (23°10' N y 103°04' O, altitud de 2060 m) y en (ii) Casa Blanca, Guadalupe (22° 86' N y 102° 31' O, altitud de 2050 m). El clima de ambas localidades es Bskw, correspondiente a semi-árido templado (García, 1988). El manejo agronómico correspondió al realizado tradicionalmente en la región. En el Rancho San Felipe el cultivo se estableció en acolchado y riego por goteo con una dosis de fertilización de 180N-90P-00K; en Casa Blanca se aplicó riego rodado y fertilización de 80N-100P-50K en la primera escarda, 80-00-50 en floración y 60-00-50 en la formación de fruto. El control de malezas se hizo en forma manual en ambos sitios.

## **Diseño y unidad experimental**

Se empleó un diseño de Láttice 10 × 11 con dos repeticiones. La unidad experimental consistió de surcos de doble hilera de 4 m de longitud en la que se establecieron 40 plantas, con



dos plantas por mata y 0.40 m de separación entre matas; la distancia entre surcos fue de 0.80 m, para lograr una densidad de población de 52,632 plantas ha<sup>-1</sup>.

### **Variables evaluadas**

En una muestra de 10 plantas representativas de cada unidad experimental se evaluaron las variables correspondientes a las siguientes cinco categorías vegetativas de la guía del IPGRI para *Capsicum* (1995):

- i) **De la planta:** Antocianinas en nudos (CAE, 1: verde, 3: morado claro, 5: morado, 7: morado oscuro); pubescencia del tallo (PTA, 3: escasa, 5: intermedia, 7: densa); altura de planta (ALP, cm); longitud del tallo (LTA, cm); diámetro de tallo (DTA, cm); número de bifurcaciones (NBI); número de ramas en la primera bifurcación (NRB); número de ramas secundarias (NRS); relación ancho / longitud de la hoja madura (ILAHM).
- ii) **De las estructuras florales:** Color de la mancha de la corola (CMC, 1: blanco, 2: amarillo, 3: verde-amarillento, 4: verde, 5: morado); longitud de la antera (LAN, mm); longitud del filamento (LFI, mm); número de pétalos (NP).
- iii) **Del fruto:** Color en estado inmaduro (CFRI, 3: verde, 4: anaranjado, 5: morado, 6: morado oscuro); color de fruto maduro (CMA, 7: rojo claro, 8: rojo, 9: rojo oscuro, 10: morado, 11: marrón, 12: negro); forma de fruto (FF, 1: elongado, 2: casi redondo, 3: triangular, 4: acampanulado, 5: acampanulado y en bloque); longitud de fruto (LFR, cm); ancho de fruto (AFR, cm); longitud del pedicelo (LPF, cm); espesor del pericarpio (EPE, mm); forma con la unión del pedicelo (FFP, 1: agudo,

2: obtuso, 3: truncado, 4: cordado, 5: lobulado); arrugamiento transversal del fruto (ATF, 3: levemente corrugado, 5: intermedio, 7: muy corrugado); número de lóculos del fruto (NLF); longitud de la placenta (LPL, mm); condición de la mezcla varietal (CMV, 3: leve; 5: intermedia; 7: importante); peso seco promedio (PPMF, g); número de frutos por planta (NFPL).

iv) **De la semilla:** Diámetro de semilla (DSE, mm); número de semillas por fruto (NSF); peso de 1000 semillas (PMS, g).

v) **De la Fenología:** Días a floración (DFL); días a fructificación (DFR).

### **Análisis estadístico**

Se analizaron de manera simultánea datos continuos y categóricos. Para determinar los efectos de interacción genotipo  $\times$  ambiente se realizó un análisis de varianza combinado a través de localidades. Se aplicó un análisis de correlación entre las variables con significancia estadística ( $p \leq 0.05$ ) para los pares de variables con un coeficiente de correlación mayor de 0.7 se seleccionó una de ellas (Pla, 1986).

Las variables de mayor valor descriptivo conformaron la matriz empleada en los análisis multivariados. Se realizó el análisis de componentes principales (ACP). La distribución poblacional se graficó sobre el plano determinado por los dos primeros CP, donde el estimador de la densidad poblacional ( $r$ ) respecto a la cercanía de cada observación definió el número de agrupaciones significativas, a través del método no paramétrico Modeclus (SAS Institute, 2011). Luego, mediante un análisis de conglomerados con el método de Ward-MLM se definieron los grupos poblacionales a través del jerárquico de mínima varianza de Ward (SAS Institute, 2011),

con base en la matriz de disimilitud de Gower. Se aplicó el método de localización modificada (MLM) para establecer el número ideal de grupos a partir de las medias de los valores para cada variable en cada sub-población (Franco *et al.*, 2005), con base en los estadísticos pseudo-F y pseudo- $t^2$  y la función logarítmica de probabilidad (Log-L). Además, Se realizó el análisis de comparación de medias (Tukey  $p \leq 0.05$ ) sobre los grupos generados. Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete SAS V.9.4 (SAS Institute, 2011).

## **1.5. Resultados y discusión**

### **Distribución de la variación genética**

En análisis de varianza mostró diferencias estadísticas entre genotipos lo que implicó variabilidad genética. Se encontró variabilidad en 72% de las características morfológicas analizadas, ya que nueve de los descriptores vegetativos no presentaron efectos significativos. Las correlaciones más importantes entre las 23 variables con significancia estadística se asociaron con las variables de fruto, en comparación con las características de planta y semilla. De 32 variables evaluadas 53% aportaron información a la diversidad fenotípica.

Los análisis de varianza y correlación permitieron la identificación de 17 características altamente discriminantes, que explicaron el 79.3% de la variación total con los cinco componentes principales (Cuadro 1.1). El primer componente principal (CP1) explicó casi 35% del total de la variación, principalmente con características de altura de planta, forma, peso y arrugamiento transversal de fruto así como diámetro y cantidad de semilla. El CP2 contribuyó con 24% de la variabilidad fenotípica observada y se asoció con la longitud de placenta, pedicelo y fruto. El ancho y número de frutos por planta participaron preponderantemente en la conformación del tercer componente, que explicó el 8.8% de la variación total. La aportación del CP4 con 6.4%, se basó

mayormente en el número de bifurcaciones y días a fructificación. Para el CP5 el color y número de lóculos del fruto definieron el 5.3% de la variación.

**Cuadro 1.1. Vectores propios de los cinco primeros componentes principales derivados de 17 características de 110 genotipos de *Capsicum annuum* L.**

Característica	Vectores propios				
	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Altura de planta	0.372 <sup>¶</sup>	-0.138	-0.121	-0.045	0.087
Ancho de fruto	0.201	0.268	0.383	-0.222	0.195
Arrugamiento transversal del fruto	0.272	-0.246	0.134	-0.109	-0.103
Color de fruto maduro	0.114	0.225	0.261	0.423	-0.465
Días a fructificación	0.070	0.145	0.428	0.562	0.364
Diámetro de semilla	0.325	0.171	-0.104	0.122	0.004
Diámetro de tallo	0.252	0.184	-0.178	-0.240	-0.128
Forma del fruto	0.304	-0.261	0.067	0.039	0.168
Forma del fruto con la unión del pedicelo	0.256	-0.320	0.084	0.113	0.152
Número de frutos por planta	-0.268	-0.144	0.375	-0.112	-0.046
Longitud de fruto	0.067	0.415	-0.252	0.018	0.116
Longitud del pedicelo	0.104	0.340	-0.189	-0.141	0.245
Longitud de la placenta	-0.108	0.422	0.001	0.103	0.052
Número de bifurcaciones	0.144	0.160	0.476	-0.536	0.093
Número de lóculos	0.209	0.122	0.140	-0.064	-0.650
Número de semillas por fruto	0.321	-0.099	-0.172	0.095	-0.050
Peso promedio de fruto	0.368	0.042	0.010	0.104	0.067
Valor propio	5.921	4.076	1.495	1.083	0.904
<b>% de variación explicada</b>	<b>34.83</b>	<b>23.98</b>	<b>8.80</b>	<b>6.37</b>	<b>5.32</b>
<b>% de variación acumulada</b>	<b>.34.83</b>	<b>58.81</b>	<b>67.61</b>	<b>73.98</b>	<b>79.29</b>

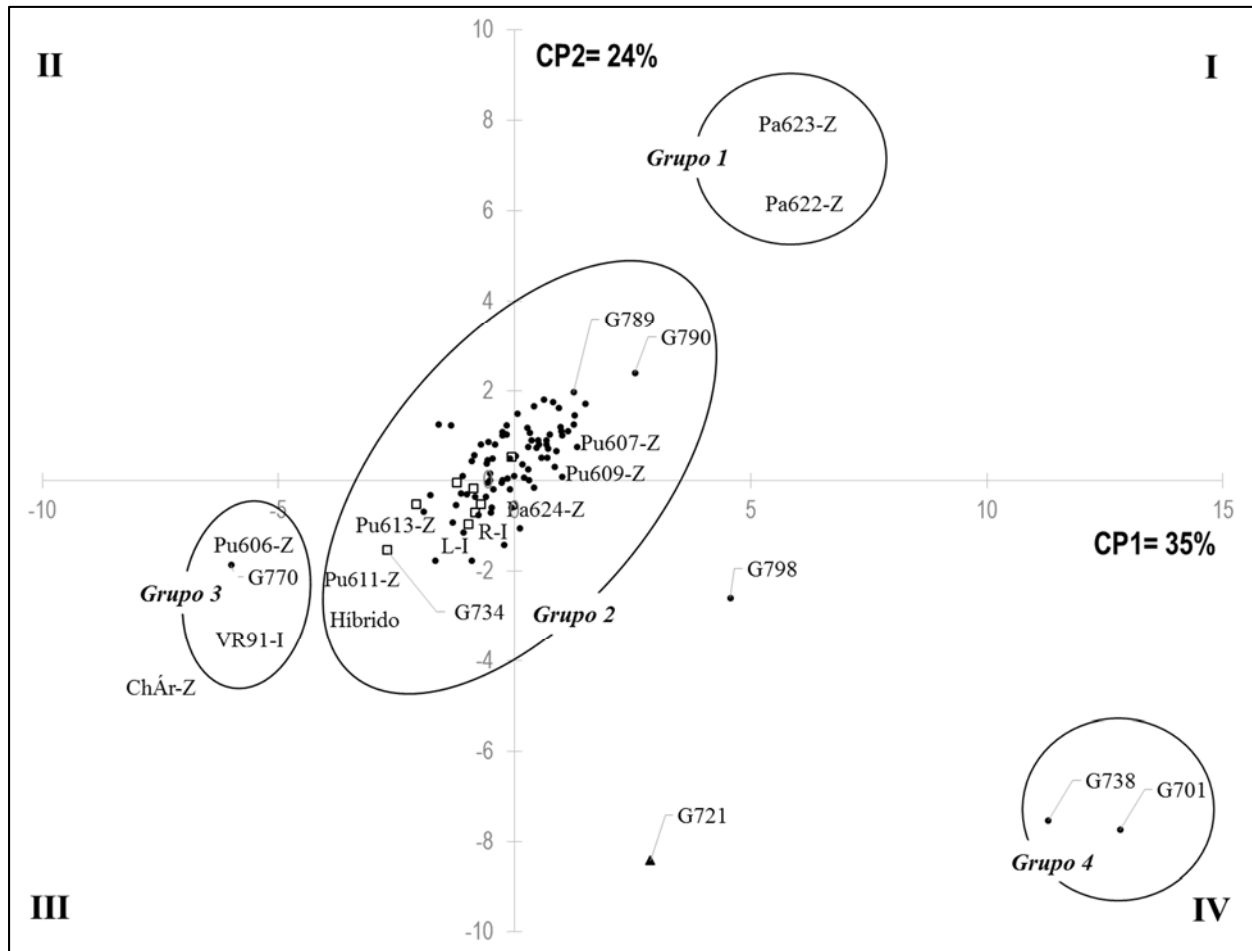
CP= Componente principal. <sup>¶</sup>= Coeficientes del vector propio de alta importancia relativa.

El tamaño de planta, fruto y semilla además de la forma de fruto, placenta, unión con el pedicelo y el arrugamiento transversal, mostraron la mayor contribución y valor descriptivo al análisis de diversidad. La selección de estas características ha definido los atributos propios de cada tipo de chile, que manejadas bajo criterio del productor junto con las múltiples condiciones donde se establece el cultivo han logrado que cada población cuente con una amplia fuente de diversidad, en particular para los alelos de interés agrícola y de adaptaciones locales (Nicolai *et al.*, 2013).

Las variables de fruto presentaron mayor capacidad de discriminación que los atributos de planta y estructuras florales. La principal contribución a la diversidad morfológica se describió de manera particular con once características de fruto, que representan el 65% de las variables seleccionadas. El ancho, longitud, peso, forma del fruto así como la longitud de placenta y forma del pedicelo explicaron mayormente la heterogeneidad fenotípica observada, contrario a las estructuras florales y algunas características de planta como la presencia de antocianinas, longitud y diámetro de tallo, así como el número de ramas que no aportaron información a la descripción morfológica.

De acuerdo con la distribución poblacional sobre el plano determinado por los CP1 y CP2 (Figura 1.1) se observó una amplia cobertura, la cual se asoció de manera notoria al fruto. Se observó un gradiente de dispersión entre los Cuadrantes I y III, donde las poblaciones de chile 'De Árbol' y 'Pasilla' presentaron un comportamiento opuesto respecto a tamaño de planta, fruto y semilla, que determinó su ubicación en cada extremo de la dispersión. La tendencia inició con el tipo chile 'De Árbol' que presentó plantas pequeñas, frutos angostos, cortos y de peso ligero, además de semilla pequeña. En tanto que las poblaciones de 'Pasilla' (Pa622 y Pa623) se ubicaron al final del conglomerado y mostraron frutos anchos, de mayor peso y longitud que produjeron semilla grande. En la parte media del gradiente se ubicaron poblaciones de 'Guajillo' y 'Puya'

cerca del origen, que mostraron un comportamiento intermedio y cuya variación continua indicó parecido en su variación fenotípica. Destacan a cuatro poblaciones tipo ‘Guajillo’ dispersas a través del cuarto cuadrante y cuya ubicación se separó de manera distante de esta tendencia grupal.



**Figura 1.1. Dispersión de 110 genotipos *Capsicum annum* L. con base en los primeros dos componentes principales del análisis para 17 características morfológicas. G= ‘Guajillo’ procedente de Zacatecas (●), Durango (□) y Puebla (▲); Pu= ‘Puya’, Pa= ‘Pasilla’, ChÁr= chile ‘De Árbol’, R= Don Ramón; L= Don Luis; VR-91= VR91; Híbrido= Castillo®; Origen de las colectas: Z= Zacatecas, I=INIFAP. CP= Componente principal.**

Según la densidad de estimación, con base en un radio de 2.5 obtenido por el procedimiento Modeclus, definió cuatro grupos sobre la distribución espacial (Figura 1.1). Al Grupo 1 se asociaron dos poblaciones tipo 'Pasilla' (Pa622 y Pa623), con frutos largos (17 y 19 cm), de ancho intermedio (3.1 cm), pesados (10 g), de amplia longitud de placenta (57 y 68 mm) y pedicelo (5.4 y 5.9 cm), que produjeron abundante cantidad de semillas (176 a 195), cuyo diámetro promedio alcanzó 4.8 mm a partir de plantas altas (82 cm).

En el Grupo 2 con la mayor densidad predominó el tipo 'Guajillo' con: 92 poblaciones nativas, dos materiales mejorados (Don Luis y Don Ramón) y el híbrido comercial, además de cuatro poblaciones tipo 'Puya' y una accesión de 'Pasilla' (Pa624). La variabilidad morfológica en altura de la planta (50 a 80 cm), largo (9 a 19 cm), ancho (2.9 a 3.7 cm) y peso de fruto (3 a 18 g), así como la longitud de placenta (34 a 50 mm), de pedicelo obtuso (4 a 6 cm) y cantidad de semilla (121-220), junto con su distribución en los Cuadrantes I, II y III cerca al origen, revelaron la amplia diversidad genética del complejo 'Guajillo' (Grupo 2).

La tendencia de dispersión del complejo 'Guajillo' se asoció con los valores intermedios de tamaño de planta, fruto y semilla respecto a los valores presentados por chile 'De Árbol' y 'Pasilla'. Sin embargo, dentro de su categoría intermedia mostró un amplio intervalo de variación morfológica. En el Cuadrante III se concentraron 30 genotipos con plantas y frutos cortos, angostos, livianos y de placenta y pedicelo reducidos, donde los materiales mejorados Don Luís y Don Ramón, junto con una accesión de 'Pasilla' fueron semejantes para estos atributos. En contraste, 39 poblaciones que mostraron la mayor magnitud para estas características se ubicaron en el Cuadrante I. Alrededor del origen, con mayor tendencia hacia el Cuadrante II, se posicionaron 31 variedades con tamaño intermedio. Las poblaciones tipo 'Guajillo' presentan heterogeneidad morfológica en las variables de planta, fruto y semilla.

El híbrido y Pu611 ubicados en el Cuadrante III, así como G790 en el Cuadrante I, se localizaron en los extremos del conjunto, alejados de manera parcial, por mostrar valores opuestos para las características de los componentes. Dentro del complejo 'Guajillo' se observaron variantes individuales, que expresaron variabilidad fenotípica particular sin perder las características propias de este tipo de chile.

La amplia cantidad de morfotipos observados dentro de 'Guajillo' derivó de la variabilidad de sus atributos fenotípicos de fruto. Las poblaciones procedentes de Durango mostraron cierta afinidad en su dispersión (Cuadrante II), con morfotipos de porte pequeño y frutos cortos, que exhiben las preferencias de manejo y consumo en su lugar de procedencia. Es posible que la población de 'Pasilla' asociada a este complejo, haya decrecido en tamaño, ancho, longitud de placenta y pedicelo del fruto, como resultado del apareamiento abierto con poblaciones de tipo 'Guajillo' y que por selección se hayan incorporado más atributos de éste como consecuencia de la combinación genética.

Al Grupo 3 se asociaron dos variedades locales (Pu606 y G770) con comportamiento muy similar, y el material mejorado VR91 cuyos frutos y pedicelo fueron cortos. Su longitud de placenta mostro valores intermedios cuya variación fue de 39 a 43 mm, donde el tipo 'Guajillo' (G770) fue superior, al igual que en la altura de planta (57 a 65 cm) y ancho de fruto (2.2 a 1.6 cm). Para variables de peso de fruto (2 g), diámetro (3.8 mm) y cantidad de semilla (102) el comportamiento fue similar para los tres genotipos, pero los tipos 'Guajillo' y 'Puya' mostraron frutos con unión aguda al pedicelo, en tanto que en VR91 tipo 'Guajillo' presentó la unión es en ángulo obtuso. Las dimensiones de fruto fueron semejantes entre los dos genotipos nativos. Contrario a la variedad mejorada que mostró frutos pequeños, pero con mayor ancho que las poblaciones Pu606 y G770.



El chile 'De Árbol' presentó los menores valores en longitud, ancho y peso de fruto (9.3 cm, 1.36 cm y 1.2 g, respectivamente), así como diámetro y cantidad de semilla (3.7 mm y 76); aunque en longitud de su placenta (42 mm) y altura de planta (66 cm) se equipararon con los valores de los Grupos 1 y 2.

En el Cuadrante IV dos genotipos de 'Guajillo' (G738 y G701) conformaron el Grupo 4 que mostraron altura de planta mediana (70 y 74 cm), frutos cortos (10 y 12 cm) pero muy anchos (5.7 y 6.4 cm), con placenta pequeña (23 y 22 mm), unión con el pedicelo aguda y obtusa, respectivamente; de 5 cm de longitud en promedio, produjeron gran cantidad de semilla (246 y 306), con diámetro fue de 4.6 mm. El peso y tamaño de fruto de este conjunto fue 42% superior al del complejo Guajillo, con corrugación intermedia, unión lobulada del pedicelo y forma acampanulada del fruto, lo que incidió en su separación grupal. Estos genotipos colectadas como tipo 'Guajillo' presentaron rasgos de chile tipo 'Ancho', indicativo de que están segregando hacia éste tipo.

Por proceder de Puebla, G721 mostró un diferencial con respecto a los 'Guajillo' de Zacatecas, con tendencia hacia frutos triangulares de mayor dimensión y unión truncada del pedicelo con el fruto. No obstante, en el resto de variables se comportaron de manera semejante al complejo amplio de Guajillo.

Las variables de ancho de fruto y la cantidad de semilla producida mostraron estar relacionadas. La mayor producción de semilla (200 a 306) correspondió a frutos de las poblaciones dispersas en el Cuadrante IV, que presentaron los máximos valores de ancho de fruto (4 a 6.5 cm). Se observó que las características de forma y apariencia del fruto presentaron un comportamiento similar, con frutos elongados y con leve corrugación presentaron pedicelo en ángulo agudo,

características que predominaron en las poblaciones evaluadas. Únicamente G738 y G701 (Grupo 4) y G721 mostraron forma triangular en asociación con la apariencia de corrugación intermedia y la forma del pedicelo lobulado.

La dispersión poblacional de los tipos de chile estudiados se atribuyó principalmente a las características del fruto, dada la amplia variación en peso, tamaño, longitud, curvatura del pedicelo y arrugamiento transversal. Esde suponer que la selección de estas y otras características como sabor, picor y resistencia a factores bióticos y abióticos, y su adaptación a diferentes nichos ecológicos, han promovido la amplia diversidad identificada.

El análisis de componentes principales permitió describir la varianza total de las poblaciones, y descubrir que comparten rasgos comunes pero también variantes en las características propias de su tipo. Según Moreno *et al.* (2007, 2011), la longitud y anchura de la hoja, así como las características florales, contribuyeron a la explicación de la variabilidad en chile 'Guajillo', lo cual no ocurrió en el presente estudio.

Las características de fruto presentaron el mayor valor explicativo en la descripción fenotípica. De acuerdo con Medina *et al.* (2006) y Pardey *et al.* (2006), la variación genética del género se describe principalmente por las características de fruto, a través del color, forma y tamaño. Este polimorfismo es típico de las especies domesticadas (Medina *et al.*, 2006), donde la selección sobre los atributos agromorfológicos, tanto entre como dentro de cada población, determina el grado de variabilidad genética (Castañón-Nájera *et al.*, 2008). Caso contrario ocurre en las especies silvestres, cuya diversidad se define por características relacionadas con el follaje (Medina *et al.*, 2006).

Si bien en cada tipo de chile las características se mantienen, se pueden identificar variantes individuales dentro de cada tipo, como es el caso de las poblaciones de 'Guajillo' y 'Puya' que comparten valores similares en sus morfotipos, lo que podría asociarse con el flujo genético por el intercambio de semillas entre productores. Por su parte, Aguilar-Rincón *et al.* (2010) han planteado que 'Puya' se derivó de morfotipos de Guajillo, a través de la selección dirigida hacia el tamaño, forma y color. El grado de variación genética del complejo 'Guajillo' puede asociarse con la capacidad de intercambio genético, ya que estas poblaciones presentan estilos expuestos que facilitan la polinización cruzada.

La capacidad de intercambio génico a través de la polinización cruzada determina el nivel de diversidad genética de las poblaciones de chile y es un factor importante en el proceso de domesticación de *C. annuum* (Geleta *et al.*, 2005). La amplia variabilidad morfológica identificada en las poblaciones analizadas parece estar asociada con su comportamiento alógamo.

La eficiencia de diferenciación de los descriptores cuantitativos y cualitativos seleccionados determinó la formación de cuatro grupos poblacionales. A través de variables altamente discriminantes, principalmente de fruto, se identificó una amplia variabilidad genética entre y dentro de los grupos poblacionales de los tipos de chile estudiados. Las poblaciones nativas comparten rasgos comunes en la forma y longitud del fruto, aunque presentan variantes dentro cada tipo; sin embargo, las poblaciones de chile 'Guajillo', 'Pasilla' y 'Puya' procedentes de Zacatecas y Durango parecen compartir su patrimonio genético por su similitud en forma y dimensiones. Con base en la variación principalmente de tamaño y forma de fruto, se postula que hay diferentes criterios de selección entre las entidades de procedencia del germoplasma. Además, el análisis de la dispersión poblacional mostró que existe potencial agronómico, dada la superioridad de G789 y

G790 en tamaño de planta, fruto y semilla con respecto al híbrido comercial y a los materiales mejorados tipo 'Guajillo'.

### **Agrupamiento de la variación**

Con base en los criterios estadísticos indicados por Ward-MLM se definieron cinco grupos poblacionales (Figura 1.2). Tal agrupamiento mostró un patrón de asociación similar al del análisis de Componentes Principales. De manera particular, los Grupos I, III y V mantuvieron su afinidad a través de este análisis. En cambio, el complejo de chile 'Guajillo' se separó en dos sub grupos (Grupos II y IV). Esta mayor precisión de agrupación es la principal ventaja del método de Ward-MLM aquí aplicado, lo que permite alcanzar mayor probabilidad de que cada accesión asignada sea correctamente asignada un grupo específico, a través del manejo de toda la información de los genotipos y sus variables mixtas evaluadas, y por tanto de identificar el número óptimo de agrupaciones con alta exactitud (Franco *et al.*, 2005).

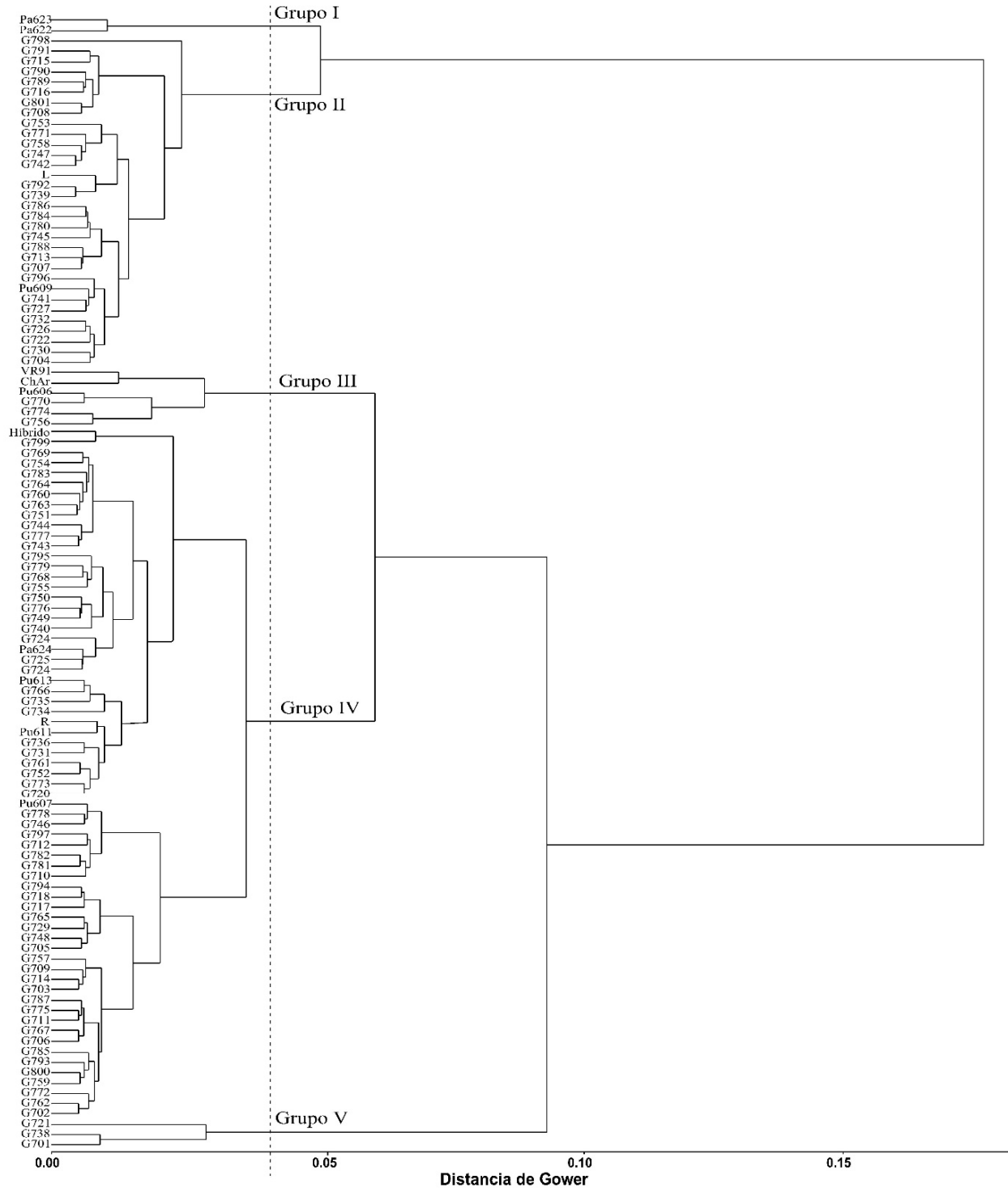
El tamaño, coloración, forma y apariencia de fruto, así como su fenología determinaron mayormente la separación de los grupos (Cuadro 1.2). En el Grupo I se conjuntaron dos poblaciones tipo 'Pasilla', que presentaron similitudes en características asociadas a la altura de planta y diámetro de tallo amplios, frutos grandes, con placenta amplia, de tres lóculos y coloración roja intensa a la madurez, anchura intermedia y tardíos a la fructificación. El Grupo II concentró 31 variedades de 'Guajillo', que incluyeron al material mejorado Don Luis y el tipo 'Puya' (Pu609), cuyos valores en fenología, tamaño de planta, fruto y semilla fueron intermedios; su particular diferencia se debe al color rojo oscuro alcanzado en la madurez del fruto de ambas poblaciones. El Grupo III se formó con tres genotipos nativos de 'Guajillo' y la variedad VR91,

además de Pu606 y el chile 'De Árbol', que mostraron alta producción de frutos rojos, de corta longitud y angostos, a partir de plantas de porte mediano y diámetro de tallo pequeño.

La mayor densidad poblacional se observó en el Grupo IV, con 67 genotipos, que incluyó a 61 del tipo 'Guajillo', tres de 'Puya', uno de 'Pasilla' y al híbrido comercial. Los Grupos II y IV en el análisis de componentes principales se conjuntaron en el complejo 'Guajillo'; no obstante, su separación en el dendrograma se debe principalmente a la coloración del fruto, que fue rojo oscuro en el Grupo II y rojo en el grupo IV. La precisión en la separación del Complejo 'Guajillo' se logró con la aplicación de Ward-MLM. Únicamente tres poblaciones de 'Guajillo' definieron al Grupo V, cuyas características son frutos rojos, pequeños, de peso y ancho amplio aunque de placenta corta. Con excepción del resto de los agrupamientos, éste mostró frutos triangulares con corrugación intermedia.

Se identificaron tres tipos de unión del pedicelo con el fruto: la forma obtusa se observó en genotipos de los Grupos I, II y IV, mientras que el tipo agudo correspondió a las poblaciones del Grupo I y la unión lobulada al Grupo V. Al menos un material mejorado se asoció a los agrupamientos con poblaciones nativas, lo que indica que comparten ciertos rasgos genéticos propios del tipo de chile al que pertenecen.

Los grupos poblacionales generados por el método Ward-MLM fueron apreciados de manera clara. La cuantificación de la diversidad genética con el análisis de variables mixtas y el agrupamiento ideal obtenido a través de Ward-MLM permitieron la definición de los grupos poblacionales de forma eficiente y clara.



**Figura 1.2. Dendrograma obtenido por el método Ward-MLM de 110 poblaciones de *Capsicum annuum* L. a partir de 17 variables morfológicas seleccionadas, basado en distancias de Gower.**

**Cuadro 1.2. Comparación de medias para 17 características morfológicas de cinco grupos de *C. annuum* L. obtenidos por Ward-MLM.**

Característica	Grupo					DHS
	I	II	III	IV	V	
Ancho de fruto (cm)	3.07 b	3.19 b	2.16 c	3.09 b	5.44 a	0.57
Altura de planta (cm)	82.04 a	69.4 b	64.8 b	68.3 b	69.9 b	7.45
Arrugamiento transversal del fruto	3 b	3 b	3 b	3 b	5 a	0.45
Color de fruto maduro	11 a	9 b	8 c	8 c	8 c	0
Días a fructificación	68.75 a	58.8 b	59.6 b	58.2 b	59.1 b	4.89
Diámetro de semilla (mm)	4.75 a	4.28 c	3.96 d	4.25 c	4.51 b	0.19
Diámetro de tallo (cm)	1.06 a	0.99 bc	0.93 c	0.98 bc	1 ab	0.06
Forma del fruto	1 b	1 b	1 b	1 b	3 a	0
Forma del fruto con la unión del pedicelo	2 b	2 b	1 c	2 b	5 a	0.04
Longitud de fruto (cm)	18.35 a	14 b	11.8 c	14.2 b	10.2 c	1.81
Longitud del pedicelo (cm)	5.61 a	5.37 ab	4.69 bc	5.32 ab	4.41 c	0.74
Longitud de la placenta (mm)	62.36 a	42.7 b	44.1 b	43.7 b	21.7 c	5.83
Número de bifurcaciones	11.55 a	10.8 a	10.4 a	10.5 a	10.6 a	1.45
Número de frutos por planta	9.5 b	16.3 b	41.3 a	17.6 b	9.67 b	11.93
Número de lóculos	3 a	2.31 bc	2.12 c	2.26 bc	2.34 b	0.21
Número de semillas por fruto	185.2 b	165 b	114 c	159 b	263 a	37.54
Peso promedio de fruto	10.13 a	5.44 b	2.65 c	5.34 b	10.6 a	1.97

Valores con diferente letra en las hileras son estadísticamente diferentes (Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

DHS= Diferencia honesta significativa.

Al respecto, este método ha verificado la clasificación taxonómica propuesta en *Capsicum* y permitido la evaluación, descripción y representación de la amplia variación inter e intra específica (Ortiz *et al.*, 2010; Sudré *et al.*, 2010). Su aplicación en este análisis de diversidad permitió definir

de modo preciso los agrupamientos generados, los cuales correspondieron a los observados por el ACP. Ambos análisis en la cuantificación de la diversidad fenotípica de las variedades nativas y mejoradas de los tipos 'Guajillo', 'Puya', 'Pasilla' y chile 'De Árbol' fueron altamente consistentes.

## **1.6. Conclusiones**

La diversidad morfológica de chile 'Guajillo' y otros tipos de chile nativos de Zacatecas es amplia. La descripción morfológica y selección de variables, junto con el uso simultáneo de descriptores cuantitativos y cualitativos y su agrupamiento a través del método de Ward-MLM definieron con precisión la asociación de poblaciones y permitieron diferenciar grupos morfológicos. Dentro y entre los tipos de chile se identificó amplia heterogeneidad de morfotipos. Con base en las características de planta, fruto y semilla se logró la cuantificación de la diversidad fenotípica entre y dentro de los tipos 'Guajillo', 'Pasilla' y 'Puya'. Las características de fruto tamaño, color, forma de fruto, placenta, pedicelo, el arrugamiento transversal y días a fructificación, principalmente, definieron los rasgos distintivos de cada tipo de chile nativo que explicaron de manera precisa la variabilidad fenotípica observada. Se identificaron poblaciones nativas con atributos agronómicos potenciales que igualaron e incluso superaron al híbrido y variedades mejoradas en tamaño y peso de fruto.

## **1.7. Literatura citada**

Aguilar-Meléndez, A., P. L. Morell, M. L. Roose and S-C Kim. 2009. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany* 96: 1190-1202.



- Aguilar R., V. H., T. Corona T., P. López L., L. Latournerie M., M. Ramírez M., H. Villalón M. y J. A. Aguilar C. 2010. Los Chiles de México y su Distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 108 p.
- Brasileiro, B. P., C. D. Marinho, P. M. A. Costa, E. F. A. Moreira, L. A. Peternelli and M. H. Barbosa P. 2014. Genetic Diversity in Sugarcane Varieties in Brazil based on the Ward-Modified Location Model Clustering Strategy. *Genetics and Molecular Research* 13:1650-1660.
- Brasileiro, B. P., S. A. Silva, D. R. Souza, P. A. Santos, R. S. Oliveira and D. H. Lyra. 2013. Genetic Diversity and Selection Gain in the physic nut (*Jatropha curcas*). *Genetics and Molecular Research* 12:2341-2350.
- Camacho V., T. C., N. Maxted, M. Scholten and B. Ford-Lloyd. 2005. Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization* 3:373-384.
- Castañón-Nájera, G., L. Latournerie M., M. Mendoza E., A. Vargas L. y H. Cárdenas-Morales. 2008. Colección y caracterización de Chile (*Capsicum* spp) en Tabasco, México. *Phyton International Journal of Experimental Botany* 77:189-202.
- Castellón, M. E., J. C. Carrillo-Rodríguez, J. L. Chávez-Servia y A. M. Vera-Guzmán. 2014. Variación fenotípica de morfotipos de chile (*Capsicum annum* L.) nativo de Oaxaca, México. *Phyton International Journal of Experimental Botany* 83:225-236.
- Cázares-Sánchez, E., P. Ramírez-Vallejo, F. Castillo-González, R. M. Soto-Hernández, M. T. Rodríguez-González y J. L. Chávez-Servia. 2005. Capsaicinoides y preferencia de uso en

diferentes morfotipos de chile (*Capsicum annum* L.) del centro-oriente de Yucatán. *Agrociencia* 39:627-638.

Chávez S., J. L. 2006. Análisis de la diversidad dentro y entre especies de *Capsicum*: opciones para estimar la variación interpoblacional. *In*: Fundamentos Genéticos y Socioeconómicos para Analizar la Agrobiodiversidad en la Región de Ucayali. Chávez-Servia, J. L. y R. Sevilla-Panizo (eds.). Bioersity International. Cali, Colombia. pp. 61-75.

Franco J., J. Crossa, S. Taba and H. Shands. 2005. A sampling strategy for conserving genetic diversity when forming core subsets. *Crop Science* 45: 1035-1044.

García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen, Para Adaptarlo a las Condiciones de la República Mexicana. Instituto de Geografía, UNAM. México, D.F. 217 p.

Geleta, L. F., M. T. Labuschagne and C. D. Viljoen. 2005. Genetic variability in pepper (*Capsicum annum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. *Biodiversity and Conservation* 14: 2361-2375.

Gonçalves L., S. A., R. Rodrigues, A. T. do Amaral Júnior, M. Karasawa and C. P. Sudré. 2009. Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and molecular data using a Ward-modified location model. *Genetics and Molecular Research* 8:364-374.

IPGRI, AVRDC y CATIE. 1995. Descriptores para *Capsicum* (*Capsicum* spp.). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia; Centro Asiático para el Desarrollo y

la Investigación Relativos a los Vegetales, Taipei, Taiwán y Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. 51 p

Kraft, K. H., C. H. Brown, G. P. Nabhan, E. Luedeling, J. J. Luna-Ruiz, G. C. d'Eeckenbrugge, R. J. Hijmans and P. Gepts. 2014. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. Proceedings of the National Academy of Sciences. 111:6165-6170.

Martínez-Sánchez, D., M. Pérez-Grajales, J. E. Rodríguez-Pérez y E. C. Moreno-Pérez. 2010. Colecta y caracterización morfológica de 'Chile de Agua' en Oaxaca, México. Revista Chapingo Serie Horticultura 16:169-176.

Medina, C. I., M. Lobo y A. F. Gómez. 2006. Variabilidad fenotípica en poblaciones de ají y pimentón de la colección colombiana del género *Capsicum*. Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria 7(2):25-39.

Moreno P., E. C., O. Cruz A., C. H. Avendaño A., M. A. T. Martínez-Damián and A. Peña L. 2007. Morphological variation in 'Guajillo' chili pepper plants (*Capsicum annuum* L.). African Crop Science Conference Proceedings 8:327-332.

Moreno-Pérez, E. C., M. T. Martínez-Damián, D. Reyes-López, C. A. Pérez-Mercado, A. Peña-Lomelí, y P. Espinosa-Robles. 2006. Intensidad de color y contenido de antocianinas en chile 'Guajillo' (*Capsicum annuum* L.). Revista Chapingo Serie Horticultura 12:135-140.

Moreno-Pérez, E. C., C. H. Avendaño-Arrazate, R. Mora-Aguilar, J. Cadena-Iñiguez, V. H. Aguilar-Rincón, y J. F. Aguirre-Medina. 2011. Diversidad morfológica en colectas de chile

'Guajillo' (*Capsicum annuum* L.) del centro-norte de México. Revista Chapingo Serie Horticultura 17:23-30.

Naghavi, M. R. and M. R. Jahansou. 2005. Variation in the agronomic and morphological traits of Iranian chickpea accessions. Journal of Integrative Plant Biology 47:375-379.

Nicolai, M., M. Cantet, V. Lefebvre, A. M. Sage-Palloix and A. Palloix. 2013. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. Genetic Resources and Crop evolution 60: 2375-2390.

Oliveira, E. J., O. S. Oliveira Filho and V. S Santos. 2015. Classification of cassava genotypes based on qualitative and quantitative data. Genetics and Molecular Research 14: 906-924.

Ortiz R., J. Crossa, J. Franco, R. Sevilla and J. Burgueño. 2008. Classification of Peruvian highland maize races using plant traits. Genetic Resources. Genetic Resources and Crop Evolution 55: 151-162.

Ortiz R., F. Delgado de la Flor, G. Alvarado and J. Crossa. 2010. Classifying vegetable genetic resources -A case study with domesticated *Capsicum* spp. Scientia Horticulturae 126:186-191.

Pacheco-Olvera, A., S. Hernández-Verdugo, V. Rocha-Ramírez, A. González-Rodríguez and K. Oyama. 2012. Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern Mexico analyzed by microsatellite markers. Crop Science 52: 231-241.

- Pardey, R. C., M. A. García D. y F. A. Vallejo C. 2006. Evaluación agronómica de accesiones de *Capsicum* del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. *Acta Agronómica* 58: 23-28.
- Pla, L. E. 1986. *Análisis Multivariado: Método de Componentes Principales*. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos. Washington, D. C. 94 p.
- SAS Institute. 2011. *SAS User's Guide: Statistics. Version 9.3*. Statistic Analysis System Institute. Cary, North Carolina, USA. 1032 p.
- Sudré, C. P., L. S. A. Gonçalves, R. Rodrigues, A. T. do Amaral Júnior, E. M. Riva-Souza and C. dos S. Bento. 2010. Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp as assessed by morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. *Genetics and Molecular Research* 9:283-294.
- Toledo-Aguilar, R., H. López-Sánchez, P. A. López, J. D. Guerrero-Rodríguez, A. Santacruz-Varela y A Huerta-de la Peña. 2011. Características vegetativas, reproductivas y de rendimiento de fruto de variedades nativas de Chile "Poblano". *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17: 139-150.
- Votava, E. J., J. B. Baral and P. W. Bosland. 2005. Genetic diversity of Chile (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) landraces from Northern New Mexico, Colorado, and Mexico. *Economic Botany* 59:8-17.
- Wang, D. and P. W. Bosland. 2006. The genes of *Capsicum*. *HortScience* 41:1169-1187.

## CAPÍTULO II

### PATRÓN COMPOSICIONAL DE POBLACIONES NATIVAS DE CHILE 'GUAJILLO'

Yolanda del Rocio Moreno-Ramírez; Amalio Santacruz-Varela; Higinio López-Sánchez; F. O. Holguin; P. W. Bosland; B. Dungan; Pedro Antonio López; Leobigildo Córdova-Téllez; Víctor A. González-Hernández; Tarsicio Corona-Torres; Oswaldo R. Taboada-Gaytán.

#### 2.1. Resumen

La domesticación de *Capsicum annuum* L. en México generó varios tipos de chile, de los que se conoce poco acerca de su composición y variabilidad fitoquímica. En este trabajo se estudió la variabilidad en contenido de capsaicinoides, carotenoides y vitamina A presentes en 33 poblaciones de chile 'Guajillo' nativas de Zacatecas, junto a chiles 'Puya', 'Pasilla', 'De Árbol' y un híbrido comercial utilizados como referentes de picor y color. Los resultados se analizaron mediante el análisis de comparación de medias, análisis de componentes principales (ACP) y de conglomerados. Se observó comportamiento diferencial en el contenido de los metabolitos analizados a través de la comparación entre poblaciones. El rango de concentración de los capsaicinoides totales fue de 0.002 a 7.438 mg 100 g<sup>-1</sup> de peso seco (PS), en el que dihidrocapsaicina aportó más del 50 %. Se identificaron altas concentraciones de carotenoides totales (17.8 a 29 mg 100 g<sup>-1</sup> de PS), en cuya composición se identificaron once pigmentos, dónde predominó capsantina. La actividad provitamínica fue pobre; sin embargo, el genotipo Pu606 tipo 'Puya' superó significativamente al resto. A través de los análisis de ACP y de conglomerados se observó la heterogeneidad composicional en chile 'Guajillo', cuyos genotipos mostraron el mayor contenido total de carotenoides, principalmente por la presencia de capsantina. El chile 'Guajillo'

presentó un patrón composicional propio con variantes individuales que pueden corresponder a la selección diferencial hacia atributos de sabor y a la interacción genético-ambiental.

**Palabras clave:** picor, carotenoides totales, 'Guajillo', diversidad, composición.

## 2.2. Summary

The domestication of *Capsicum annuum* L. in Mexico generated various types of cultivated chile of which little is known regarding the phytochemical composition and variability. In this research, the variability regarding the contents of capsaicinoids, carotenoids and vitamin A, were evaluated on 33 landraces chile 'Guajillo' from Zacatecas as well as on populations of chiles 'Puya', 'Pasilla', 'De Árbol'-type and one commercial hybrid, using the last genotype as reference of pungency and color. The data were performed using mean comparison test, Principal Components Analysis (PCA) and cluster analysis. We observed different trends for the metabolites content analyzed by comparing populations. The concentration of capsaicinoids ranged from 0.002 a 7.438 mg 100 g<sup>-1</sup> of dry weight where the dihydrocapsaicin explained more 50 %. High concentrations of total carotenoid (17.8 a 29 mg 100 g<sup>-1</sup> of DW) were identified, which were composited by eleven pigments, where the capsanthin was in major proportion. The provitaminic activity was low; however, the genotypes Pu606 type 'Puya' significantly outperformed to the genotypes remaining. Using the PCA and cluster analysis, we observed a heterogeneity regarding the composition of chile 'Guajillo', where these genotypes shown the higher total content of capsaicinoids due to the capsantin presented. Chile 'Guajillo' has a unique compositional pattern with individual variations which may correspond to the differential selection for attributes of flavor as well as genetic-environmental interaction.

**Key words:** Pungency, total carotenoids, 'Guajillo', diversity, composition.



### 2.3. Introducción

La domesticación de chile (*Capsicum annuum* L.) en México inició hace 7000 años (Kraft *et al.*, 2014), tiempo que permitió la diversificación amplia de varios tipos cultivados (Nicolai *et al.*, 2013). El aprovechamiento antropocéntrico de *Capsicum* no fue sólo como alimento, sino además fue utilizado como preservante, estimulante e ingrediente médico, lo que determinó su incorporación temprana en la dieta humana (Perry *et al.*, 2007). Al respecto, Meyer *et al.* (2012) sugieren que la selección de metabolitos secundarios relacionados con el sabor, pigmentación y toxicidad ha sido el principal criterio de domesticación, lo que indica que las preferencias organolépticas y sus beneficios para la salud humana se desarrollaron de manera conjunta.

De las especies cultivadas de chile, *C. annuum* L. posee la mayor importancia económica y de usos culinarios en el mundo (Kim *et al.*, 2014), principalmente en la gastronomía latinoamericana, asiática, mediterránea y africana (Guzman *et al.*, 2011). Sus características organolépticas contribuyen a la conservación de su diversidad morfológica, a través de sus usos y preferencias específicas en las que el contenido de capsaicinoides, carotenoides, flavonoides y otros metabolitos, son asociados a la diversidad de sabor, olor, picor y color (Portis *et al.*, 2006; Vera-Guzmán *et al.*, 2009). Adicionalmente, diversos estudios han identificado en *Capsicum* atributos benéficos para la salud humana, tales como analgésico, antiinflamatorio, antioxidante, antimicrobiano, carminativo e hipoglucémico (Peña-Álvarez *et al.*, 2009; Tundis *et al.*, 2011; Siddiqui *et al.*, 2013; Shahverdi *et al.*, 2013), además de capacidad anticancerígena (Thoennissen *et al.*, 2010) conferida por la capsantina (Díaz-Laviada *et al.*, 2014), y como protector ante enfermedades cardiovasculares, de anemia y diabetes (Bosland y Votava, 2012). Por otra parte, la búsqueda de alternativas saludables por la industria de alimentos y cosméticos ha incrementado los

estudios de contenido de carotenoides en chiles rojos, como una fuente natural de color (Arimboor *et al.*, 2015).

En México, el aprovechamiento agronómico de chile seco está basado principalmente en el cultivo de poblaciones nativas (Kraft *et al.*, 2010). Anualmente, en este país se producen 60,000 t ha<sup>-1</sup> de chile, que se obtienen de una superficie cultivada de 32,500 ha (FAOSTAT, 2013). El estado de Zacatecas aporta del 35 a 50 % a la producción nacional (Serna-Pérez *et al.*, 2011), principalmente de chile 'Guajillo' (Kraft *et al.*, 2010), por lo que gran parte de la diversidad genética de este tipo de chile podría estar representada a través del germoplasma colectado en dicho estado. El chile 'Guajillo' es importante componente de la cultura culinaria como condimento en una amplia variedad de platillos tradicionales, que consideran la combinación de sabor, coloración roja a la madurez y poco picor, atributos principales en el uso y selección de frutos que han sido poco estudiados. En general, la composición fitoquímica de la mayoría de tipos de chile ha sido escasamente analizada. Algunos estudios son los desarrollados en variedades nativas mexicanas de *C. annuum* (tipos 'De Agua', 'Costeño', 'Tabaqueto', 'Tusta' y 'Piquín') y *C. pubescens* ('Manzano') procedentes de Puebla y Oaxaca (Morán-Buñuelos *et al.*, 2008; Vera-Guzmán *et al.*, 2011), algunos de ellos directamente relacionados con aspectos fitoquímicos (Collera-Zúñiga *et al.*, 2005; Hernández-Ortega *et al.*, 2012; González-Zamora *et al.*, 2013; Orellana-Escobedo *et al.*, 2013), que mostraron amplia diversidad de la composición fitoquímica entre las variedades; sin embargo, se requiere de estudios adicionales de los compuestos químicos de fruto que permitan conocer la variabilidad de las poblaciones nativas de chile 'Guajillo' y así crear estrategias eficientes de aprovechamiento y conservación de este germoplasma. Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue valorar la heterogeneidad fitoquímica a través del análisis de

capsaicinoides, carotenoides y vitamina A presente en poblaciones de chile 'Guajillo' y otros tipos poblacionales utilizados como referentes de picor y color producidos en Zacatecas.

## **2.4. Materiales y métodos**

### **Material vegetal**

Se estudiaron 33 poblaciones de chile 'Guajillo' procedentes de Zacatecas, Durango y Puebla, y se incluyeron como referencia algunas poblaciones a chiles tipo 'Puya' (3), 'Pasilla' (2) y, 'De Árbol' (1), además del híbrido Peralta tipo 'Guajillo'.

### **Diseño, unidad experimental y condiciones del cultivo**

El cultivo se estableció en el ciclo Primavera-Verano de 2014. Plántulas de 45 días de edad, fueron trasplantadas en la localidad de San José el Saladillo, Pánfilo Natera, Zacatecas (22°40' N y 102°07' E, altitud de 2100 msnm), con clima semi-árido templado (Bs1kw). El experimento fue establecido en un diseño bloques al azar con dos repeticiones. La unidad experimental constó de 40 plantas distribuidas en dos surcos de 4 m de largo y 0.76 m de ancho, con una densidad de población de 52,632 plantas ha<sup>-1</sup>. La fertilización fue con la fórmula 140-80-16 en la primera escarda, 80-00-50 en floración y, 60-00-50 en la formación de fruto.

### **Manejo post cosecha**

Se cosechó un fruto completamente rojo de la segunda bifurcación por planta, para obtener una muestra compuesta a partir de 10 plantas por unidad experimental. Las muestras compuestas se almacenaron en bolsas de papel y se deshidrataron en estufa a 35 ± 2 °C por un período de 7 a 14 días, tiempo que varió respecto al tamaño y grosor de pericarpio del fruto. Posteriormente, en una licuadora de serie industrial Oster® se molieron únicamente pericarpios y placenta de cada

población, seguido de una pulverización fina con un molino Krups GX4100®. Los análisis químicos se realizaron con la muestra de tamaño de partícula >0.1 y <0.25 mm.

## **Métodos analíticos**

### **Análisis de capsaicinoides (CAPs)**

La extracción, separación y cuantificación de CAPs se realizó siguiendo el método de Collins *et al.* (1995), en un aparato de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Waters 996, modelo Alliance equipado con la columna Eclipse XDB-C18 4.6 × 150 mm, 3.5 μm de resolución rápida y provisto con un detector de fluorescencia. Los CAPs se identificaron a través de los tiempos de retención de los estándares comerciales de capsaicina (97%) y dihidrocapsaicina (90%) de Sigma-Aldrich, con los que además se calibró el equipo a partir de las curvas obtenidas de 500 a 0.5 ppm de cada estándar ( $r^2= 0.994$  y  $0.996$ , respectivamente). Se inyectaron 15 μL de cada muestra por triplicado. Una parte por millón (ppm) de capsaicina tiene un picor de 15 unidades Scoville (Wahyuni *et al.*, 2013), el contenido de capsaicinoides fue convertido a unidades de picor Scoville = [Capsaicina (ppm) + dihidrocapsaicina (ppm)] × 16.1, de acuerdo con Topuz y Ozdemir (2007).

### **Análisis de Carotenoides**

Para la extracción de carotenoides se adicionaron 2.5 mL de hidróxido de potasio-metanólico 2 M a 50 mg de muestra, que se incubaron a 50 °C por 30 min, con agitación cada 10 min. Posteriormente se agregaron 500 μL de ácido acético 1 M y 500 μL de metil-t-butil-eter, que fueron incorporados suavemente durante 3 min. Se transfirió 1 mL del extracto a tubos eppendorf para centrifugar a 13,000 rpm durante 5 min, se tomaron 50 μL de cada muestra, que fueron diluidos a 16X en cloroformo para la valoración de su absorbancia a 450 nm en el espectrómetro de UV/vis.

Se inyectó una replica por muestra de 50 µL de sobrenadante al HPLC equipado con la columna de carotenoides YMC 250 × 4.6 mm, 5 µm de tamaño de partícula y un fotodiodo detector que colectó absorbancias a 450 nm. El gradiente lineal consistió de metanol:metil-t-butil-eter:agua (81:15:04 por volumen) para el solvente A y metanol:metil-t-butil-eter:agua (06:90:04 por volumen) del solvente B. Cada muestra corrió a un flujo de 2 mL min<sup>-1</sup> a 25 °C. Las curvas de calibración se generaron a 450 nm con la referencia de estándares comerciales de Sigma-Aldrich de violaxantina, anteraxantina, capsantina, capsorrubina, β-criptoxantina, zeaxantina y β-caroteno. El tiempo de retención de los estándares, el espectro de absorción UV/vis y la curva de calibración de β caroteno ( $y = 0.0033x + 0.0646$ ,  $r^2 = 0.9992$ ) obtenida de un rango de concentración de 19.5 a 625 ppm permitieron la identificación y cuantificación de los carotenoides. Las concentraciones de capsantina y capsorrubina fueron sumadas para obtener la fracción roja, mientras que la suma de zeaxantina, anteraxantina, β-criptoxantina, violaxantina y β-caroteno determinó a la fracción amarilla.

### **Contenido de Vitamina A**

La vitamina A de cada genotipo se determinó en equivalentes de actividad de retinol (RAE, por sus siglas en inglés), a través de la conversión de factores ( $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno}/12 + \mu\text{g } \beta\text{-criptoxantina}/24$ ) de acuerdo con Topuz y Ozdemir (2007).

### **Análisis estadístico**

Con la información de las 18 características de composición se evaluó la variación fitoquímica entre las poblaciones analizadas a través de comparación de medias aritméticas (Tukey  $p \leq 0.05$ ). Se realizó el Análisis de Componentes Principales (ACP) y se graficó la distribución poblacional de manera tridimensional con los tres primeros CP. Las relaciones de similitud entre

las 40 poblaciones se establecieron a través de un análisis de conglomerados, en el que las distancias euclidianas se usaron como coeficientes de similitud. El método de medias aritméticas no ponderadas (UPGMA) se utilizó para realizar la agrupación jerárquica. Los análisis se realizaron mediante el paquete SAS V.9.4 (SAS Institute, 2011) y NTSYS® (Rohlf, 2000).

## **2.5. Resultados y discusión**

### **Contenido de capsaicinoides**

A través de la comparación de medias se observó un comportamiento diferencial en la producción de capsaicinoides. Los valores obtenidos mostraron diversidad en el contenido individual y total de capsaicinoides (CAPs) y picor entre las poblaciones analizadas (Cuadro 2.1). La capsaicina fue acumulada en un intervalo de 0.001 a 2.232 mg 100g<sup>-1</sup> de peso seco (PS), valores que se presentaron de manera siguiente: chile 'De Árbol' > 'Puya' > 'Guajillo' > 'Pasilla'. La dihidrocapsaicina predominó de 50 a 80 % del total de CAPs en la mayor parte de los chiles evaluados y sus contenidos se presentaron de 0.001 a 5.206 mg 100 g<sup>-1</sup>. La suma de capsaicina y dihidrocapsaicina expresó el contenido y porcentaje total de CAPs.

La colecta de chile 'De Árbol' mostró la mayor cantidad de CAPs totales (7.437 mg 100 g<sup>-1</sup>) en el que la capsaicina aportó sólo 30%. Las poblaciones tipo 'Guajillo', procedentes de Durango (G734 y G735) y Zacatecas (G742, G776 y G796) junto al híbrido y Pu613 no presentaron contenidos semejantes de capsaicina, su variación se presentó desde 0.169 a 0.468 mg 100 g<sup>-1</sup>, con porcentaje promedio de 31.8 % del total de CAPs para capsaicina y 68.2 % de dihidrocapsaicina.

**Cuadro 2.1. Contenido de capsaicinoides de poblaciones nativas y del híbrido de *C. annuum* L.**

Población	Capsaicina (mg 100 g <sup>-1</sup> de PS)		Dihidrocapsaicina (mg 100 g <sup>-1</sup> )		Relación C:DIH	CAPs Totales (mg 100 g <sup>-1</sup> )		SHU	
A <sup>Z</sup>	2.232	a <sup>¶</sup> ± 0.097	5.206	a ± 0.209	1 : 2.3	7.438	a ± 0.305	12082.9	a ± 481.901
Pu606 <sup>Z</sup>	1.176	b ± 0.122	2.997	b ± 0.292	1 : 2.6	4.172	b ± 0.414	6760.3	b ± 666.756
G731 <sup>D</sup>	0.983	b ± 0.014	2.200	c ± 0.020	1 : 2.2	3.183	bc ± 0.025	5169.6	b ± 29.744
Pu611 <sup>Z</sup>	0.728	c ± 0.019	2.135	c ± 0.039	1 : 2.9	2.864	c ± 0.057	4646.5	c ± 99.416
G735 <sup>D</sup>	0.468	d ± 0.009	1.030	d ± 0.022	1 : 2.2	1.498	d ± 0.028	2436.4	d ± 44.539
G734 <sup>D</sup>	0.400	d ± 0.012	0.839	d ± 0.031	1 : 2.1	1.238	d ± 0.036	2001.7	d ± 57.309
H	0.387	e ± 0.010	0.651	d ± 0.032	1 : 1.7	1.038	d ± 0.041	1687.7	d ± 60.362
Pu613 <sup>Z</sup>	0.314	e ± 0.011	0.900	d ± 0.025	1 : 2.9	1.215	d ± 0.033	1968.6	d ± 52.702
G776 <sup>Z</sup>	0.208	e ± 0.007	0.545	d ± 0.007	1 : 2.6	0.753	d ± 0.012	1223.4	d ± 20.985
G796 <sup>Z</sup>	0.170	e ± 0.012	0.259	e ± 0.013	1 : 1.5	0.428	d ± 0.025	693.4	d ± 39.915
G742 <sup>Z</sup>	0.169	e ± 0.012	0.420	d ± 0.047	1 : 2.6	0.589	d ± 0.037	952.1	d ± 60.126
G795 <sup>Z</sup>	0.102	f ± 0.005	0.195	e ± 0.014	1 : 1.9	0.297	e ± 0.019	482.6	e ± 31.054
G740 <sup>Z</sup>	0.101	f ± 0.006	0.427	d ± 0.023	1 : 4.3	0.527	d ± 0.028	858.4	d ± 46.343
G702 <sup>Z</sup>	0.095	f ± 0.002	0.254	e ± 0.013	1 : 2.7	0.349	e ± 0.013	563.9	e ± 20.548
G732 <sup>D</sup>	0.082	f ± 0.007	0.184	e ± 0.007	1 : 2.3	0.265	e ± 0.011	430.9	e ± 18.099
G769 <sup>Z</sup>	0.070	f ± 0.007	0.245	e ± 0.023	1 : 3.5	0.315	e ± 0.029	510.5	e ± 47.566
G767 <sup>Z</sup>	0.070	f ± 0.003	0.138	e ± 0.009	1 : 2.0	0.207	e ± 0.012	334.5	e ± 18.796
G777 <sup>Z</sup>	0.066	g ± 0.001	0.215	e ± 0.010	1 : 3.3	0.280	e ± 0.010	453.8	e ± 16.316
G716 <sup>Z</sup>	0.058	g ± 0.002	0.129	f ± 0.010	1 : 2.2	0.187	e ± 0.011	304.8	e ± 17.967
G785 <sup>Z</sup>	0.055	g ± 0.001	0.137	e ± 0.010	1 : 2.5	0.192	e ± 0.010	311.1	e ± 16.763
G709 <sup>Z</sup>	0.054	h ± 0.001	0.212	e ± 0.007	1 : 3.9	0.266	e ± 0.007	429.7	e ± 12.254
G765 <sup>Z</sup>	0.052	h ± 0.000	0.193	e ± 0.004	1 : 3.7	0.245	e ± 0.004	400.1	e ± 5.616

Continúa hoja siguiente..

Población	Capsaicina		Dihidrocapsaicina		Relación C:DIH	CAPs Totales		SHU	
	(mg 100 g <sup>-1</sup> de PS)		(mg 100 g <sup>-1</sup> de PS)			(mg 100 g <sup>-1</sup> )			
G783 <sup>Z</sup>	0.052	h ± 0.002	0.135	f ± 0.011	1 : 2.6	0.187	e ± 0.010	302.4	e ± 16.474
G722 <sup>Z</sup>	0.051	h ± 0.002	0.133	f ± 0.007	1 : 2.7	0.184	e ± 0.006	298.7	e ± 9.926
G701 <sup>Z</sup>	0.047	h ± 0.002	0.167	e ± 0.013	1 : 3.5	0.214	e ± 0.014	347.6	e ± 22.520
G788 <sup>Z</sup>	0.045	h ± 0.001	0.120	f ± 0.002	1 : 2.7	0.165	e ± 0.002	266.5	e ± 3.870
G778 <sup>Z</sup>	0.043	h ± 0.001	0.123	f ± 0.006	1 : 2.9	0.167	e ± 0.007	271.4	e ± 11.205
G753 <sup>Z</sup>	0.033	h ± 0.001	0.104	f ± 0.007	1 : 3.2	0.137	f ± 0.008	221.3	f ± 12.576
Pa624 <sup>Z</sup>	0.017	h ± 0.001	0.057	g ± 0.003	1 : 3.3	0.074	g ± 0.003	122.2	f ± 4.693
G715 <sup>Z</sup>	0.014	h ± 0.001	0.055	g ± 0.008	1 : 4.2	0.069	g ± 0.007	111.2	f ± 11.552
G739 <sup>Z</sup>	0.006	h ± 0.000	0.027	g ± 0.002	1 : 4.3	0.034	g ± 0.002	54.8	f ± 3.194
G711 <sup>Z</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000
G717 <sup>Z</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000
G721 <sup>P</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000
G741 <sup>Z</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000
G774 <sup>Z</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000
G781 <sup>Z</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000
G786 <sup>Z</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000
G798 <sup>Z</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000
Pa622 <sup>Z</sup>	0.001	h ± 0.000	0.001	g ± 0.000	1 : 1	0.002	g ± 0.000	3.2	f ± 0.000

<sup>†</sup>Promedio de capsaicinoide (mg 100 g<sup>-1</sup> de peso seco). Cada valor es el promedio de dos muestras, con tres repeticiones ± es desviación estándar de la media. Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (Tukey, p≤0.05). C= Capsaicina; DIH= Dihidrocapsaicina; CAPs= Capsaicinoides; SHU= Unidades de picor Scoville. Las primeras letras de las poblaciones identifican el tipo de chile: A= 'De Árbol', G= 'Guajillo', Pu='Puya', Pa='Pasilla', H= Híbrido. La letra posterior al número indica el estado de procedencia: <sup>Z</sup>= Zacatecas; <sup>D</sup>= Durango; <sup>P</sup>=Puebla.



En tanto que la mayor proporción en contenido de dihidrocapsaicina se presentó en la población Pu613 (0.900 mg 100 g<sup>-1</sup>) que correspondió al 74.1 % del contenido total. Con base en la relación de capsaicina:dihidrocapsaicina (C:DIH) se observó que la mitad de las poblaciones analizadas presentó altos valores de dihidrocapsaicina, que aportaron 72.1 a 80.9 % de contenido total de CAPs. El híbrido y la población G796 presentaron menor proporción, y sólo superaron con 1.7 y 1.5 veces más el contenido de capsaicina. Únicamente, ocho poblaciones tipo 'Guajillo' y Pa622 mostraron una relación 1:1 y el menor valor en CAPs totales (0.002 mg 100 g<sup>-1</sup>).

La relación C:DIH en Chile 'De Árbol' se presentó en una proporción de 1:2.3. La capsaicina no presentó la mayor contribución, contrario a las relaciones 1:1.2 y 1:0.5 determinadas por González-Zamora *et al.* (2013) y Orellana-Escobedo *et al.* (2013). Comportamiento similar fue observado en poblaciones tipo 'Puya', donde capsaicina fue 2.8 veces menor que dihidrocapsaicina. Para las poblaciones de 'Guajillo' la relación C:DIH varió entre 1.5 a 4.2 veces más la presencia de dihidrocapsaicina con respecto a capsantina; en estos valores algunas poblaciones mostraron una proporción similar al valor reportado en cultivares comerciales, el cual fue de 1:3.6 (Orellana-Escobedo *et al.*, 2013). Las poblaciones de 'Pasilla' presentaron el 81 y 50% de dihidrocapsaicina en el contenido total de CAPs, cuya proporción fue de 3.3:1 y 1:1.

El contenido de capsaicina se presenta de manera usual en mayor abundancia (Barbero *et al.*, 2014), sin embargo, se encontró que para la mayor parte de los tipos de Chile analizados los contenidos de dihidrocapsaicina fueron superiores a capsaicina. De acuerdo con Garcés-Claver *et al.* (2006) y González-Zamora *et al.* (2013), la mayor concentración de dihidrocapsaicina corresponde a la variedad y las condiciones ambientales donde se desarrolla el cultivo. Comúnmente, el sabor de las variedades nativas tipo 'Guajillo' y 'Pasilla' es asociado a poco picor,

contrario a 'Puya' y 'De Árbol', que son identificados por su mayor picor y utilizados para ciertos guisos; éstos generalmente son cocinados en estado inmaduro (verde).

Los genotipos que presentaron alta cantidad de capsaicina y dihidrocapsaicina mostraron, por lo tanto, los valores más altos de unidades de picor Scoville (SHU), desde 12,082.9 hasta 3.2 SHU. El valor máximo de picor lo presentó el chile 'De Árbol', seguido de Pu606 con 6,760.3 SHU y de la población G731 con 5,169.6 SHU, valores que correspondieron a picor medio. El resto de las poblaciones analizadas mostraron picor leve, con variación de 4,646.5 a 3.2 SHU, donde destacó la población Pu611 sobre las colectas tipo 'Pasilla' (Pa624 y Pa622). Las variedades nativas de los tipos 'Guajillo' y 'Pasilla' fueron poco picantes, lo que se mostró como característica atípica del género, pero conocida de manera empírica en estos tipos.

La biosíntesis y acumulación de CAPs son determinados genéticamente y de manera ambiental durante el desarrollo del fruto (Barbero *et al.*, 2014). Los chiles analizados expresaron de manera general poco picor en su región de producción, que podría asociarse a su alta adaptación; los compuestos secundarios juegan un papel importante en la adaptación de las plantas a su medio ambiente y en la superación de las condiciones de estrés (Akula y Ravishankar, 2011). Por lo que su baja producción pudo corresponder a ventajas en su desarrollo lo que hizo innecesario la producción alta de capsaicinoides ante factores bióticos y abióticos adversos. Al respecto, González-Zamora *et al.* (2013) encontraron una relación entre el aumento de la concentración de picor y temperaturas elevadas; la síntesis de capsaicinoides es mayor en condiciones de estrés. Cada tipo de chile mostró un comportamiento diferencial en el contenido de capsaicinoides, patrón composicional asociado a la dirección de atributos de picor preferentes a la región geográfica donde estos chiles han sido cultivados y adaptados, ya que 'Guajillo' y 'Pasilla' son incorporados a guisos principalmente en forma madura y deshidratada, contrario a 'Puya' y 'De Árbol' que son

consumidos además en estado inmaduro y fresco, por lo que la forma de uso ha definido de manera principal las características de sabor propias de cada tipo de chile. De manera general, las poblaciones analizadas concentraron mayormente dihidrocapsaicina que capsaicina con un contenido bajo de ambos capsaicinoides. Esta característica se observó de manera principal en chile 'Guajillo', atributo que se asocia al sabor y forma de consumo para los que han sido cultivados y seleccionados. Aunque los valores de capsaicinoides y picor mostraron cierto parecido entre las poblaciones tipo 'Guajillo' se identificaron variantes particulares. De acuerdo con Meckelmann *et al.* (2015a) el genotipo fue el factor de mayor influencia sobre el contenido de capsaicinoides. La producción de capsaicinoides y grado de picor de los genotipos de chile 'Guajillo' fue bajo y parece mantenerse estable y podría asociarse a la adaptabilidad de este germoplasma nativo a su región de producción. La estabilidad de producción de metabolitos en maíz a través de localidades ha sugerido que el acervo genético influye más que el ambiente sobre la variación metabólica (Röhig *et al.*, 2009); sin embargo, estudios posteriores a través de localidades podrían sustentar con mayor claridad la baja producción de capsaicinoides debida a la baja influencia ambiental sobre el germoplasma de chile 'Guajillo'.

### **Contenido y perfil de carotenoides**

El análisis de comparación de medias mostró diferencias entre las poblaciones analizadas; el contenido total de carotenoides se presentó en concentraciones de 29 a 17.8 mg 100 g<sup>-1</sup> de peso seco de fruto (Cuadro 2.2). La población G716 tipo 'Guajillo' mostró el mayor contenido de carotenoides respecto al resto de las poblaciones. De manera general, las poblaciones nativas superaron al híbrido. Los valores obtenidos fueron superiores a los reportados por Collera-Zuñiga *et al* (2005) y Hernández-Ortega *et al.* (2012) en chile 'Guajillo', lo que puede ser asociado a la variación genética y al ambiente particular de evaluación en el que de manera importante la

intensidad lumínica incide en la biosíntesis y contenido de carotenoides (Lee *et al.*, 2005). Cuando se incrementa la intensidad lumínica la concentración de los pigmentos tiende a disminuir (Keyhaninejad *et al.*, 2012). Las poblaciones analizadas no mostraron este efecto negativo ya que su crecimiento en campo y en su región de producción parecieron dar condiciones óptimas para la producción alta de carotenoides; por otra parte, la selección de chiles ‘Guajillo’ además, de la leve picor, ha incorporado atributo de color conferido por el alto contenido de carotenoides.

Con la separación obtenida a través del HPLC se identificaron once carotenoides que en conjunto aportaron más del 95 % de la composición a través de todos los morfotipos analizados (Cuadro 2.2). La capsantina fue el mayor pigmento identificado en todas las poblaciones y aportó en promedio 37 % al contenido total de carotenoides, valor similar al identificado en variedades de chile dulce de la misma especie (Deli *et al.*, 2001) y que de acuerdo con Zaki *et al.*, (2013) es el principal carotenoide de los chiles rojos. Su acumulación predomina hasta en 60 % del total de carotenoides en frutos rojos maduros (Topuz *et al.*, 2011) y junto a capsorrubina incrementan su contenido de manera proporcional conforme a la madurez (Li *et al.*, 2013), por lo que son determinantes en la concentración y composición de pigmentos (Rodríguez-Burruezo *et al.*, 2010; Giuffrida *et al.*, 2013). Por otra parte, Collera-Zúñiga *et al.* (2005) determinaron valores de capsantina tres veces inferiores al obtenido en poblaciones tipo ‘Guajillo’, tal disminución pudo estar asociada con el tiempo de almacenamiento o a las condiciones de cultivo. Aunque la concentración de carotenoides fue similar para todos los tipos de chile analizados se observaron algunas diferencias particulares.

**Cuadro 2.2. Carotenoides totales e individuales en poblaciones de *C. annuum* L. identificados por HPLC.**

Pob	Carotenoides totales (mg 100 g <sup>-1</sup> )	CN (%)	TZ (%)	Cpn (%)	CY (%)	AT (%)	β-CX (%)	V (%)	α-C (%)	N (%)	β-C (%)	α-CX (%)
G716 <sup>Z</sup>	29.0 a ± 1.58	37.1 a	14.2 c	16.8 a	13.2 c	8.5 a	3.2 a	2.5 a	1.3 a	0.6 a	1.1 b	0.6 b
G739 <sup>Z</sup>	28.3 a ± 0.37	35.6 b	17.5 a	16.9 a	12.5 d	8.4 a	2.6 b	2.5 a	1.1 a	0.6 a	1.1 b	0.5 b
G774 <sup>Z</sup>	27.5 a ± 1.03	37.7 a	14.7 c	16.7 a	13.0 c	8.3 a	2.8 a	2.5 a	1.2 a	0.6 a	1.1 b	0.7 a
G781 <sup>Z</sup>	27.2 a ± 1.11	36.6 b	15.6 b	16.9 a	13.2 c	8.3 a	3.0 a	2.5 a	1.2 a	0.5 a	1.1 b	0.5 b
Pu613 <sup>Z</sup>	26.4 b ± 1.28	37.7 a	14.9 b	17.4 a	12.1 d	8.8 a	2.8 a	2.7 a	1.1 a	0.6 a	1.0 b	0.3 b
G753 <sup>Z</sup>	26.3 b ± 0.29	37.8 a	15.0 b	15.9 a	12.9 c	8.5 a	2.9 a	2.6 a	1.3 a	0.3 a	1.3 b	0.2 b
G785 <sup>Z</sup>	26.0 b ± 0.28	37.5 a	14.5 c	17.1 a	12.5 d	8.6 a	3.0 a	2.5 a	1.2 a	0.6 a	1.2 b	0.6 b
G721 <sup>P</sup>	25.7 b ± 1.80	36.9 b	19.8 a	11.9 b	14.6 a	8.1 a	3.5 a	2.5 a	0.6 c	0.5 a	0.8 b	0.4 b
Pa622 <sup>Z</sup>	25.3 b ± 1.64	41.4 a	18.9 a	11.8 b	11.4 d	6.5 a	4.0 a	2.3 a	0.4 d	0.5 a	1.3 b	0.7 a
G711 <sup>Z</sup>	24.6 b ± 0.68	36.3 b	14.9 b	16.9 a	13.1 c	8.2 a	3.5 a	2.5 a	1.6 a	0.5 a	1.3 b	0.4 b
G709 <sup>Z</sup>	24.3 b ± 1.34	38.6 a	14.0 c	13.0 b	12.4 d	8.1 a	3.5 a	2.4 a	1.5 a	0.3 a	1.4 b	0.5 b
Pa624 <sup>Z</sup>	23.9 b ± 0.79	37.0 a	15.1 b	16.5 a	10.9 e	8.7 a	3.2 a	2.6 a	1.3 a	0.0 b	1.1 b	1.6 a
G735 <sup>D</sup>	23.8 b ± 3.33	36.1 b	17.7 a	16.3 a	12.8 c	8.1 a	3.1 a	2.4 a	1.0 b	0.5 a	0.8 b	0.5 b
G778 <sup>Z</sup>	23.8 b ± 0.70	37.3 a	14.8 c	16.3 a	12.9 c	8.4 a	3.4 a	2.5 a	1.4 a	0.4 a	1.5 b	0.2 b
G717 <sup>Z</sup>	23.5 b ± 1.21	36.6 b	15.9 a	16.6 a	12.8 c	8.4 a	3.5 a	2.5 a	1.1 a	0.6 a	1.0 b	0.4 b
G734 <sup>D</sup>	23.3 b ± 6.07	35.2 c	17.1 a	16.5 a	12.1 d	8.5 a	3.5 a	2.5 a	1.1 b	0.5 a	1.3 b	0.3 b
G715 <sup>Z</sup>	23.2 b ± 2.01	36.0 b	15.8 a	16.6 a	13.0 c	8.3 a	3.6 a	2.4 a	1.2 a	0.5 a	1.2 b	0.4 b
Pu606 <sup>Z</sup>	23.0 b ± 1.28	34.5 d	14.1 c	15.8 a	12.2 d	7.7 a	2.9 a	2.2 a	2.0 a	0.5 a	6.7 a	0.6 b
G765 <sup>Z</sup>	22.7 b ± 0.94	36.6 b	15.3 b	12.6 b	17.5 a	8.3 a	3.0 a	2.6 a	1.2 a	0.6 a	1.3 b	0.3 b
G796 <sup>Z</sup>	22.7 b ± 0.71	37.7 a	15.7 b	16.8 a	12.7 c	8.4 a	3.0 a	2.4 a	1.0 b	0.5 a	0.8 b	0.4 b
G788 <sup>Z</sup>	22.7 b ± 0.06	36.1 b	15.3 b	17.1 a	12.6 d	8.6 a	3.3 a	2.6 a	1.3 a	0.5 a	1.3 b	0.6 b

Continúa hoja siguiente...

Pob	Carotenoides totales (mg 100 g <sup>-1</sup> )	CN (%)	TZ (%)	Cpn (%)	CY (%)	AT (%)	β-CX (%)	V (%)	α-C (%)	N (%)	β-C (%)	α-CX (%)
G777 <sup>Z</sup>	22.5 b ± 2.07	37.5 a	14.7 c	17.2 a	11.8 d	8.7 a	2.8 a	2.6 a	1.2 a	0.6 a	1.1 b	1.2 a
G741 <sup>Z</sup>	22.4 b ± 1.41	36.7 b	14.8 c	17.4 a	13.5 b	8.0 a	3.1 a	2.4 a	1.2 a	0.6 a	1.1 b	0.6 b
G740 <sup>Z</sup>	22.2 b ± 0.13	37.7 a	15.2 b	16.8 a	12.5 d	8.6 a	2.9 a	2.5 a	1.1 a	0.6 a	1.0 b	0.3 b
G702 <sup>Z</sup>	22.0 b ± 0.31	37.4 a	14.9 b	16.1 a	12.5 d	8.7 a	2.8 a	2.7 a	1.0 b	0.6 a	0.7 b	0.6 b
G798 <sup>Z</sup>	21.9 b ± 1.22	38.4 a	13.8 c	16.3 a	12.9 c	8.6 a	3.1 a	2.6 a	1.1 a	0.5 a	1.3 b	0.6 b
G776 <sup>Z</sup>	21.6 b ± 0.87	36.6 b	15.4 b	16.5 a	13.3 c	8.2 a	3.1 a	2.4 a	1.2 a	0.4 a	1.3 b	0.6 b
G722 <sup>Z</sup>	21.5 b ± 0.95	40.1 a	14.2 c	12.4 b	16.0 a	8.6 a	2.7 a	2.7 a	1.0 b	0.3 a	1.1 b	0.1 c
G786 <sup>Z</sup>	21.5 b ± 0.67	36.3 b	15.8 a	17.3 a	12.8 c	8.3 a	2.9 a	1.2 b	1.1 a	0.3 a	1.2 b	0.5 b
Pu611 <sup>Z</sup>	21.4 b ± 1.75	37.7 a	15.0 b	17.4 a	9.2 f	8.7 a	4.5 a	2.5 a	1.5 a	0.7 a	1.9 b	0.6 b
G732 <sup>D</sup>	21.3 b ± 0.92	37.0 a	14.8 c	17.3 a	13.1 c	8.7 a	2.8 a	2.6 a	1.1 a	0.6 a	1.0 b	0.0 c
G742 <sup>Z</sup>	21.2 b ± 0.79	37.9 a	14.8 c	16.1 a	12.9 c	8.6 a	3.0 a	2.6 a	1.2 a	0.6 a	1.2 b	0.3 b
G767 <sup>Z</sup>	21.0 b ± 1.28	37.9 a	14.5 c	13.1 b	16.8 a	8.4 a	3.0 a	2.4 a	1.2 a	0.4 a	1.3 b	0.2 b
A <sup>Z</sup>	20.5 b ± 0.50	39.2 a	15.3 b	16.9 a	12.6 d	8.1 a	2.3 b	2.5 a	0.9 b	0.6 a	0.9 b	0.1 c
G769 <sup>Z</sup>	20.1 b ± 1.07	36.8 b	15.4 b	16.4 a	12.9 c	8.4 a	3.3 a	2.5 a	1.3 a	0.3 a	1.1 b	0.3 b
G783 <sup>Z</sup>	20.1 b ± 0.53	37.0 a	14.8 c	17.8 a	13.1 c	8.2 a	2.6 b	2.6 a	1.2 a	0.6 a	1.1 b	0.2 b
G731 <sup>D</sup>	19.7 b ± 0.41	37.4 a	15.9 a	17.3 a	10.5 e	8.5 a	3.4 a	2.5 a	1.3 a	0.6 a	1.5 b	0.2 b
G701 <sup>Z</sup>	19.1 c ± 0.89	35.9 b	15.8 a	15.9 a	11.9 d	8.3 a	4.0 a	2.5 a	1.4 a	0.5 a	1.6 b	0.5 b
G795 <sup>Z</sup>	18.8 c ± 0.64	35.9 b	15.9 a	17.2 a	13.2 c	8.0 a	3.0 a	2.5 a	1.2 a	0.5 a	1.3 b	0.5 b
H	17.8 d ± 0.42	37.4 a	15.6 b	16.9 a	13.0 c	8.2 a	2.9 a	2.4 a	0.9 b	0.5 a	1.1 b	0.3 b

<sup>‡</sup>Promedio de carotenoides totales (mg 100 g<sup>-1</sup>). <sup>¶</sup>Porcentaje de cada carotenoide individual con relación al total de carotenoides. Los valores son promedios de dos muestras ± desviación estándar ( $n=2$ ). Valores con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Pob= Población. CN= Capsantina; TZ= Zeaxantina; Cpn= Capsorrubina; CY= Criptocapsina; AT= Antheraxantina; β-CX= β Criptoxantina; V= Violaxantina; α-C= α Caroteno; N=Neoxantina; β-C= β Caroteno; α-CX=α Criptoxantina. Las primeras letras de las poblaciones identifican el tipo de chile: A= 'De Árbol', G= 'Guajillo', Pu='Puya', Pa='Pasilla', H= Híbrido. La letra posterior al número indica el estado de procedencia: <sup>Z</sup>= Zacatecas; <sup>D</sup>= Durango; <sup>P</sup>=Puebla.

El porcentaje de capsantina varió entre 41.4 y 34.5%, valores en los que destacó la población tipo 'Pasilla' (Pa622) con 10,462  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ , seguido de G722 con 8,615.8  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ; de manera contraria Pu606 presentó el menor contenido (7,946  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ). El resto de la composición presentó en promedio 16% de capsorrubina, 15.4% de zeaxantina, 12.9% de Criptocapsina y 8.3% de anteraxantina, mientras que violaxantina se cuantificó en 2.4%,  $\beta$ -criptoxantina en 3.1% y  $\beta$ -caroteno en 1.3%.

En tanto que en menor proporción se identificó en menor proporción a:  $\alpha$  criptoxantina,  $\alpha$  caroteno y Neoxantina, con 1.3, 1.2 y 0.5%, respectivamente. Los valores obtenidos concuerdan con el patrón composicional reportado por Collera-Zúñiga *et al.* (2005), con excepción de  $\beta$  caroteno, cuyo contenido fue considerablemente mayor respecto a los valores obtenidos en 'Guajillo'; sin embargo, Suzuki *et al.* (2007) observaron en chiles rojos de *C. annuum* L. una relación inversa entre el contenido de  $\beta$  caroteno y capsantina (1:10), donde capsantina presentó del 40 a 60 % de la composición total de carotenoides. Este comportamiento fue observado en los cuatro tipos nativos de Chile analizados, que son rojos al madurar.

De manera general, la fracción roja representó 53 % del contenido total de carotenoides para todos los genotipos (Cuadro 2.3). La población de Chile 'De Árbol' presentó la mayor fracción roja (56 %) con respecto a la fracción amarilla (29.2 %), cuya relación fue 1:05. Las poblaciones de Chile 'Guajillo' mostraron 53.3 % de fracción roja, valor que fue 1.8 veces superior a la amarilla; entre estas poblaciones G702 destacó por su mayor fracción roja (54.8 %) que mostró un comportamiento contrario a G721 cuya población que presentó la mayor proporción de fracción amarilla (34.6 %) con respecto al porcentaje promedio del resto de las poblaciones de Chile 'Guajillo' (30.5 %).

**Cuadro 2.3. Proporción de fracción roja, fracción amarilla y contenido de vitamina A en poblaciones nativas e híbrido de *C. annuum* L.**

<b>Población</b>	<b>Fracción roja (%)</b>	<b>Fracción amarilla (%)</b>	<b>Vitamina A (µg RAE 100 g<sup>-1</sup>)</b>
De Árbol-Z	56.0 a ± 0.4054	29.2 c ± 0.5588	87.3 c ± 0.968
Pu613-Z	55.1 a ± 0.3156	30.1 c ± 0.3344	127.4 b ± 1.326
G702-Z	54.8 b ± 0.1068	29.7 c ± 0.0653	96.4 c ± 6.770
G777-Z	54.8 b ± 0.9448	29.8 c ± 1.2135	115.3 b ± 8.990
G783-Z	54.8 b ± 0.2207	29.3 c ± 0.3411	102.7 c ± 0.517
G731-D	54.8 b ± 1.7320	31.9 c ± 0.4818	127.4 b ± 13.163
Pa624-Z	54.7 b ± 0.5905	31.2 c ± 0.3121	130.4 b ± 6.270
G786-Z	54.7 b ± 1.0313	29.9 c ± 1.3876	113.3 b ± 6.553
G798-Z	54.7 b ± 0.7372	29.4 c ± 0.6482	123.2 b ± 17.030
G785-Z	54.5 b ± 0.8006	29.9 c ± 0.9324	143.8 b ± 18.761
G732-D	54.5 b ± 0.8996	29.9 c ± 0.6124	102.8 c ± 1.936
G740-Z	54.5 b ± 0.5836	30.3 c ± 0.4434	112.6 b ± 4.652
G796-Z	54.4 b ± 0.4504	30.4 c ± 1.1023	105.9 c ± 17.832
G774-Z	54.4 b ± 1.0237	29.3 c ± 1.1109	141.4 b ± 19.389
Híbrido	54.4 b ± 0.0069	30.3 c ± 0.3398	90.4 c ± 9.246
G742-Z	54.1 c ± 0.0697	30.3 c ± 0.1614	116.2 b ± 0.705
Pu611-Z	54.1 c ± 0.0420	32.2 c ± 2.3375	191.7 b ± 3.028
G741-Z	54.0 c ± 0.5682	29.4 c ± 0.5547	122.2 b ± 20.343
G716-Z	53.9 c ± 0.2486	29.6 c ± 0.0256	165.2 b ± 23.024
G753-Z	53.8 c ± 0.9931	30.3 c ± 1.2320	150.4 b ± 3.304
G778-Z	53.6 c ± 0.2192	30.6 c ± 0.1115	155.6 b ± 20.038
G769-Z	53.6 c ± 0.0246	30.8 c ± 0.2976	114.9 b ± 4.679
G781-Z	53.6 c ± 0.5448	30.3 c ± 0.0365	144.1 b ± 14.760
G709-Z	53.5 c ± 0.7309	30.5 c ± 1.0132	155.8 b ± 10.012
Pa622-Z	53.3 c ± 0.1900	33.1 c ± 0.3844	147.1 b ± 0.633
G788-Z	53.2 c ± 0.4801	31.0 c ± 0.2945	134.7 b ± 2.984
G711-Z	53.2 c ± 0.1647	30.4 c ± 0.2159	157.9 b ± 7.154

Continúa hoja siguiente...



Población	Vitamina A		
	Fracción roja (%)	Fracción amarilla (%)	( $\mu\text{g RAE } 100 \text{ g}^{-1}$ )
G776-Z	53.2 c $\pm$ 0.9399	30.5 c $\pm$ 0.7875	123.5 b $\pm$ 19.983
G717-Z	53.1 c $\pm$ 1.1170	31.3 c $\pm$ 1.5584	129.5 b $\pm$ 26.890
G795-Z	53.1 c $\pm$ 0.7964	30.8 c $\pm$ 0.6938	106.1 c $\pm$ 3.570
G715-Z	52.7 c $\pm$ 0.2679	31.3 c $\pm$ 0.5844	137.3 b $\pm$ 7.016
G735-D	52.6 c $\pm$ 1.6796	31.8 c $\pm$ 1.7792	109.5 b $\pm$ 1.629
G739-Z	52.5 c $\pm$ 2.5441	32.1 c $\pm$ 2.0949	137.7 b $\pm$ 6.785
G722-Z	52.5 c $\pm$ 0.1260	29.3 c $\pm$ 0.4643	105.9 c $\pm$ 23.805
G701-Z	51.8 c $\pm$ 0.6678	32.2 c $\pm$ 0.3084	135.8 b $\pm$ 13.078
G734-D	51.6 c $\pm$ 0.1382	32.9 c $\pm$ 0.3619	141.0 b $\pm$ 43.994
G767-Z	51.0 c $\pm$ 0.3982	29.6 c $\pm$ 0.2368	118.6 b $\pm$ 8.511
Pu606-Z	49.8 c $\pm$ 0.4613	34.3 b $\pm$ 0.0607	387.9 a $\pm$ 8.108
G765-Z	49.2 c $\pm$ 0.3042	30.5 c $\pm$ 0.0249	128.5 b $\pm$ 3.969
G721-P	48.8 c $\pm$ 0.0600	34.6 a $\pm$ 0.0581	119.2 b $\pm$ 0.271

Los valores son promedios de dos muestras  $\pm$  desviación estándar. Letras diferentes indican diferencia significativa (Tukey,  $p \leq 0.05$ ). Actividad equivalente de retinol (RAE) =  $\mu\text{g } \beta$  Caroteno/12  $\mu\text{g } \beta$  Criptoxantina/24. Las primeras letras de las poblaciones identifican el tipo de chile: G= 'Guajillo', Pu='Puya', Pa='Pasilla'.

La colecta Pu606 mostró valores semejantes de relación de color con G721 (1:0.7) y se distinguió de Pu611 y Pu613 que mostraron 1:0.6 en la relación. En el chile tipo 'Pasilla', la fracción amarilla fue 1.6 veces menor que la fracción roja, la cual contribuyó con 54 % al contenido total. A pesar de que Pa622 presentó la más alta concentración de capsantina, no fue la población con mayor fracción roja, debido a que la concentración de capsorrubina fue menor. Todos los chiles analizados mostraron la fracción roja en mayor proporción.

Únicamente en las poblaciones G721 y Pu606 la fracción amarilla fue mayor respecto al resto de los genotipos. La capacidad de síntesis de carotenoides individuales fue diferente

entre las poblaciones, de manera particular la población Pu606 mostró el mayor contenido de zeaxantina, anteraxantina,  $\beta$ -criptoxantina, violaxantina y,  $\beta$ -caroteno, lo que determinó su amplia fracción amarilla.

Se identificaron once carotenoides que fueron comunes en los cuatro tipos de chile analizados; sin embargo, las poblaciones de 'Guajillo' presentaron el mayor contenido de pigmentos, dónde se distinguieron algunos genotipos sobresalientes. Las poblaciones produjeron la mayor cantidad de carotenoides y superaron al híbrido. Los carotenoides confieren el color característico de cada chile (De Masi *et al.*, 2007). Es un atributo organoléptico altamente relacionado con el criterio de selección para el consumo (Madosa *et al.*, 2009), que junto con el contenido de los capsaicinoides son las variables de mayor importancia para el aprovechamiento de los frutos rojos de *Capsicum* (Kim *et al.*, 2002).

La coloración roja de chile 'Guajillo' junto con sus características organolépticas han incidido en su uso, conservación, y selección que a su vez han determinado un patrón propio de composición. Por otra parte, los altos valores de capsantina y capsorrubina, que determinan la pigmentación roja de chile 'Guajillo', permiten proponer su aprovechamiento, inclusive como recurso industrial y fuente natural de color.

### **Vitamina A**

Los carotenoides  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno y  $\beta$ -criptoxantina biosintetizados en *Capsicum* (Guzman *et al.*, 2010), que tienen actividad provitamínica, son convertidos en retinol por los mamíferos (Burns *et al.*, 2003). La aportación de  $\beta$ -criptoxantina al total de carotenoides fue tres veces superior, tanto para  $\alpha$  como para  $\beta$ -caroteno en todos los tipos de chile analizados (Cuadro 2.2), contrario a lo reportado por Rodríguez-Burruezo *et al.* (2010), que identificaron

a  $\beta$ -caroteno como principal carotenoide provitamínico. Esta diferencia puede estar asociada al tipo de chile, como principal factor en la capacidad de síntesis de cada pigmento.

Se observaron contenidos diferenciales para vitamina A (Cuadro 2.3), en particular, los genotipos Pu606 y Pu611 presentaron las concentraciones más altas de carotenoides provitamínicos, cuyos valores correspondieron con mayor capacidad provitamínica A, en la que destacó la población Pu606 con 174.9  $\mu\text{g RAE } 100 \text{ g}^{-1}$ , que de manera particular presentó el mayor contenido de  $\beta$  caroteno (6.7%), seguida de Pu611 que registró 78.3  $\mu\text{g RAE } 100 \text{ g}^{-1}$ , cuya concentración fue favorecida por la aportación de  $\beta$ -criptoxantina (4.5%). Los valores obtenidos se asemejaron a los reportados por Collera-Zúñiga *et al.* (2005) en chiles anchos.

La variación de vitamina A en las poblaciones de chile 'Guajillo' mostró un intervalo de 66.4 a 22.3  $\mu\text{g RAE } 100 \text{ g}^{-1}$ , mientras que en 'Pasilla' los valores observados fueron de 67 a 52  $\mu\text{g RAE } 100 \text{ g}^{-1}$ . La menor cantidad de vitamina A se identificó en el chile 'De Árbol' y el híbrido (36 y 38  $\mu\text{g RAE } 100 \text{ g}^{-1}$ , respectivamente). De manera general, los carotenoides provitamínicos se acumularon en cantidades bajas (3 %), lo que incidió en la baja cantidad de vitamina A, aunque el contenido máximo de vitamina A fue identificado en chile 'Puya' (Pu606), cuyo valor fue equiparable al de genotipos selectos de *C. annuum* L. analizados por Topuz y Ozdemir (2007), por lo que este genotipo mostró alto valor nutracéutico como resultado de la selección del agricultor. Los frutos rojos de *Capsicum* mostraron mayores concentraciones de  $\beta$  criptoxantina y  $\alpha$  y,  $\beta$  caroteno que los frutos amarillos (Rodríguez-Burruezo *et al.*, 2010). El contenido de estos carotenoides provitamínicos en frutos rojos de los tipos 'Guajillo', 'Pasilla' y 'De Árbol' fue bajo.

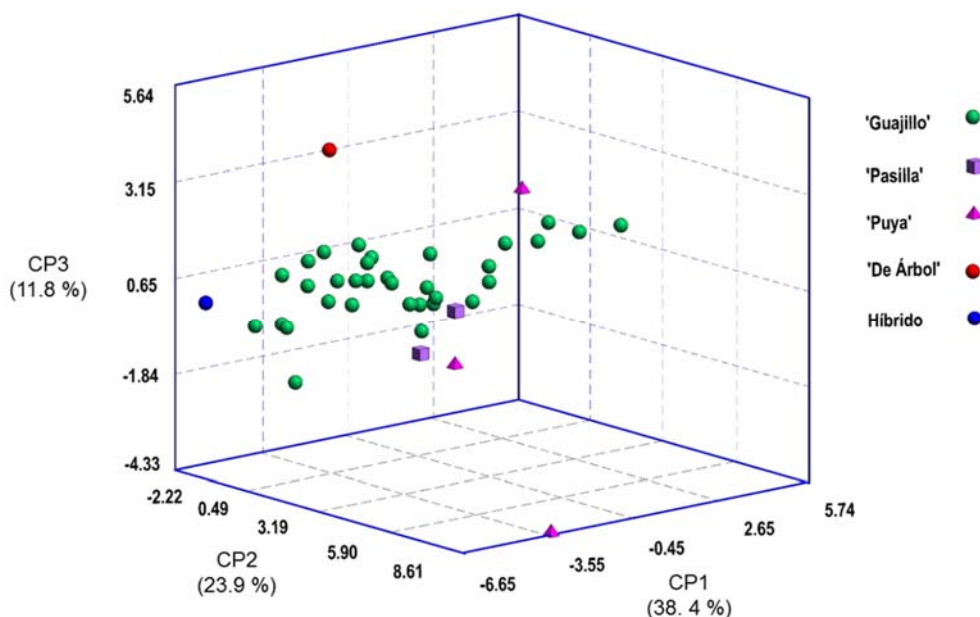
De manera general se observó alta variación en los metabolitos analizados, que pareció corresponder a la variación intrapoblacional de Chile 'Guajillo'. Por otro lado, Ritota *et al.* (2010) realizaron una clasificación de chiles dulces de acuerdo con su origen geográfico a través del perfil metabólico. No obstante, algunos metabolitos son altamente influenciados por el ambiente, pero pueden encontrarse algunos genotipos con producción consistente independientemente del lugar de cultivo (Madosa *et al.*, 2009).

La producción de capsaicinoides, carotenoides y vitamina A varió de manera amplia entre las poblaciones. Las accesiones de Chile 'Guajillo' sobresalientes pueden ser incorporadas en programas regionales de mejoramiento, ya que además de presentar divergencia fenotípica y alto rendimiento mostraron alto valor nutracéutico como fuente de carotenoides, coloración roja y bajo picor, principales atributos de aprovechamiento. La selección de estos atributos ha contribuido en la cultura culinaria otorgándole a cada tipo de Chile una identidad fitoquímica propia. La etnofarmacología de Chile como estimulante se debe a que la capsaicina induce una breve estimulación de las fibras nerviosas aferentes primarias seguido de la desensibilización a este capsaicinoide y un efecto no selectivo de células (Spiller *et al.*, 2008); además de su uso culinario, sus atributos organolépticos particulares han determinado su incorporación temprana a la dieta así como su aprovechamiento y conocimiento tradicional (Khan *et al.*, 2014).

### **Diversidad fitoquímica**

La dispersión de los genotipos se representó de manera tridimensional a través de los primeros tres componentes principales, que en conjunto explicaron 74.1 % de la variación total a partir de 18 características bioquímicas (Figura 2.1). Cada componente presentó un

vector propio formado por los vectores de las variables analizadas, por tanto, las variables con los coeficientes más altos fueron las de mayor importancia para cada componente (Cuadro 2.3).



**Figura 2.1. Dispersión de poblaciones nativas e híbrido de *C. annuum* con base en los primeros tres componentes principales a partir del análisis de 18 variables bioquímicas.**

El primer componente (CP1) explicó 38.4 % del total de la variación y se asoció con atributos de color, principalmente por la composición y contenido total de los carotenoides anteraxantina, capsantina, violaxantina, zeaxantina, criptocapsina,  $\beta$ -criptoxantina y capsorrubina, estos últimos con vectores propios menores a 0.30. El segundo componente (CP2) contribuyó con aproximadamente 23.9 % de la variabilidad bioquímica observada y se asoció principalmente con picor y actividad provitamínica a través de las variables capsaicina, dihidrocapsaicina, vitamina A y  $\beta$ -caroteno. El tercer componente (CP3) concentró cerca del 12 % de la variación total y fue influenciado mayormente por relación de la fracción rojo:amarilla.

**Cuadro 2.3. Vectores y valores propios de los primeros tres componentes principales obtenidos a partir de 18 características bioquímicas de 40 genotipos de *C. annuum* L.**

Característica	Vector propio		
	CP 1	CP 2	CP 3
Carotenoides totales	0.356	0.130	0.091
Anteraxantina	0.341	0.095	0.153
Capsantina	0.337	0.098	0.152
Violaxantina	0.309	0.096	0.177
Zeaxantina	0.296	0.086	0.062
Criptocapsina	0.276	-0.022	0.129
$\beta$ - Cryptoxantina	0.257	0.107	-0.209
Capsorrubina	0.252	0.140	0.171
Neoxantina	0.176	0.155	0.249
$\alpha$ -Cryptoxantina	0.162	0.037	-0.235
$\alpha$ -Caroteno	0.124	0.252	-0.217
Vitamina A	0.053	0.360	-0.400
Relación de la fracción amarilla/roja	0.027	0.225	-0.390
$\beta$ -Caroteno	-0.022	0.349	-0.377
Dihidrocapsaicina	-0.208	0.369	0.215
Capsaicinoides totales	-0.210	0.364	0.222
Unidades Scoville	-0.210	0.364	0.223
Capsaicina	-0.215	0.353	0.239
Valor propio	6.9	4.3	2.1
% de Variación explicada	38.4	23.9	11.8
% de variación acumulada	38.4	62.3	74.1

CP= Componente principal.

La composición fitoquímica permitió distinguir la diversidad de las poblaciones nativas. El contenido y composición de carotenoides, así como picor y capacidad

provitamínica mostraron la mayor contribución y valor descriptivo a la diversidad bioquímica observada. La distribución espacial de las poblaciones tipo 'Guajillo', con respecto a los tres primeros componentes principales (Figura 2.1) muestra que estos genotipos forman un complejo amplio que mantuvo similitud con los chiles 'Pasilla'

El híbrido comercial mostró poco parecido con el complejo, tal separación se debió de manera preponderante a la baja acumulación de carotenoides totales y particularmente de capsantina. Dentro del complejo 'Guajillo' se diferenciaron variantes en carotenoides, picor y vitamina A, tal variabilidad se asoció al genotipo, cuya variación continua sugieren que las poblaciones muestran un patrón composicional característico del tipo, pero que exhiben cierta diversidad que podría corresponder a la capacidad de síntesis de metabolitos. La mayor separación con chile 'Guajillo' la mostraron el chile 'De Árbol' y el genotipo Pu606, que mostró amplia diferenciación y se apartó del resto de las poblaciones por su alto contenido de vitamina A y fracción amarilla. La distribución de chile 'De Árbol' correspondió a los máximos valores presentados para contenido de carotenoides, fracción roja y picor.

El perfil fitoquímico permitió diferenciar dentro de cada tipo de chile variantes individuales. Cada tipo de chile mostró un patrón composicional característico propio, que puede ser atribuido a la selección de atributos de sabor, picor y color.

Las propiedades culinarias y de beneficios para la salud en los chiles son determinados por el contenido bioquímico (Madosa *et al.*, 2009). De acuerdo con Morán-Bañuelos *et al.* (2008), cada tipo de chile muestra características organolépticas específicas que se expresan por influencia combinada del genotipo, condiciones climáticas y prácticas de cultivo. Así, el aprovechamiento de chile 'Guajillo' ha conducido hacia un bajo picor, donde predomino

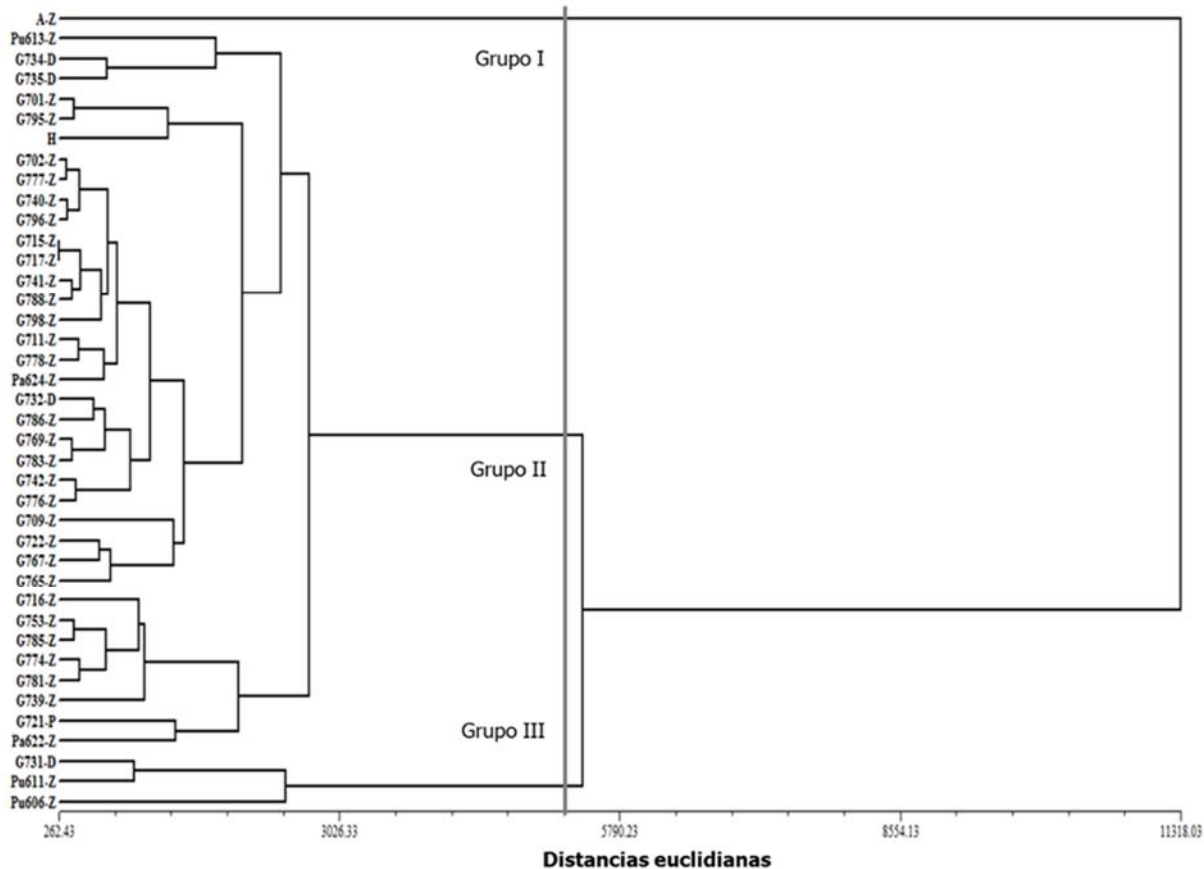
dihidrocapsaicina, frutos rojos con alto contenido de carotenoides y particularmente de capsantina, además de baja concentración de  $\beta$ -criptoxantina y  $\alpha$  y  $\beta$ -caroteno, que representan a la fracción amarilla. La composición total de éstos y otros metabolitos otorgan el sabor característico e influyen las preferencias de uso. Los atributos químicos pueden ser utilizados como criterios de selección de plantas que se desarrollan en las mismas condiciones ambientales (De Masi *et al.*, 2007). A través de la selección de los productores han generado estabilidad del patrón característico composicional de 'Guajillo', que ha sido ampliamente adaptado a las condiciones de la región, aunque la selección diferencial por los criterios de cada productor ha promovido la existencia de variantes.

### **Relación fitoquímica**

El dendrograma resultante del análisis de conglomerados (Figura 2.2) mostró un patrón de agrupación similar al obtenido por el ACP. Particularmente el complejo 'Guajillo' asociado a los chiles 'Pasilla' se mantuvo constante en ambos análisis. Igualmente, se observó la separación clara de chile 'De Árbol', que se atribuyó a su máximo valor de picor, misma separación que presentaron dos genotipos tipo 'Puya', debido a sus valores provitamínicos.

A una distancia euclidiana de 5237.45 se definieron tres agrupaciones. El chile 'De Árbol' mostró la mayor separación al resto de las poblaciones y conformó por sí solo la primer agrupación. El germoplasma nativo de chile 'Guajillo' y 'Pasilla' además del híbrido y la colecta Pu613 formaron al Grupo II y se distinguieron por leve picor, alto contenido de carotenoides y relación 1:0.6 de fracción roja:amarilla.





**Figura 2.2. Dendrograma de 40 genotipos de *C. annuum* L. formado a partir de 18 variables bioquímicas mediante distancias euclidianas y el método de agrupamiento UPGMA. Tipo de chile: A= 'De Árbol', G= 'Guajillo', Pu='Puya', Pa='Pasilla', H= Híbrido. Procedencia: Z= Zacatecas; D= Durango; P=Puebla.**

De manera particular Pu613 mostró un patrón composicional parecido al tipo 'Guajillo' en todas las variables. En la tercera agrupación, dos poblaciones de chile 'Puya' (Pu606 y Pu611) al igual que G731 tipo 'Guajillo', procedente de Durango, presentaron mayor parecido en su fracción amarilla y valores de picor, aunque por su alta capacidad provitamínica, Pu660 y Pu611 fueron más cercanos. La asociación de las poblaciones con base en su composición fitoquímica permitió apreciar que cada tipo de chile mantiene un patrón particular, pero que existen variantes en las que 'Guajillo' y 'Pasilla' presentaron

mayor similitud. Los análisis multivariados permitieron relacionar a las poblaciones de acuerdo con su tipo de chile. La caracterización fitoquímica mostró variación intra poblacional en chile 'Guajillo'.

En el dendrograma se observó el nivel de similitud entre las poblaciones y se identificaron genotipos con identidad fitoquímica particular. En este sentido Meckelmann *et al.* (2015b) identificaron la variabilidad composicional de *Capsicum annum* L., *C. baccatum* L., *C. chinense* Jacq. y *C. frutescens* L. y dentro de cada especie algunos genotipos potenciales cuya valoración fitoquímica puede permitir crear estrategias integradas de aprovechamiento tanto a nivel genético, agronómico, como de calidad nutricional.

Los genotipos tipo 'Pasilla' mostraron mayor similitud composicional con chile 'Guajillo' que el resto de los tipos analizados. El aprovechamiento diferencial de cada tipo de chile ha propiciado la selección de sus características químicas y a su vez ha definido un patrón particular de sabor de acuerdo con cada región y cultura culinaria del país, además de usos farmacológicos, como el reportado por Frei *et al.* (1998) en *C. baccatum*, al que se asocian efectos oftalmológicos atribuidos al contenido de capsaicina en la medicina tradicional zapoteca. Las poblaciones nativas de chile 'Guajillo' cultivadas y mantenidas por productores colectadas en la región de producción son una importante fuente de diversidad fitoquímica.

## **2.6. Conclusiones**

La heterogeneidad en la composición fitoquímica de chile 'Guajillo' fue alta, mostró un patrón característico en la composición de capsaicinoides, carotenoides y vitamina A en el cual se identificaron variantes particulares. Los tipos 'Guajillo' y 'Pasilla' mostraron leve

picor, mientras que el grado de picor en 'Puya' y 'De Árbol' fue mayor. La dihidrocapsaicina en las poblaciones de 'Guajillo' analizadas contribuyó mayormente a su picor. El contenido de carotenoides fue alto para todos los tipos evaluados, cada tipo de chile mostró un perfil propio, en el que capsantina fue el pigmento más predominante en todas las poblaciones. Se presentaron diferencias en el perfil composicional de chile 'Guajillo', en el que destacaron poblaciones con alto contenido de carotenoides y capsantina y, por ende presentaron el mayor valor nutraceutico y potencial industrial. El chile Pu606 tipo 'Puya' superó de manera significativa al resto de chiles analizados en contenido de vitamina A. Las poblaciones mostraron comportamiento diferente en su composición fitoquímica, se identificaron variantes individuales dentro del perfil característico de 'Guajillo', que en general se caracterizó por leve picor en SHU, alto contenido de carotenoides y capsantina, así como poca capacidad provitaminica.

## 2.7. Literatura citada

- Akula, R. and G. A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & Behavior* 6:1720-1731.
- Arimboor, R., N. R. Babu, M. K. Ramakrishna, L. P. Chandrasekhar and V. Moorkoth. 2015. Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability —a review. *Journal of Food Science and Technology* 52:1258-1271.
- Barbero, G. F., A. G. Ruiz, A. Liazid, M. Palma, J. C. Vera and C. G. Barroso. 2014. Evolution of total and individual capsaicinoids in peppers during ripening of the Cayenne pepper plant (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry* 153:200-206.

- Bosland, P. W. and E. J. Votava. 2012. Peppers. Vegetable and Spice Capsicums. 2nd ed. CABI Publishing. Cambridge. 230 p.
- Burns, J., P. D. Fraser and P. M. Bramley. 2003. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. *Phytochemistry* 62: 939-947.
- Collera-Zúñiga, O., F. G. Jiménez and R. M. Gordillo. 2005. Comparative study of carotenoid composition in three mexican varieties of *Capsicum annuum* L. *Food Chemistry* 90:109-114.
- Collins, M. D., L. M. Wasmund and P. W. Bosland. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using High-Performance Liquid Chromatography. *HortScience* 30:137-139.
- De Masi, L., P. Siviero, D. Castaldo, D. Cautela, C. Esposito and B. Laratta (2007). Agronomic, chemical and genetic profiles of hot peppers (*Capsicum annuum* ssp.). *Molecular Nutrition & Food Research* 51:1053-1062.
- Deli, J., P. Molnár, Z. Matus and G. Tóth. 2001. Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersiciforme rubrum*) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:1517-1523.
- Díaz-Laviada I and N. Rodríguez-Henche. 2014. The potential antitumor effects of capsaicin. *In: Capsaicin as a Therapeutic Molecule. Progress in Drug Research*, Abdel-Salam O. M. E. (ed). Springer. New York. pp. 181-208

- FAOSTAT. 2013. Production. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor> (Consultado Agosto, 2015).
- Frei, B., M. Baltisberger, O. Sticher and M. Heinrich. 1998. Medical ethnobotany of the Zapotecs of the Isthmus-Sierra (Oaxaca, Mexico): Documentation and assessment of indigenous uses. *Journal of Ethnopharmacology* 62:149-165.
- Garcés-Claver, A., M. S. Arnedo-Andrés, J. Abadía, R. Gil-Ortega and Álvarez-Fernández. 2006. Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum* fruits by liquid chromatography-electrospray/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:9303-9311.
- Giuffrida, D., P. Dugo, G. Torre, C. Bignardi, A. Cavazza, C. Corradini and G. Dugo. 2013. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry* 140:794-802.
- González-Zamora, A., E. Sierra-Campos, G. Luna-Ortega, R. Pérez-Morales, J. C. Rodríguez-Ortiz and J. L. García-Hernández. 2013. Characterization of different *Capsicum* varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. *Molecules* 18:13471-13486.
- González-Zamora, A., E. Sierra-Campos, J. G. Luna-Ortega, R. Pérez-Morales, J. C. R. Ortiz and J. L. García-Hernández. 2013. Characterization of different *Capsicum* varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid

- chromatography, determination of pungency and effect of high temperatura. *Molecules* 18:13471-13486.
- Gurung, T., S. Techawongstien, B. Suriharn and S. Techawongstien. 2011. Impact of environments on the accumulation of capsaicinoids in *Capsicum* spp. *HortScience* 46:1576-1581.
- Guzman I, P. W. Bosland and M. A. O'Connell. 2011. Heat, color, and flavor compounds in *Capsicum* fruit. *In: The Biological Activity of Phytochemicals. Recent Advances in Phytochemistry. Vol. 41. D. R. Gang (ed.). Springer. New York. pp: 109-126.*
- Guzman, I., S. Hamby, J. Romero, P. W. Bosland and M. A. O'Connell. 2010. Variability of carotenoid biosynthesis in orange colored *Capsicum* spp. *Plant Science* 179:49-59.
- Ha, S. H., J. B. Kim, J. S. Park, S. W. Lee and K. J. Cho. 2007. A comparison of the carotenoid accumulation in *Capsicum* varieties that show different ripening colours: deletion of the capsanthin-capsorubin synthase gene is not a prerequisite for the formation of a yellow pepper. *Journal of Experimental Botany* 58: 3135-3144.
- Hernández-Ortega, M., A. Ortiz-Moreno, M. D. Hernandez-Navarro, G. Chamorro-Cevallos, L. Dorantes-Alvarez and H. Necochea-Mondragon. 2012. Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory effects of carotenoids extracted from dried pepper (*Capsicum annuum* L.). *BioMed Research International*. 2012:1-10.
- Johnson, E. D. 2000. *Métodos Multivariados Aplicados al Análisis de Datos*. International Thompson Editors, New York, USA. 248 p.

- Keyhaninejad, N., R. D. Richins and M. A. O'Connell. 2012. Carotenoid content in field-grown versus greenhouse-grown peppers: different responses in leaf and fruit. *HortScience* 47:852–855.
- Khan, F. A., T. Mahmood, M. Ali, A. Saeed and A. Maalik. 2014. Pharmacological importance of an ethnobotanical plant: *Capsicum annuum* L. *Natural Product Research* 28:1267-1274.
- Kim, S., J. B. Park and I. K. Hwang. 2002. Quality attributes of various varieties of Korean red pepper powders (*Capsicum annuum* L.) and color stability during sunlight exposure. *Journal of food science* 67:2957-2961.
- Kim, S., M. Park, S. I. Yeom, Y. M. Kim, J. M. Lee, H. A. Lee and H. S. Choi. 2014. Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in *Capsicum* species. *Nature Genetics* 46: 270-278.
- Kraft, K. H., J. J. Luna-Ruíz and P. Gepts. 2010. Different seed selection and conservation practices for fresh market and dried chile farmers in Aguascalientes, Mexico. *Economic Botany* 64:318-328.
- Kraft, K. H., C. H. Brown, G. P. Nabhan, E. Luedeling, J. J. R. Luna, G. C. d'Eeckenbrugge, R. J. Hijmans and P. Gepts. 2014. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 111: 6165-6170.

- Lee, J. J., K. M. Crosby, L. M. Pike, K. S. Yoo and D. I. Leskovar. 2005. Impact of genetic and environmental variation on development of flavonoids and carotenoids in pepper (*Capsicum* spp.). *Scientia Horticulturae* 106:341-352.
- Li, Z., S. Wang, X. L. Gui, X. B. Chang and Z. H. Gong. 2013. A further analysis of the relationship between yellow ripe-fruit color and the capsanthin-capsorubin synthase gene in pepper (*Capsicum* sp.) indicated a new mutant variant in *C. annuum* and a tandem repeat structure in promoter region. *PLoS One* 18: e61996.
- Madosa, E., S. Ciulca, V. G. Sasu-Lavinia, C. Avădanei and F. Ilijana. 2009. Studies regarding breeding value of some long pepper local landraces. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology* 13:379-382.
- Meckelmann, S. W., C. Jansen, D. W. Riegel, M. van Zonneveld, L. Ríos, K. Peña y E. Mueller-Seitz. 2015a. Phytochemicals in native Peruvian *Capsicum pubescens* (Rocoto). *European Food Research and Technology* 241:817-825.
- Meckelmann, S. W., D. W. Riegel, M. van Zonneveld, L. Ríos, Peña K, E. Mueller-Seitz and M. Petz. 2015b. Capsaicinoids, flavonoids, tocopherols, antioxidant capacity and color attributes in 23 native Peruvian chili peppers (*Capsicum* spp.) grown in three different locations. *European Food Research and Technology* 240:273-283
- Meyer, R. S., A. E. DuVal and H. R. Jensen. 2012. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. *New Phytologist* 196: 29-48.



- Morán-Bañuelos, S. H., V. H. Aguilar-Rincón, T. Corona-Torres, F. Castillo-González, R. M. Soto-Hernández y S. Miguel-Chávez. 2008. Capsaicinoides en chiles nativos de Puebla, México. *Agrociencia* 42:807-816.
- Nicolaï, M., M. Cantet, V. Lefebvre, A. M. Sage-Palloix and A. Palloix. (2013). Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60:2375-2390.
- Orellana-Escobedo, L., L. E. Garcia-Amezquita, G. I. Olivas, J. J. Ornelas-Paz and D. R. Sepulveda. 2013. Capsaicinoids content and proximate composition of Mexican chili peppers (*Capsicum* spp.) cultivated in the state of Chihuahua. *CyTA-Journal of Food* 11:179-184.
- Peña-Alvarez, A., E. Ramírez-Maya and L. A. Alvarado-Suárez. 2009. Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in peppers and pepper sauces by solid phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216:2843-2847.
- Perry, L., R. Dickau, S. Zarrillo, I. Holst, D. M. Pearsall, D. R. Piperno, M. J. Berman, R. G. Cooke, K. Rademaker, A. J. Ranere, J. S. Raymond, D. H. Sandweiss, F. Scaramelli, K. Tarble and J. A. Zeidler. 2007. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science* 315:986-988.

- Portis, E., G. Nervo, F. Cavallanti, L. Barchi and S. Lanteri. 2006. Multivariate analysis of genetic relationships between Italian pepper landraces. *Crop Science* 46:2517-2525.
- Ritota, M., F. Marini, P. Sequi and M. Valentini. 2010. Metabolomic characterization of Italian sweet pepper (*Capsicum annum* L.) by means of HRMAS-NMR spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:9675-9684.
- Rodríguez-Burruezo, A., M. D. C. González-Mas and F. Nuez. 2010. Carotenoid composition and vitamin A value in ají (*Capsicum baccatum* L.) and rocoto (*C. pubescens* R. & P.), 2 pepper species from the Andean region. *Journal of Food Science* 75: S446-S453.
- Rodríguez-Uribe, L., I. Guzman, W. Rajapakse, R. D. Richins and M. A. O'Connell. 2012. Carotenoid accumulation in orange-pigmented *Capsicum annum* fruit, regulated at multiple levels. *Journal of Experimental Botany* 63:517-526.
- Rohlf, F. J. 2000. NTSYS. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.0, Exeter Public. Setauket, New York.
- Röhlig, R. M., J. Eder and K. H. Engel. 2009. Metabolite profiling of maize grain: differentiation due to genetics and environment. *Metabolomics* 5:459-477.
- SAS Institute. 2011. SAS User's Guide: Statistics. Version 9.3. Statistic Analysis System Institute. Cary, North Carolina, USA. 1032 pí.
- Serna-Pérez, A., J. A. Zegbe y J. Mena-Covarrubias. 2011. Rendimiento y calidad de chile seco 'Mirasol' cultivado bajo riego parcial de la raíz. *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 17: 19-24.

- Shahverdi, A., F. Kheiri, M. Faghani, Y. Rahimian and A. Rafiee. 2013. The effect of use red pepper (*Capsicum annum* L.) and black pepper (*Piper nigrum* L.) on performance and hematological parameters of broiler chicks. *European Journal Zoological Research* 2:44-48.
- Siddiqui, M. W., C. M. Momin, P. Acharya, J. Kabir, M. K. Debnath and R. S. Dhua. 2013. Dynamics of changes in bioactive molecules and antioxidant potential of *Capsicum chinense* Jacq. cv. Habanero at nine maturity stages. *Acta Physiologiae Plantarum*. 35:1141-1148.
- Spiller, F., M. K. Alves, S. M. Vieira, T. A. Carvalho, C. E. Leite, A. Lunardelli, J. A. Poloni, F. Q. Cunha and J R. de Oliveira. 2008. Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan-and antigen-induced inflammation. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 60: 473-478.
- Suzuki, K., M. Mori, K. Ishikawa, K. Takizawa and O. Nunomura. 2007. Carotenoid Composition in Mature *Capsicum annum*. *Food Science and Technology Research*. 13:77-80.
- Thoennissen, N. H., J. O'Kelly, D. Lu, G. B. Iwanski, D. T. La, S. Abbassi and H. P. Koeffler. 2010. Capsaicin causes cell-cycle arrest and apoptosis in ER-positive and-negative breast cancer cells by modulating the EGFR/HER-2 pathway. *Oncogene* 29:285-296.
- Topuz, A., C. Dincer, K. S. Özdemir, H. Feng and M. Kushad. 2011. Influence of different drying methods on carotenoids and capsaicinoids of paprika (cv. Jalapeno). *Food Chemistry* 129:860-865.

- Topuz, A. and F. Ozdemir. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:596-602.
- Tundis, R., M. R. Loizzo, F. Menichini, M. Bonesi, F. Conforti, G. Statti, D. De Luca, B. de Cindio and F. Menichini. 2011. Comparative study on the chemical composition, antioxidant properties and hypoglycaemic activities of two *Capsicum annuum* L. cultivars (*Acuminatum* small and *Cerasiferum*). *Plant Foods for Human Nutrition* 66:261-269.
- Vera-Guzmán, A. M., J. L. Chávez-Servia, J. C. Carrillo-Rodríguez and M. G. López. 2011. Phytochemical evaluación of wild and cultivated pepper (*Capsicum annuum* L. and *C. pubescens* Ruiz & Pav.) from Oaxaca, Mexico. *Chilean Journal of Agricultural Research* 4:578-585.
- Wahyuni, Y., A. R. Ballester, E. Sudarmonowai, R. J. Bino and A. G. Bovy. 2013. Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet. *Journal of natural products* 76: 783-793.
- Zaki, N., A. Hasib, A. Hakmaoui, F. Dehbi and A. Ouatmane. 2013. Assessment of color, capsaicinoids, carotenoids and fatty acids composition of paprika produced from Moroccan pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Natural Sciences Research* 3:111-118.

## CAPÍTULO III

### ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE POBLACIONES NATIVAS DE CHILE 'GUAJILLO' MEDIANTE MICROSATÉLITES

Yolanda del Rocío Moreno-Ramírez; Amalio Santacruz-Varela; Higinio López-Sánchez;  
Leobigildo Córdova-Téllez; Víctor A. González-Hernández; Pedro Antonio López;  
Tarsicio Corona-Torres.

#### 3.1. Resumen

La domesticación de *Capiscum annuum* L. en México generó 55 tipos de chile, que en su mayoría carecen de estudios de diversidad a nivel molecular, lo que imposibilita el poder determinar patrones de variabilidad y relaciones genéticas, así como estrategias eficientes de mejoramiento genético y conservación. Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue analizar la diversidad y estructura genética de poblaciones nativas de chile 'Guajillo' de Zacatecas, a través del uso de microsatélites. Se analizó una colección núcleo de chile 'Guajillo' junto a chiles 'Pasilla', 'Puya' y 'De Árbol' utilizados como referentes poblacionales y a la accesión silvestre 'Piquín', a través de 19 *loci* de microsatélites. La información alélica se empleó para obtener los parámetros de diversidad genética, contenido de información polimórfica (PIC) los marcadores y la estructura genética con base en los estadísticos F de Wright. La diversidad alélica fue analizada con un análisis de componentes principales (ACP) y de conglomerados bayesiano. Se detectaron 116 alelos, con un promedio de 6.16 alelos por locus. Todos los *loci* fueron polimórficos, la variación del PIC se presentó de 0.005 hasta 0.688, mientras que la heterocigosidad esperada fue de 0.31 hasta 0.56. Se

identificó alta variación intra poblacional por medio de los estadísticos F. Hubo una alta concordancia en la diversidad genética observada en el ACP, filograma y conglomerados. Los resultados obtenidos indicaron amplio polimorfismo genético. El chile 'Guajillo' presentó diferencias genéticas altas; sus combinaciones alélicas y alelos exclusivos exhibieron relación cercana con accesiones tipo 'Pasilla' y 'Puya'.

**Palabras clave:** *Capiscum annuum* L., poblaciones nativas, diversidad genética, microsatélites.

### 3.2. Summary

The domestication of *Capsicum annuum* L. in Mexico generated 55 types of chile, which most of them lack diversity studies at the molecular level, making it impossible to determine patterns of genetic variability and relationships as well as efficient breeding strategies and conservation. Based on the above, the aim of this study was to analyze the genetic diversity and structure of 'Guajillo' chile landraces from Zacatecas, through the use of microsatellites. A core collection of 'Guajillo' chile, along with 'Pasilla', 'Puya' and 'De Árbol' chiles used as population references and the wild 'Piquin' accession, across 19 microsatellite *loci* was analyzed. The allelic information was used to obtain the parameters of genetic diversity, polymorphic information content (PIC) markers and the genetic structure based on Wright's F statistics. Allelic diversity was analyzed using principal component analysis (PCA) and the Bayesian cluster. 116 alleles were detected, averaging 6.16 alleles per locus. All *loci* were polymorphic; PIC variation arose from 0.005-0.688, while the expected heterozygosity went from 0.31 to 0.56. High intra population variation was identified through the F statistics. There was a high concordance in the genetic diversity observed in the PCA, phylogram and clusters. The results obtained showed wide genetic polymorphism. The 'Guajillo' chile presented high genetic differences; its allelic combinations and exclusive alleles showed close relationships with 'Pasilla' and 'Puya' type accessions.

**Keywords:** *Capsicum annuum* L., landraces, genetic diversity, microsatellites.

### 3.3. Introducción

La amplia distribución e importancia económica en el mundo colocan a *Capsicum annuum* L. como la principal especie domesticada del género (González-Pérez *et al.*, 2014). Esta especie presenta versatilidad de usos culinarios (Smith, 2015) y no alimenticios (Kumar *et al.*, 2006), principalmente en la industria de alimentos y cosméticos principalmente hacia la obtención de colorantes naturales (Zaki *et al.*, 2013). Sus metabolitos secundarios ofrecen amplios beneficios a la salud humana, por lo que sus estudios farmacológicos y aplicación terapéutica han aumentado (Wahyuni *et al.*, 2013).

La domesticación de *C. annuum* L. en México currió a través de múltiples eventos independientes (Pickersgill, 1971; Perry *et al.*, 2007; Hill *et al.*, 2013) y en distintos presuntos centros geográficos (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009) tales como el centro primario de domesticación (Tamaulipas, Nuevo León, San Luis Potosí, Veracruz e Hidalgo) y el centro secundario ubicado en el occidente de México (Nayarit) (Loaiza-Figueroa *et al.*, 1989), así como las regiones noreste y el centro-este de México (Kraft *et al.*, 2014) y la península de Yucatán (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009). Diferentes eventos y centros de domesticación, aunado a la selección natural y artificial derivaron en la amplia diversidad genética del género observada a través de sus formas semi domesticadas y poblaciones locales (Hernández-Verdugo *et al.*, 2012; Kraft *et al.*, 2013).

El acervo genético de las poblaciones nativas comprende 55 tipos de chile (Aguilar *et al.*, 2010) que varían ampliamente en tamaño, forma, color, sabor y picor, características acordes a las preferencias antropocéntricas y selección diferencial (Ortiz *et al.*, 2010). Las poblaciones nativas de chile ‘Guajillo’ destacan por su producción nacional e importancia en



la cultura culinaria mexicana (Moreno-Pérez *et al.*, 2011). Sin embargo, pese a su valor económico y genético, la diversidad genética del chile 'Guajillo' ha sido poco estudiada acerca de su diversidad genética a nivel molecular, condición observada en gran parte del germoplasma de chile (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009).

La caracterización molecular permite evaluar la diversidad genética inter e intra específica y es considerada como vínculo importante entre la conservación y utilización de los recursos fitogenéticos (Thul *et al.*, 2012). El conocimiento de la variabilidad y las relaciones genéticas entre poblaciones es prerequisite para el manejo y aprovechamiento eficiente del germoplasma (Albrecht *et al.*, 2012). La diversidad genética es fuente esencial de procesos genéticos (Nicolai *et al.*, 2013), al mismo tiempo que su identificación y utilización establecen los métodos de mejoramiento (Horst y Wenzel, 2007), por lo que el estudio genético de la diversidad a través de la aplicación de análisis moleculares proporciona información muy útil en el mantenimiento y uso de los recursos genéticos (Votava *et al.*, 2002).

Los marcadores moleculares son una herramienta poderosa en estudios de diversidad genética, auxilian en la clasificación de accesiones filogenéticamente, revelan individuos con antecedentes híbridos y resuelven incertidumbres taxonómicas (Horst y Wenzel, 2007), son repetibles y considerados de mayor confianza que los caracteres morfológicos, al no ser afectados por el ambiente (Portis *et al.*, 2007). Los microsatélites son repeticiones en tándem de uno a seis nucleótidos de ADN, y han adquirido gran importancia en la genética vegetal y fitomejoramiento debido a sus características ventajosas, tales como hipervariabilidad, naturaleza multialélica, herencia codominante, alta reproducibilidad, abundancia relativa, amplia cobertura del genoma, ubicación específica en el cromosoma, sensibilidad a la

automatización y alto rendimiento de genotipo (Kalia *et al.*, 2011). El uso de SSR en el análisis de *Capsicum* ha contribuido al conocimiento de variabilidad genética (Tam *et al.*, 2005; Nagy *et al.*, 2007; Portis *et al.*, 2007; Hanáček *et al.* 2009; Patel *et al.*, 2011; Dhaliwal *et al.*, 2014), mapeo genómico (Lee *et al.*, 2004; Minamiyama *et al.*, 2006; Yi *et al.*, 2006; Nagy *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2009; Mimura *et al.*, 2012; Sugita *et al.*, 2013; Ahn *et al.*, 2014), identificación de genotipos (Gémes Juhász *et al.*, 2006) y análisis de estructura genética (Contreras *et al.*, 2011; Ibiza *et al.*, 2012; Pacheco-Olvera *et al.*, 2012).

Estudios acerca de la variabilidad genética de poblaciones nativas de chiles en México mediante microsatélites indican alto polimorfismo genético, como los resultados obtenidos por González-Pérez *et al.* (2014) a través de 39 SSR probados en accesiones mexicanas de *C. annuum* L., que mostraron heterogeneidad genética y amplia cantidad de alelos exclusivos. En el mismo tenor, la caracterización de la diversidad a través de *loci* microsatélites reportada por Contreras *et al.* (2011), en un estudio de poblaciones nativas de Chile ‘Poblano’ encontraron amplia variabilidad genética, mayormente intrapoblacional. También Pacheco-Olvera *et al.* (2012), con amplia diversidad a través del análisis de variabilidad genética de poblaciones silvestres y nativas del noreste de México mediante siete SSR que coinciden con los de González-Jara *et al.* (2011), quienes analizaron poblaciones silvestres (*C. annuum* L. var. *glabriusculum*). Por otra lado, Ibarra-Torres *et al.*, (2015) mostraron que los microsatélites diseñados para *C. annuum* L. pueden detectar diferenciación en *C. pubescens*, lo que indica cierta homología entre ambas especies.

El germoplasma nativo de *C. annuum* L. presenta amplia diversidad fenotípica derivada de patrones divergentes de domesticación y selección (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001; González-Pérez *et al.*, 2014), por lo que se requiere de más estudios detallados de variabilidad

genética (Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009) para otros tipos, como es el caso de chile ‘Guajillo’, ya que ha sido poco estudiado principalmente a nivel molecular. Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue describir la diversidad y estructura genética de poblaciones locales de chile ‘Guajillo’ y otros tipos de chile de Zacatecas, a través de marcadores microsatélites, valoración que permitirá determinar patrones de distribución de la diversidad, así como establecer estrategias de conservación y mejoramiento genético eficientes.

### **3.4. Materiales y métodos**

#### **Germoplasma**

El estudio se realizó en una colección núcleo de 32 poblaciones de chile ‘Guajillo’ de Durango y Zacatecas definida en 2012 mediante una caracterización fenotípica, además de dos poblaciones tipo ‘Pasilla’, tres de chile ‘Puya’ y una colecta de chile ‘de Árbol’, utilizadas como referencia y una accesión silvestre de chile ‘Piquín’ (*C. annuum* L. var. *glabriusculum*) como grupo externo.

#### **Extracción y cuantificación de ADN**

Se extrajo ADN genómica a partir de 100 mg de tejido por plántula (16 dds) de 10 individuos de cada población, establecidos en invernadero, mediante el kit comercial ChargeSwitch<sup>®</sup>, gDNA Plant (Invitrogen) en un robot de extracción KingFisher Flex<sup>®</sup> (ThermoScientific, Waltham, MA). La cuantificación de ADN se realizó a una absorbancia de 260 y 280 nm, con un espectrofotómetro de ultra bajo volumen (NanoDrop 2000<sup>®</sup>, ThermoScientific, Waltham, MA).

### **Evaluación de marcadores microsatélites**

Se evaluaron 19 loci de microsatélites reportados por Lee *et al.* (2004) (Cuadro 3.1) los cuales se amplificaron por reacciones de PCR múltiple (Contreras-Toledo *et al.*, 2011). Los iniciadores se marcaron con etiquetas fluorescentes 6-FAM o HEX (Applied Biosystems) en el extremo 5' para su detección por electroforesis capilar.

El volumen final de la mezcla de la reacción de PCR fue de 25  $\mu$ L, que contenía 40 ng de ADN, 0.2 mM de nucleótidos, 4 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 X de amortiguador, 1 unidad de Taq ADN polimerasa y 10 pmol de cada iniciador. Las etapas para la amplificación de fragmentos fueron una desnaturalización inicial de 4 min a 94 °C; seguida de 30 ciclos de 1 min a 94 °C (desnaturalización), seguida de la alineación a 1 min de 56 a 65 °C dependiendo del iniciador, una extensión a 2 min a 72 °C, y una extensión final a 72 °C por 12 min.

El análisis de fragmentos se realizó en un secuenciador Genetic Analyzer ABI 3130<sup>®</sup> (Applied Biosystems, Foster City, CA), con una mezcla de 2  $\mu$ L de producto de PCR, 0.25  $\mu$ L de GeneScan TM- 500 LIZ<sup>®</sup> Size Standard y 7.75  $\mu$ L de HiDi TM Formamide<sup>®</sup>. Para la identificación y medición de los alelos se empleó el programa GeneMapper<sup>®</sup> v. 4.0 (Applied Biosystems).

**Cuadro 3.1. Loci de microsatélites e iniciadores, condiciones de alineamiento para las PCR múltiples y PIC analizados en poblaciones nativas y germoplasma silvestre de *C. annuum* L.**

Grupo	Locus	Unidad repetitiva	Etiqueta-Iniciadores (5'-3' / 3'-5')	pb	Tm (°C)	PIC
1	<i>Hpms1-1</i>	(CA) <sub>12</sub> (TA) <sub>4</sub>	6-FAM-tcaaccaatattaaggtcacttc/ ccaggcggggattgtagatg	257-284	56.4	0.633
	<i>HpmsAT2-14</i>	(AAT) <sub>16</sub> IMP†	6-FAM-tttagggttccaactcttcttc/ ctaacccaaccaagcaaacac	174-196		0.005
	<i>Hpms 1-6</i>	(AT) <sub>2</sub> (GT) <sub>4</sub> (AT) <sub>8</sub> (GT) <sub>13</sub>	HEX-tccataacttcacccatgagtatga/ gcaacaccacattccctctc	186-196		0.292
2	<i>Hpms1-106</i>	(AAAAAT) <sub>4</sub>	HEX-tccaaactacaagcctgcctaacc/ ttttgattattgagtcccacagc	157-163	61	0.356
	<i>Hpms1-5</i>	(AT) <sub>11</sub> (GT) <sub>17</sub>	6-FAM-ccaaacgaaccgatgaactc/ gacaatgtgaaaaaggtggaagac	281-321		0.511
	AF244121	(TTG) <sub>5</sub> IMP (AT) <sub>6</sub> IMP (GT) <sub>3</sub> IMP	6-FAM-tacctctcgccaatccttctg/ ttgaaagttcttccatgacaacc	238-242		0.624
3	CM0005	(CCA) <sub>8</sub>	6-FAM-catgaccacccatgaggata/ gatagccacgagcatagtatt	153-159	56.2	0.280
	<i>Hpms 1-168</i>	(TA) <sub>17</sub> (GA) <sub>12</sub>	HEX-gccccgatcaatgaatttcaac/ tgattttgggtggagagaaaacc	160-177		0.558
	<i>Hpms 2-13</i>	(AC) <sub>12</sub> (AT) <sub>4</sub>	HEX-tcacctcataagggcttatcaatc/ tccttaaccttacgaaaccttgg	246-263		0.451
4	<i>HpmsCaSIG19</i>	(CT) <sub>6</sub> (AT) <sub>8</sub> (GTAT) <sub>5</sub>	HEX-catgaatttcgtcttgaaaggtccc/ aagggtgtatcgtacgcagcctta	216-226	64.7	0.548
	<i>Hpms1-172</i>	(GA) <sub>15</sub>	HEX-gggtttgcgatgataagcatttt/ cgctggaatgcattgtcaaaga	320-346		0.688
	CAN010950	(TA) <sub>9</sub>	HEX-gattttgggtgcagaagaattgg/ tgcacttgcagcaaacaaacc	256-277		0.308
5	<i>Hpms 1-111</i>	(AAT) <sub>11</sub>	HEX-aagcttatcccttcaaatataa/ atatctcacgtattgceggattctt	147-188	54.7	0.348
	<i>Hpms 2-24</i>	(CT) <sub>17</sub> (CA) <sub>5A21</sub>	6-FAM-tcgtattggcttgtgattaccg/ ttgaatcgaataaccgcaggag	184-203		0.639
6	<i>Hpms2-2</i>	(GT) <sub>9</sub>	6-FAM-gcaaggatgcttagtgggtgct/ tcccaaaattacctgcagcac	147-152	56	0.435
	<i>Hpms1-173</i>	(GA) <sub>16</sub> (TG) <sub>2</sub>	HEX-tgctgggaaagatctcaaaagg/ atcaaggaagcaaaccaatgc	160-167		0.482
	<i>Hpms1-143</i>	(AG) <sub>12</sub>	6-FAM-aatgctgagctggcaaggaaag/ tgaaggcagtaggtggggagtg	221-276		0.676
7	<i>Hpms1-274</i>	(GTT) <sub>7</sub>	HEX-tcccagaccctcgtgatag/ tctgtccttccacaactg	164-139	58, 61.7	0.583
	<i>Hpms1-214</i>	(GTTT) <sub>2</sub> (TTG) <sub>9</sub>	6-FAM-tgctgagtagcttcttctag/ ggcagtcctgggacaactcg	83-106		0.648

IMP†= Repetición imperfecta. PIC: Contenido de Información Polimorfa.

Los estadísticos F de Wright (1965) describieron los efectos de endogamia de un individuo con respecto a la subpoblación ( $F_{IS}$ ), el efecto de la subpoblación en relación con la población entera ( $F_{ST}$ ) y de un individuo con respecto a la población entera ( $F_{IT}$ ). Los parámetros fueron obtenidos mediante el programa POPGENE v. 1.31 (Yeh *et al.*, 1999).

Se realizó un análisis de varianza para la selección de alelos cuyas frecuencias presentaron significancia al 5 % entre poblaciones, es decir que 66 alelos significativos conformaron la matriz de correlaciones para el Análisis de Componentes Principales (ACP) realizado mediante el paquete SAS v. 9.3 (SAS Institute, 2011)

Los alelos seleccionados también se usaron para construir un filograma de las 39 poblaciones a través del método de agrupamiento Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987) con la matriz de distancias genéticas modificadas de Rogers, a través del programa NTSYS v. 2.21c (Rohlf, 2009).

La diferenciación genética entre las poblaciones se estimó con un análisis conglomerado con el modelo bayesiano, a través del programa STRUCTURE v. 2.3. (Pritchard *et al.*, 2009). Los ajustes predeterminados fueron establecidos por cada corrida, que consistió de un periodo de 100,000 repeticiones seguido de 100,000 iteraciones de cadenas Markov Monte Carlo (MCMC). Se consideró el modelo aditivo, que asume ascendencia mixta entre los individuos y, el modelo de correlación, que asume que los alelos se derivan de un ancestro común. El número de agrupaciones poblacionales (K) se valoró de 1 a 10, con 10 simulaciones independientes por cada valor de K. Mediante el programa STRUCTURE HARVESTER v. 6.94 (Earl y vonHoldt *et al.*, 2012) y el método de Evanno *et al.* (2005) se obtuvo el máximo valor estadístico de  $\Delta K$ , para identificar el número óptimo de

agrupaciones. La visualización del conglomerado se realizó con el programa DISTRUCT v. 1.1 (Rosenberg, 2004).

### 3.5. Resultados y discusión

#### Análisis de la diversidad y estructura genética

Todos los *loci* evaluados fueron polimórficos, de acuerdo con los valores de PIC (promedio, 0.477). La diversidad y frecuencia alélica entre las poblaciones no fue uniforme para todos los *loci* (Cuadro 3.1); el *locus Hpms AT2-14* presentó el menor polimorfismo (0.005) con únicamente tres alelos, mientras que *Hpms 1-172* (0.688) presentó 12 alelos por *locus*. Los valores de PIC para *Hpms 1-172* y *Hpms AT2-14* fueron notablemente menores a los obtenidos por Ibarra-Torres *et al.* (2015), que reportaron 0.91 y 0.85, identificados en *C. annuum*. En cambio, el número de alelos del microsatélite *Hpms1-5* fue alto, al igual que el obtenido en chiles rojos por Hanáček *et al.* (2009).

En las poblaciones evaluadas se detectó un total de 117 alelos; el número de alelos por *locus* varió de 1.74 a 4.79 con un promedio de 6.16 alelos con 83.10 % de *loci* polimórficos (Cuadro 3.2). Estos resultados fueron similares a los identificados en poblaciones de chiles anchos por Contreras *et al.* (2011). La mayor cantidad de alelos se observó en Chile ‘Guajillo’, contrario a la población silvestre ‘Piquín’, cuyo valor contrastó con el reportado por Pacheco-Olvera *et al.* (2012), quienes detectaron 3.6 alelos por *locus* en colectas silvestres, probablemente debido a que en el presente estudio el tamaño de muestra fue pequeña.

Según Pickersgill *et al.* (2007) señalaron que a través de estudios de taxonomía numérica basada en caracteres morfológicos de poblaciones silvestre, semi domesticadas y domesticadas de *C. annuum*, los chiles domesticados parecen más heterogéneos que los silvestres de la misma especie. De manera contraria, Loaiza-Figueroa *et al.* (1989) identificaron patrones distintos de variación genética entre morfotipos silvestres.

El valor promedio de alelos por *locus* encontrado en poblaciones nativas por Loaiza-Figueroa *et al.* (1989) fue similar al obtenido en este estudio (3.37). Las poblaciones nativas presentaron amplia variabilidad genética de acuerdo con el número de alelos identificado, que fue mayor al número promedio obtenido por Nimmakayala *et al.* (2014) en 96 poblaciones de *Capsicum annuum* L.

**Cuadro 3.2. Análisis de la diversidad genética de cuatro tipos nativos y un genotipo silvestre de *C. annuum* L. con base en 19 *loci* de microsatélites.**

Tipo de chile	Número de accesiones	Número de alelos	Alelos por locus	Alelos exclusivos	% <i>loci</i> polimórficos	He
‘Guajillo’	32	91	4.79	18	93.59	0.53
‘Pasilla’	2	59	3.11	0	86.84	0.49
‘Puya’	3	60	3.16	0	87.72	0.48
‘de Árbol’	1	46	2.42	8	84.21	0.38
‘Piquín’	1	33	1.74	16	63.16	0.31
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>117</b>	–	<b>42</b>	–	–
<b>Promedio</b>	–	–	<b>6.16</b>	–	<b>83.10</b>	<b>0.44</b>

He= Heterocigosidad esperada



Los alelos exclusivos representaron 36 % del total de los alelos encontrados. La mayor cantidad se detectó en Chile 'Guajillo', seguido de 'Piquín' y de 'Árbol' (18, 16 y 8 alelos, respectivamente); por el contrario, las poblaciones de 'Pasilla' y 'Puya' no tuvieron alelos exclusivos.

La alta frecuencia de alelos exclusivos en Chile 'Piquín' (48 % del total de alelos) fue asociada al intercambio genético y flujo de estos alelos dentro de sus poblaciones naturales. Votava *et al.* (2002) señalan que la presencia de alelos únicos en poblaciones silvestres derivan de procesos evolutivos tales como mutación, selección natural bajo condiciones adversas, y a la deriva genética después de un efecto fundador.

La mayor diversidad de alelos se identificó en las poblaciones de Chile 'Guajillo' que mostró alto porcentaje de loci polimórfico (93.6 %), valor que supera a los reportados por Hernández-Verdugo *et al.* (2001) en poblaciones silvestres (90.8 %) y nativas (84.6 %) de *C. annuum* L. procedente del noreste de México. El valor promedio del porcentaje de loci polimórfico (86.3 %) entre 'Pasilla' 'Puya' y 'de Árbol' mostró porcentajes similares a los identificados en poblaciones nativas de Chile tipo 'Serrano', 'Jalapeño' y 'Morrón' (Hernández *et al.*, 2006). Las diferentes magnitudes encontradas en el porcentaje de loci polimórficos de las poblaciones nativas (84.2 a 93.6) se asocian a modificaciones en la composición genética derivadas del proceso de domesticación; en cambio, el déficit de porcentaje de loci polimórficos de la población silvestre (63.2 %) se relacionó con una desviación en el muestreo, por el tamaño reducido de muestra analizada.

La heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) se presentó en un intervalo de 0.31 a 0.53. Las poblaciones tipo 'Guajillo' mostraron heterocigosidad esperada superior (0.53) con respecto

al resto de poblaciones analizadas. Tal valor de  $H_e$  del chile 'Guajillo' indica amplia diversidad genética. Los valores de heterocigosidad de los chiles 'Pasilla', 'Puya', 'de Árbol' (promedio, 0.45) se atribuyen a cierto nivel de homocigosis en estas poblaciones, como resultado del bajo cruzamiento y a la poca cantidad de accesiones analizadas.

Al respecto, los valores de  $H_e$  reportados por Nicolai *et al.* (2013) para poblaciones nativas y silvestre (0.59 y 0.78, respectivamente) por fueron notablemente mayores a los identificados en este estudio, probablemente debido a la baja cantidad de muestras analizadas, ya que las poblaciones silvestres mantienen altos niveles de variación entre y dentro de sus poblaciones (Hernández *et al.*, 2008). Sin embargo, los valores de  $H_e$  aquí obtenidos son equiparables al intervalo de de 0.30 a 0.59 reportado por (Moses *et al.*, 2014) en poblaciones nativas y silvestres de *C. chinense*.

En cuanto a los altos valores de los parámetros genéticos identificados en chile 'Guajillo' evidencian la amplia variación en sus numerosas poblaciones evaluadas, cantidad de accesiones analizadas que dan confianza en los datos aquí obtenidos en este tipo de chile.

Los estadísticos F de Wright (Cuadro 3.3) mostraron que tanto el material silvestre como la población de chile 'de Árbol' presentaron valores negativos para la desviación de heterocigosidad de individuos dentro de accesiones ( $F_{IS}$ ) (Cuadro 3.3), lo que indicó la predominancia de heterocigotos. Tal condición de exogamia puede ser explicada porque en sus poblaciones naturales el intercambio génico es mayor que con materiales cultivados. Así, los valores de exogamia obtenidos por Monteiro *et al.* (2013) indican que las poblaciones silvestres de *C. annuum* L., con -0.775 muestran un valor mayor que el encontrado en

poblaciones silvestres de *C. chinense*, lo que mostró diferentes distribuciones de diversidad entre especies silvestres.

De manera contraria, las poblaciones nativas presentaron valores positivos  $F_{IS}$  con un promedio de 0.217. Es decir, estas poblaciones tendieron a acumular homocigotos y por tanto muestran endogamia. La mayor magnitud de  $F_{IS}$  (0.315) fue observada en Chile 'Guajillo', lo que indica una alta cantidad de homocigotos en los individuos, mientras que los valores de  $F_{IS}$  observados en los tipos 'Pasilla' y 'Puya' indican mayor abundancia de heterocigotos.

**Cuadro 3.3. Estructura genética de poblaciones nativas y germoplasma silvestre de *C. annuum* L. a partir de los estadísticos F de Wright calculados con 19 loci de microsatélites.**

Tipo de Chile	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$
'Guajillo'	0.315	0.402	0.127
'Pasilla'	0.187	0.271	0.103
'Puya'	0.150	0.269	0.141
'de Árbol'	-0.238	-0.238	–
'Piquín'	-0.228	-0.228	–
<b>General</b>	<b>0.037</b>	<b>0.095</b>	<b>0.123</b>

$F_{IS}$  = Desviación de heterocigosidad dentro de accesiones;  $F_{IT}$  = Efecto de endogamia de un individuo con respecto a la población entera;  $F_{ST}$  = Coeficiente global de endogamia.

Los valores de ( $F_{IT}$ ) mostraron mayor presencia de homocigotos en los chiles 'Guajillo', 'Pasilla' y 'Puya', contrario a los valores observados en los chiles 'de Árbol' y 'Piquín' (-0.238 y -0.228, respectivamente) que presentan más heterocigotos. El Chile

'Guajillo' mostró los valores más altos para  $F_{IS}$  y  $F_{IT}$  y, por tanto mayor número de homocigotos y más pérdida de heterocigosidad. De acuerdo con Pacheco-Olvera *et al.* (2012), la domesticación de las poblaciones nativas ha incidido fuertemente en la modificación de su variación genética, en comparación con las poblaciones naturales.

Frankham *et al.* (2002) consideran que un valor superior a 0.15 en la  $F_{ST}$  implica alta diferenciación. Por tanto, los resultados aquí obtenidos muestran diferenciación genética moderada entre las poblaciones nativas tipo 'Guajillo', 'Pasilla' y 'Puya' (0.127, 0.103 y 0.141, respectivamente). Con una  $F_{ST}$  promedio de 0.124 para todos los tipos de chile, se infiere que 87.6 % de la variación genética total ocurre dentro de las poblaciones y sólo 12.4 % entre ellas. Estos resultados son similares a los reportados por Contreras *et al.* (2011) en poblaciones locales de chile ancho ( $F_{ST} = 0.134$ ) y a la distribución de la diversidad identificada por Aguilar-Meléndez *et al.* (2009) en poblaciones mexicanas a través del análisis de los loci *Dhn*, *G3pdh* y *waxy*, que presentaron un valor promedio de  $F_{ST} = 0.153$ , que indican alta diversidad a nivel intrapoblacional; sin embargo, el valor promedio  $F_{ST}$  aquí obtenido fue menor al observado por Castañón-Nájera *et al.* (2014) en poblaciones locales de Tabasco y Tamaulipas, cuya diferenciación genética ( $G_{ST}$ ) fue de 0.373, que indica mayor variación inter poblacional.

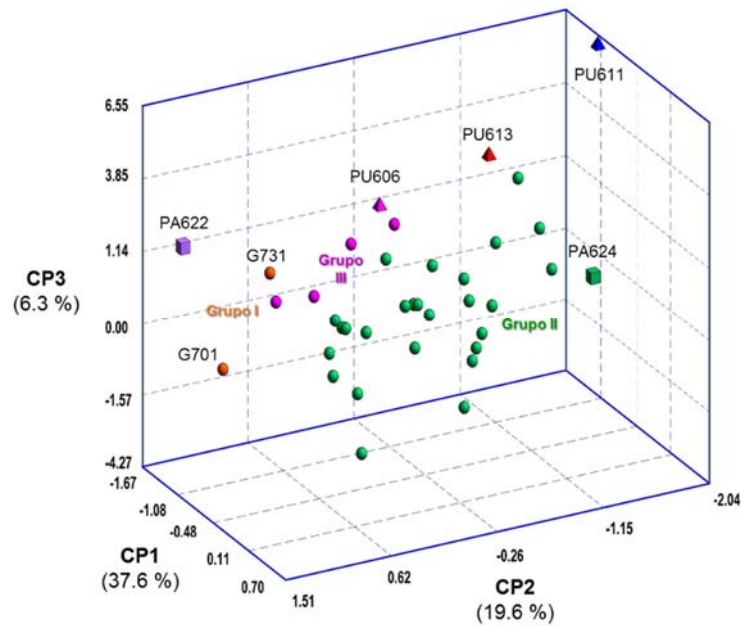
La mayor variabilidad genética se observó dentro de poblaciones, por lo que la selección recurrente intrapoblacional sería una alternativa de mejoramiento genético más eficiente para el aprovechamiento de la diversidad genética de las poblaciones analizadas, con base en la consideración de que la respuesta a la selección reside en la diversidad genética intrapoblacional (Aktas *et al.*, 2009). La amplia variabilidad genética identificada en chile 'Guajillo' demuestra la posibilidad de obtener ganancias a partir de la selección.

## Relaciones genéticas y estructura poblacional

La distribución de la diversidad genética entre las poblaciones fue determinada a través del Análisis de Componentes Principales (ACP). La dispersión de las poblaciones de los chiles 'Guajillo', 'Pasilla' y 'Puya' fue representada en el espacio determinado por los tres primeros componentes principales (Figura 3.1) que en conjunto explicaron 63.6 % de la variación genética total para los 66 alelos seleccionados (Cuadro 3.4). El ACP se analizó con la información genética de las 39 poblaciones, pero sin graficar a los chiles 'de Árbol' y 'Piquín' (CP1=3.544; CP2=21.166; CP3=0.1701 y CP1=29.873; CP2=-3.071; CP3=-0.0806, respectivamente) no fueron graficados a fin de apreciar con mayor detalle la distribución de las 37 poblaciones restantes.

La dispersión de las poblaciones en el espacio tridimensional mostró alta variación genética. Las poblaciones de Chile 'Guajillo' formaron un complejo amplio y continuo pues cuentan con alta heterogeneidad alélica y variantes genéticas individuales, posiblemente inducidas por el manejo y selección por parte del agricultor.

Es de suponer que la formación del complejo 'Guajillo' resultó del intercambio y flujo genético entre sus poblaciones, el cual parece capaz de mantener sus alelos exclusivos dentro del tipo de Chile, lo cual fue favorecido por corta distancia geográfica, ya que todas sus poblaciones provienen de la misma región productora. La presencia de estos alelos únicos podría corresponder a ciertas adaptaciones como resultantes de la selección hacia condiciones adversas, así como por forma y picor del fruto y tamaño de planta, y, como señalan González-Pérez *et al.* (2014) la presencia e identificación de estos alelos únicos dentro de las poblaciones son importantes en la conservación de *Capsicum*.



**Figura 3.1. Dispersión de poblaciones de Chile con base en los tres primeros componentes principales derivados de 66 alelos seleccionados del análisis de 19 loci microsatélites. Tipo de Chile: 'Guajillo' (G, ○); 'Pasilla' (PA, □); 'Puya' (PU, Δ).**

La Figura 3.1 muestra de manera clara la definición de tres conjuntos dentro del complejo 'Guajillo', en el primer grupo las poblaciones G701 y G731 que presentaron mayor afinidad alélica, y se distinguieron del segundo conjunto que presentó la mayor densidad y conglomeración poblacional, correspondientes a 26 poblaciones tipo 'Guajillo' y una colecta de Chile 'Pasilla' (PA624). El Grupo III presentó agrupó sólo a cuatro poblaciones tipo 'Guajillo' junto a una colecta de Chile 'Puya' (PU606).

De manera contraria, dos poblaciones tipo 'Puya' y una accesión de Chile 'Pasilla' no mostraron relación cercana con el resto de las poblaciones; las colectas PU613 y PU611 se distinguieron claramente del complejo y formaron un cuarto agrupamiento bien diferenciado de Chile 'Guajillo', al igual que la accesión de Chile 'Pasilla' (PA624), que se comportó de

manera independiente y con poca similitud genética tanto con ‘Guajillo’ como con chile ‘Puya’.

**Cuadro 3.4. Variación explicada y acumulada y alelos de mayor influencia sobre los primeros tres componentes principales generados a partir de 66 alelos seleccionados para 19 loci de microsatélites en poblaciones nativas y germoplasma silvestre de *C. annuum* L.**

CP	Variación explicada (%)	Variación acumulada (%)	Alelos con mayor aporte al componente
1	37.6	37.6	<i>Hpms 1-6 A, Hpms AT2-14 C, Hpms 1-5 A, Hpms 1-5 C, Hpms 2-13 I, Hpms 1-172 A, Hpms 1-172 C, CANO10950 D, HpmsCASIG19 A, Hpms 2-24 D, Hpms 2-2 E, Hpms 1-173 A, Hpms 1-143 B, Hpms 1-143 D, Hpms 1-214 E, Hpms AT2-14 B, Hpms 1-274 B, Hpms 1-173 C, HpmsCASIG19 G, Hpms 1-214 A, CM0005 B, CM0005 C, Hpms 1-143 E, Hpms 1-6 C.</i>
2	19.6	57.2	<i>Hpms 2-13 A, Hpms 1-172 B, HpmsCASIG19 H, Hpms 2-24 E, Hpms 2-2 A, Hpms 2-2 D, Hpms 1-214 C, Hpms 1-214 G, Hpms 1-143 A, Hpms 1-274 A, Hpms 1-172 F, Hpms 1-172 K, Hpms 1-143 E.</i>
3	6.3	63.6	<i>CANO10950 A, CANO10950 B, HpmsCASIG19 E, Hpms 1-6 B, Hpms 1-173 D.</i>

CP= Componente principal.

En el mismo sentido, en PU613 y PU611 se apreció una divergencia clara entre ambas colectas y con los demás grupos. La divergencia de PU613, PU611y PA624 con chile

‘Guajillo’ podría corresponder al poco intercambio genético, así como a patrones de selección y adaptaciones específicas.

Las colectas PU606 y PA622 compartieron mayor parecido genético con ‘Guajillo’. Estos tres tipos de chile son sembrados comúnmente juntos (Kraft *et al.*, 2014), y presentan diferentes grados de polinización cruzada estimada con base en intervalos de alogamia que varían de 2 a 96 % (Votava *et al.*, 2005). La capacidad alógama de *C. annuum* L. ha promovido alta variación genética observada en los tipos cultivados del género (Lefebvre *et al.*, 1993), favorecida por la poca distancia entre cultivares (Raw, 2000).

La capacidad de polinización abierta en *C. annuum* L., comparada con otras especies consideradas autógamas es ampliamente variable (Pickersgill, 1997). Estos eventos de polinización cruzada podrían haber modificado la identidad genética de las poblaciones PU606 y PA622, que son cultivadas de manera conjunta y por tanto haberse suscitado intercambio genético, lo que derivó en un parecido genético y alelos compartidos. En este sentido, Votava *et al.* (2005) señalan que los eventos polinización cruzada podrían cambiar la identidad genética de las poblaciones nativas.

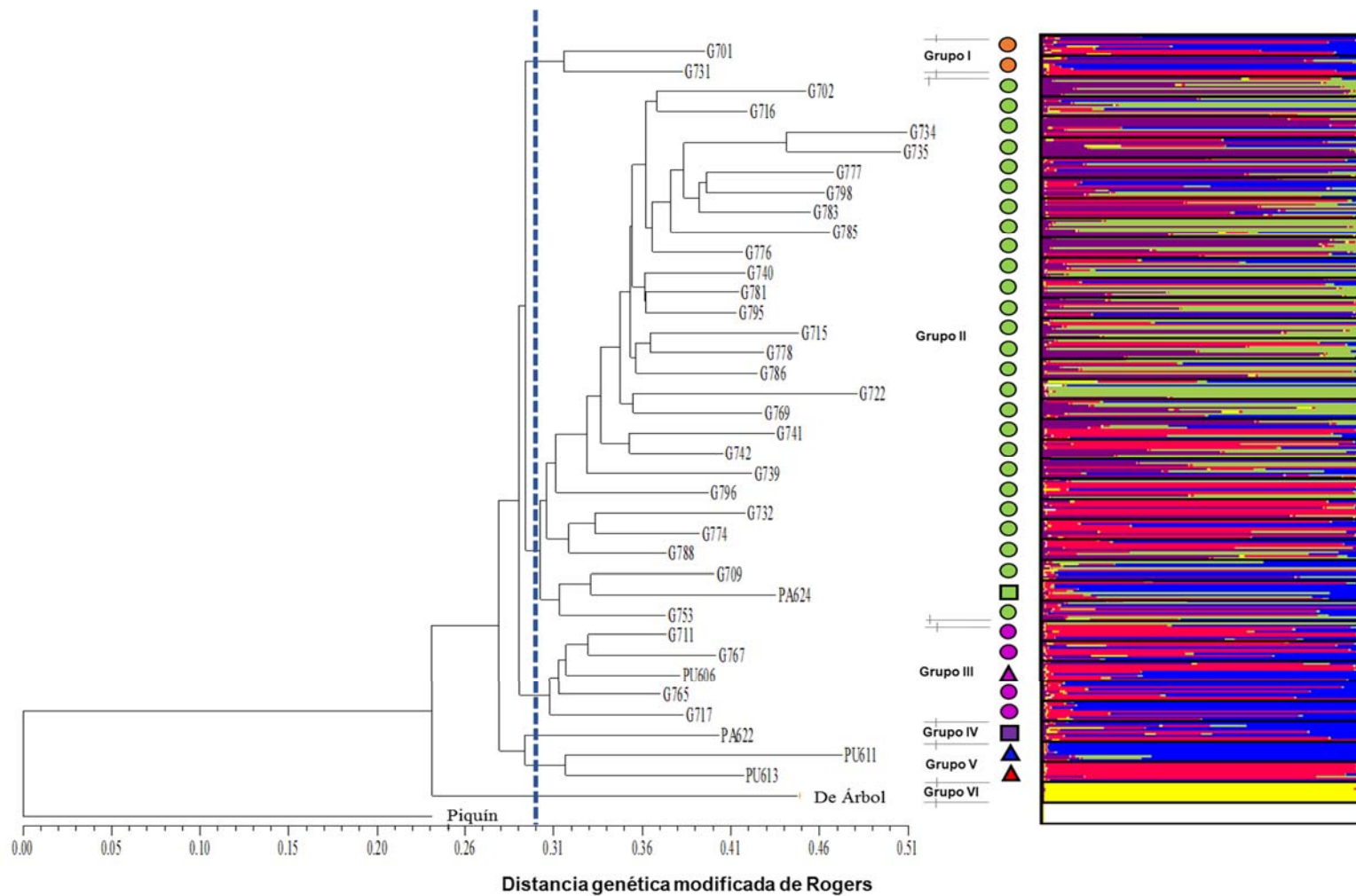
El árbol filogenético generado a partir de 66 alelos seleccionados (Figura 3.2) mostró una separación clara del germoplasma silvestre con respecto a los chiles cultivados, y estos últimos a su vez fueron subdivididos en: i) la colecta única de chile ‘de Árbol’ y ii) el conjunto amplio de chiles ‘Guajillo’, ‘Pasilla’ y ‘Puya’, cuyo agrupamiento corresponde a características semejantes de fruto y planta y, a un posible parentesco genético derivado de una región de domesticación simpátrica común en el pasado. El grupo externo ‘Piquín’ se



diferenció de todas las demás accesiones, presumiblemente por ser el antecesor de las poblaciones de chile cultivado como postuló Pickersgill (1971).

Al igual que en el gráfico tridimensional de componentes principales (Figura 3.1), se observó que las poblaciones G701 y G731 presentaron alta cercanía genética y tal similaridad las reunió en el Grupo I. En cambio, las 26 poblaciones del tipo 'Guajillo' del Grupo II presentaron mayor parecido genético con la población 'Pasilla' (PA624). Cuatro accesiones de 'Guajillo' (G711, G717, G765 y G767) mostraron mayor relación genética con la colecta PU606, e integraron al Grupo III. La población PA622 presentó alta diferenciación (Grupo IV), al igual que PU613 y PU611 aunque estas dos últimas poblaciones mostraron alta similitud entre ellas y conformaron al Grupo V.

Las diferencias genéticas entre las poblaciones analizadas incidieron en la separación de los grupos poblacionales. Cada agrupamiento mostró una clara diferenciación entre ellos debido a su variación alélica particular. Tanto el chile 'Guajillo' como el resto de chiles analizados presentaron variabilidad y diferenciación genética. Las poblaciones PA624 y PU606 presentaron mayor parecido genético con este tipo de chile, mientras que las accesiones de 'Puya' (PU611, PU613) y PA622 de 'Pasilla'), fueron más divergentes con el tipo 'Guajillo'. Es probable entonces que el flujo genético entre las poblaciones divergentes y las de chile 'Guajillo' sea pobre y que su manejo haya sido dirigido hacia atributos particulares diferentes a las características de chile 'Guajillo'.



**Figura 3.2.** Árbol filogenético de poblaciones nativas y silvestre de *C. annuum* a partir de 19 *loci* microsatélites, distancias modificadas de Rogers y el método de agrupamiento de Neighbor Joining y Estructura poblacional de genotipos de Chile (K=6) al lado derecho. Tipo de Chile = 'Guajillo' (G); 'Pasilla' (PA); 'Puya' (PU), 'De Árbol'; 'Piquín'.

La distancia genética promedio entre accesiones fue de 0.135. Con respecto a la posición basal del filograma, la población G765 mostró la menor divergencia evolutiva, con un valor de 0.37 de distancia genética, seguido de G711, G753 y G778 que mostraron un valor semejante (0.38). La diferencia evolutiva entre las poblaciones menos divergentes y el germoplasma ancestral se presentó en el intervalo de 0.24 a 0.37.

Esto implica que debieron haber ocurrido múltiples procesos evolutivos para llegar a la definición y selección de características de chile 'Guajillo' con una separación genética de 0.12 con respecto al germoplasma silvestre. Tan corta separación entre el germoplasma silvestre y los tipos nativos 'Guajillo' muestra la conservación de información genética en concordancia con la selección de ciertas características en su proceso de domesticación. Así en variedades de paprika se ha encontrado a través del uso del ITS nrDNA una relación estrecha entre las relaciones filogenéticas y el color del fruto (Sun *et al.*, 2014).

Por otra parte, las poblaciones con mayor divergencia fueron PU611 (0.48), G722 (0.49), G734 y G735 (0.51, ambos) presentaron valores con mayor divergencia. La separación entre poblaciones varió de 0.37 a 0.51, lo que indicó poca conservación genética, valores que contrastan con lo reportado por Castañón-Nájera *et al.* (2014), quienes encontraron valores pequeños (0.021 a 0.072) de separación en poblaciones silvestres y semi silvestres de chile procedente de diferentes regiones de Tabasco.

Para una mejor comprensión de las relaciones genéticas dentro y entre los tipos de chile evaluados se analizó la diversidad alélica a través del análisis bayesiano de la estructura poblacional con el programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2007). El número de agrupamientos poblacionales ( $K$ ) fue seleccionado con base al estadístico  $\Delta K$  que mostró el máximo valor estadístico en  $K=6$

(Figura 3.2, lado derecho). Este análisis fue consistente con el filograma y los patrones de agrupamiento generados en el ACP. Las accesiones individuales de Chile de 'Árbol' y 'Piquín' fueron asignadas al Grupo amarillo y Grupo externo (Blanco), respectivamente. Las poblaciones PU613 y PU611 (rojo y azul, respectivamente) fueron diferenciadas con mayor precisión con base en su patrón alélico y formaron dos grupos poblacionales distintos. La población PA622, presentó una mezcla alélica que presenta con alelos afines a las poblaciones PU613, PU611 y de Chile de 'Árbol' (rojo, azul y amarillo, respectivamente), aunque la proporción de alelos comunes con Chile de 'Árbol' fue menor, al igual que la cantidad de alelos presentes en las poblaciones de Chile 'Guajillo' (morado y verde).

Se confirmó también que las poblaciones con mayor variabilidad genética correspondieron al Chile tipo 'Guajillo', las cuales que presentaron un amplio mosaico genético, en las que se distinguen los alelos afines a la población PU613 (rojo) y alelos propios asignados a los colores verde y morado, además de bajas proporciones de alelos comunes con la colecta de Chile de 'Árbol'. En todos los casos se observan alelos comunes con la colecta PU611 (azul). Esto indica que el Chile 'Guajillo' ha tenido flujo genético con los tipos 'Pasilla' y 'Puya', con las cuales comparten alelos comunes como resultado del intercambio genético, además de tener todas ellas un ancestro silvestre común. Se infiere nuevamente que la amplia variabilidad genética de Chile 'Guajillo' correspondió a patrones divergentes en su selección.

La accesión silvestre 'Piquín' mostró poca cercanía genética con los materiales cultivados, posiblemente por su origen geográfico, y presentó baja proporción de alelos afines con Chile de 'Árbol' (amarillo) y del resto de las poblaciones (azul), lo que muestra que las poblaciones de los Chiles cultivados han acopiado genes característicos propios durante su proceso de domesticación. No obstante, los alelos de Chile 'Piquín' (blanco) están presentes en un amplio número de

accesiones, y sobre todo en las poblaciones G732 y G722, lo que permite suponer la ocurrencia de eventos de introgresión genética asociados con la presencia de alelos comunes con el germoplasma silvestre.

Un mayor intercambio genético atribuido a la alta capacidad de cruzamiento dentro de las poblaciones de Chile 'Guajillo' pudo dar lugar a la transferencia de alelos únicos dentro del tipo; sus alelos exclusivos son mantenidos dentro de sus poblaciones y sus combinaciones genéticas han definido sus patrones alélicos particulares identificados, diversificación que corresponde a los múltiples objetivos y necesidades antropocéntricas.

La divergencia dentro de los tipos de chiles cultivados corresponde a eventos de domesticación múltiples, así como a las preferencias antropocéntricas y a las condiciones ambientales donde se desarrolla (Ortiz *et al.*, 2010). Se ha planteado que el Chile 'Puya' podría ser una variante de 'Guajillo' (Aguilar *et al.*, 2010); sin embargo, los resultados aquí obtenidos no mostraron derivación filogenética, ya que ambos chiles comparten alelos comunes y presentan cierto nivel de flujo genético. No obstante, las poblaciones PU611 y PU613 mostraron alta divergencia con 'Guajillo' y homología genética entre sus individuos, por lo que se requiere de mayor cantidad de muestras tanto de Chile 'Puya' como del tipo 'Pasilla' para identificar una relación filogenética clara.

Por otra parte, la homología entre los individuos de las accesiones PU611 y PU613, así como su divergencia genética con las otras poblaciones estudiadas, podría asociarse a efectos de geitonogamia (polinización entre flores distintas pero de la misma planta), lo que resulta en un intercambio genético pobre (Oyama *et al.*, 2006). Si bien las accesiones PU611 y PU613

presentaron alta similitud genética, la clara divergencia entre ellas parece indicar que fueron domesticadas bajo diferentes criterios de selección.

### **3.6. Conclusiones**

La información alélica y la diversidad genética encontrada fue amplia en las poblaciones nativas de chiles 'Guajillo' y del resto de germoplasma nativo analizado. El análisis molecular reveló amplia diversidad intrapoblacional en chile 'Guajillo'. Se observaron divergencias genéticas dentro de las poblaciones de chile 'Guajillo', cuyas combinaciones alélicas y alelos exclusivos se asociaron con morfotipos particulares. Estas poblaciones exhibieron relación cercana con algunas accesiones tipo 'Pasilla' y 'Puya', lo que mostró flujo e intercambio genético.

### **3.7. Literatura citada**

Aguilar-Meléndez, A., P. L. Morrell, M. L. Roose and S.-C. Kim. 2009. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from México. *American Journal of Botany* 96:1190-1202.

Aguilar R., V. H., T. Corona T., P. López L., L. Latournerie M., M. Ramírez M., H. Villalón M. y J. A. Aguilar C. 2010. Los Chiles de México y su Distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 114 p.

Ahn, Y.-K., S. Tripathi, J.-H. Kim, Y.-I. Cho, H.-E. Lee, D.-S. Kim, J. G. Woo and M.-K. Yoon. 2014. Microsatellite marker information from high-throughput next-generation sequence data of *Capsicum annuum* varieties Mandarin and Blackcluster. *Scientia Horticulturae* 170:123-130.

- Aktas, H., K. Abak and S. Sensoy. 2009. Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. *African Journal of Biotechnology* 8:4378-4386.
- Albrecht, E., D. Zhang, R. A. Saftner and J. R. Stommel. 2012. Genetic diversity and population structure of *Capsicum baccatum* genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59:517-538.
- Castañón-Nájera, G., M. Ramírez-Meraz, N. Mayek-Pérez, A. C. García y R. Ruiz-Salazar. 2014. Molecular comparison of wild and commercial chilies from Tamaulipas and Tabasco, México. *Pakistan Journal of Botany* 46:2101-2106.
- Contreras T., A.R., H. López S., A. Santacruz V., E. Valadez M., V. H. Aguilar R., T. Corona T., y P. A. López. 2011. Diversidad genética en México de variedades nativas de Chile ‘Poblano’ mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34:225-232.
- Dhaliwal, M. S., A. Yadav and S. K. Jindal. 2014. Molecular characterization and diversity analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology* 13:3137-3143.
- Earl, D. A. and B. M. vonHoldt. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4:359-361.
- Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.

Frankham, R., J. D. Ballou and D. A. Briscoe. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 617 p.

Gémes Juhász, A., A. Stágel, S. Ács, L. Zatykó and I. Nagy. 2006. Microsatellite markers and automated fragment analysis techniques for efficient and precise hybrid identification and genetic purity testing in pepper (*Capsicum annuum* L.). Acta Agronomica Hungarica 54:141-146.

González-Jara, P., A. Moreno-Letelier, A. Fraile, D. Piñero and F. García-Arenal. 2011. Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. PLoS One 6: e28715. DOI: 10.1371/journal.pone.0028715.

González-Pérez, S., A. Garcés-Claver, C. Mallor, L. E. Sáenz de Miera, O. Fayos, F. Pomar, F. Merino and C. Silvar. 2014. New insights into *Capsicum* spp relatedness and the diversification process of *Capsicum annuum* in Spain. PloS One 9: 1-14. DOI: 10.1371/journal.pone.0116276.

Hanáček, P., T. Vyhnánek, M. Rohrer, J. Cieslarová and H. Stavělíková. 2009. DNA polymorphism in genetic resources of red pepper using microsatellite markers. Horticultural Science (Prague) 36:127-132.

Hernández-Verdugo, S., R. Luna-Reyes, R and K. Oyama. 2001. Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from México. Plant Systematics and Evolution 226:129-142.

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.

Hernández V., S., R. G. López E., P. Sánchez P., M. Villarreal R., S. Parra T., F. Porras y J. L. Corrales M. 2008. Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de Chile del noroeste de México. Revista Fitotecnia Mexicana 31:323-330.

Hernández-Verdugo, S., F. Porras, A. Pacheco-Olvera, R. G. López-España, M. Villarreal-Romero, S. Parra-Terraza y T. Osuna Enciso. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de Chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. Polibotánica 33:175-191.

Hill, T. A., H. Ashrafi, S. Reyes-Chin-Wo, J. Yao, K. Stoffel, M-J. Truco, A. Kozik, R.W. Michelmore and A. Van Deynze. 2013. Characterization of *Capsicum annuum* genetic diversity and population structure based on parallel polymorphism discovery with a 30K unigene pepper genechip. PLoS One 8:1-17. DOI: 10.1371/journal.pone.0056200.

Ibarra-Torres, P., E. Valadez-Moctezuma, M. Pérez-Grajales, J. Rodríguez-Campos and M. E. Jaramillo-Flores. 2015. Inter- and intraspecific differentiation of *Capsicum annuum* and *Capsicum pubescens* using ISSR and SSR markers. Scientia Horticulturae 181:137-146.

Ibiza V. P., J. Blanca, J. Cañizarez and F. Nuez. 2012. Taxonomy and genetic diversity of domesticated *Capsicum* species in the Andean region. Genet Resour Crop Evolution 59:1077-1088.

Kalia, R. K., M. K. Rai, S. Kalia, R. Singh and A. K. Dhawan. 2011. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. Euphytica 177:309-334.

- Kraft, K. H., J. J. Luna-Ruiz and P. Gepts. 2013. A new collection of wild populations of *Capsicum* in Mexico and the southern United States. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60:225-232.
- Kraft K. H., C. H. Brown, G. P. Nabhan, E. Luedeling, J. J. Luna R., G. C. d'Eeckenbrugge, R. J. Hijmans and P. Gepts. 2014. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111:6165-6170.
- Kumar, S., R. Kumar and J. Singh (2006). Cayenne/American pepper. *In: Handbook of Herbs and Spices*. Vol. 3. Peter, K. V. (ed.). CRC Press. Cambridge, England. pp: 299-312.
- Lee, J. M., S. H. Nahm, Y. M. Kim and 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 and M. Rives. 1993. Nuclear RFLP between pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Euphytica*71:189-199.
- Loaiza-Figueroa, F., K. Ritland, J. A. Laborde C. and S. D. Tanksley. 1989. Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (*Solanaceae*) in México. *Plant Systematics and Evolution* 165:159-188.
- Horst, L. y G. Wenzel. 2007. Molecular marker systems in plant breeding and crop improvement Vol. 55. Springer Science & Business Media. Berlin, Heidelberg, New York. 480 p.
- Mimura, Y., T. Inoue, Y. Minamiyama and N. Kubo. 2012. An SSR-based genetic map of pepper (*Capsicum annuum* L.) serves as an anchor for the alignment of major pepper maps. *Breeding Science* 62:93-98.

- Minamiyama, Y., M. Tsuru and M. Hirai. 2006. An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding* 8:157-169.
- Monteiro, E. R., A. R. Bronzato, G. R. Orasmo, A. C. A. Lopes, R. L. F. Gomes, C. A. Mangolin and M. F. P. S. Machado. 2013. Genetic diversity analysis of *Capsicum* spp germplasm bank accessions based on  $\alpha/\beta$ -esterase polymorphism. *Genetics and Molecular Research* 12:1155-1167.
- Moreno-Pérez, E. C., C. H. Avendaño-Arrazate, R. Mora-Aguilar, J. Cadena-Iñiguez, V. H. Aguilar-Rincón y J. F. Aguirre-Medina. 2011. Diversidad morfológica en colectas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) del centro-norte de México. *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 17:23-30.
- Moses, M., P. Umaharan and S. Dayanandan. 2014. Microsatellite based analysis of the genetic structure and diversity of *Capsicum chinense* in the Neotropics. *Genetic Resources and Crop Evolution* 61:741-755.
- Nagy, I., A. Stágel, Z. Sasvári, M. Röder and M. Ganai. 2007. Development, characterization, and transferability to other Solanaceae of microsatellite markers in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Genome* 50:668-688.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America* 70:3321-3323.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press. New York. 512 p.
- Nicolai, M., M. Cantet, V. Lefebvre, A.-M. Sage-Palloix and A. Palloix. 2013. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin

86 of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60:2375-2390.

Nimmakayala, P., V. L. Abburi, L. Abburi, S. B. Alaparthi, R. Cantrell, M. Park, D. Choi, G. Hankins, S. Malkaram and U. K. Reddy. 2014. Linkage disequilibrium and population-structure analysis among *Capsicum annuum* L. cultivars for use in association mapping. *Molecular Genetics and Genomics* 289:513-521.

Ortiz, R., F. Delgado de la Flor, G. Alvarado and 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 and A. Casas. 2006. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from northwestern Mexico analyzed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53:553-562.

Pacheco-Olvera, A., S. Hernández-Verdugo, V. Rocha-Ramírez, A. González-Rodríguez and K. Oyama. 2012. Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern México analyzed by microsatellite markers. *Crop Science* 52:231-241.

Patel, A. S., N. Sasidharan, A. G. Vala and V. Kumar. 2011. Genetic relation in *Capsicum annuum* [L.] cultivars through micro satellite markers: SSR and ISSR. *Electronic Journal of Plant Breeding* 2: 67-76.

Perry, L., R. Dickau, S. Zarrillo, I. Holst, D. M. Pearsall, D. R. Piperno, M. J. Berman, R. G. Cooke, K. Rademaker, A. J. Ranere, J. S. Raymond, D. H. Sandweiss, F. Scaramelli, K. Tarble and

- J. A. Zeidler. 2007. Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science* 315:986-988.
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). *Evolution* 25: 683-691.
- Pickersgill, B. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129-133.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany* 100:925-940.
- Portis, E., I. Nagy, Z. Sasvári, A. Stágel, L. Barchi and S. Lanteri. 2007. The design of *Capsicum* spp. SSR assays via analysis of *in silico* DNA sequence, and their potential utility for genetic mapping. *Plant Science* 172:640-648.
- Pritchard, J. K., X. Wen and D. Falush. 2009. Documentation for Structure software: Version 2.3. Department of Human Genetics, University of Chicago; Department of Statistics, University of Oxford. Chicago. 38 p.
- Raw, A. 2000. Foraging behaviour of wild bees at hot pepper flowers (*Capsicum annuum*) and its possible influence on cross pollination. *Annals of Botany* 85:487-492.
- Rohlf, F. J. 2009. NTSYS pc: Numerical taxonomy system, version 2.21c. Exeter Publishing, Setauket, New York.
- Rosenberg, N. A. 2004. DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes* 4:137-138.

- Saitou, N., y M. Nei. 1987. The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4:406-425.
- SAS Institute. 2011. SAS User's Guide: Statistics. Version 9.3. Statistic Analysis System Institute. Cary, North Carolina, USA. 1032 p.
- Smith, S. H. 2015. In the shadow of a pepper-centric historiography: understanding the global diffusion of capsicums in the sixteenth and seventeenth centuries. *Journal of Ethnopharmacology* 167:64-77.
- Sugita, T., Y. Semi, H. Sawada, Y. Utoyama, Y. Hosomi, E. Yoshimoto, Y. Maehata, H. Fukuoka, R. Nagata and A. Ohyama. 2013. Development of simple sequence repeat markers and construction of a high-density linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding* 31:909-920.
- Sun, Y.-L., I.-L Choi, Y.-B. Lee, K. Y. Choi, S.-K. Hong and H. M. Kang. 2014. Molecular diversity and phylogentic analysis of *Capsicum annuum* varieties using the nrDNA ITS region. *Scientia Horticulturae* 165:336-343.
- Tam, S. M., C. Mhiri, A. Vogelaar, M. Kerkveld, S. R. Pearce and 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.
- Thul, S. T., M. P. Darokar, A. K. Shasany and S. P. S. Khanuja. 2012. Molecular profiling for genetic variability in *Capsicum* species based on ISSR and RAPD markers. *Molecular biotechnology* 51:137-147.

- Votava, E. J., G. P. Nabhan and P. W. Bosland. 2002. Genetic diversity and similarity revealed via molecular analysis among and within an *in situ* population and *ex situ* accessions of chiltepín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Conservation Genetics* 3:123-129.
- Votava, E. J., J. B. Baral and P. W. Bosland. 2005. Genetic diversity of chile (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) landraces from northern New Mexico, Colorado, and Mexico. *Economic Botany* 59:8-17.
- Wahyuni, Y., A.-R. Ballester, E. Sudarmonowati, R. J. Bino y A. G. Bovy. 2013. Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet. *Journal of Natural Products* 76:783-793.
- Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.
- Wu, F., N. T. Eannetta, Y. Xu, R. Durrett, M. Mazourek, M. M. Jahn and S. D. Tanksley. 2009. A COSII genetic map of the pepper genome provides a detailed picture of synteny with tomato and new insights into recent chromosome evolution in the genus *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics* 118:1279-1293.
- Yeh, F. C., R.-C. Yang and T. Boyle. 1999. POPGENE versión 1.31. Microsoft Windows-based Freeware for Population Genetic Analysis. Quick User Guide. University of Alberta and Centre for International Forestry Research, Edmonton, Canada. 28 p.
- Yi, G., J. M. Lee, S. Lee, D. Choi and B.-D. Kim. 2006. Exploitation of pepper EST-SSRs and an SSR-based linkage map. *Theoretical and Applied Genetics* 114:113-130.

Zaki, N., A. Hakmaoui, A. Ouatmane, A. Hasib and J. P. Fernández-Trujillo. 2013. Bioactive components and antioxidant activity of Moroccan paprika (*Capsicum annuum* L.) at different period of harvesting and processing. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare 3:1-8.



## DISCUSIÓN GENERAL

La caracterización morfológica de chile 'Guajillo' y otros tipos poblacionales de chiles secos indicó que las variables de fruto presentaron mayor capacidad de discriminación que los atributos de planta y estructuras florales, en concordancia con lo señalado por Latournerie *et al.* (2002) y Castañón-Nájera *et al.* (2008), cuyos estudios señalaron que la mayor diferenciación dentro y entre morfotipos de chile correspondió a la contribución de las características de fruto.

El ancho, longitud, peso y forma del fruto así como la longitud de placenta y forma del pedicelo explicaron en mayor grado la variabilidad fenotípica observada, y tales características están asociadas con la aceptabilidad del fruto, el cual varía de manera amplia a nivel inter e intra especie. La mayor variabilidad del fruto de chile se observa en sus atributos de forma, tamaño, color y picor (Paran y van der Knaap, 2007), variabilidad que se atribuye a la selección en el proceso de domesticación en función de las preferencias antropocéntricas de uso y consumo y, a las adaptaciones ambientales diversas. Este polimorfismo es típico de las especies domesticadas (Medina *et al.*, 2006), donde la selección sobre los atributos agromorfológicos y principalmente de fruto, tanto entre como dentro de cada población han determinado el grado de variabilidad genética (Castañón-Nájera *et al.*, 2008).

Por otra parte la dispersión geográfica y los altos niveles de polinización cruzada y de adaptabilidad incrementaron las posibilidades de flujo genético entre y dentro de las poblaciones domesticadas, lo que podría haber incidido en la amplia variación morfológica, sobre todo en las características de fruto (Medina *et al.*, 2006). En este sentido, múltiples factores tales como la capacidad de intercambio genético conferido por su sistema reproductivo, nivel de ploidia,

adaptación, diversidad de agrosistemas y las necesidades humana, son lo que determinan los patrones de diversidad genética de los cultivos (Gepts, 2006).

En la descripción de la diversidad fenotípica de Chile 'Guajillo' se observó que las poblaciones comparten rasgos comunes, pero también existen entre ellas variantes de las características propias; es decir, morfotipos particulares; esta variabilidad está asociada con la selección diferencial de éstas y otras características como sabor, picor y resistencia a factores bióticos y abióticos, y su adaptación a diferentes nichos ecológicos que han promovido la amplia diversidad identificada. En este sentido, Votava *et al.* (2005) señalaron que procesos históricos, ambientales y culturales tienen una función importante en la dinámica de las poblaciones locales.

Según Portis *et al.* (2004) indican que los agricultores a menudo ejercen una fuerte selección para incorporar características de interés preferencial a partir de pocas semillas obtenidas de un número limitado de plantas, lo que podría llevar a la erosión de los acervos genéticos nativos de Chile. Por su parte, Geleta *et al.* (2005) y Aktas *et al.* (2009) proponen ampliar la diversidad genética de poblaciones nativas de Chile con germoplasma silvestre; sin embargo, las variedades locales analizadas en dichos estudios descienden de una base genética menor (muestra pequeña), en comparación con las poblaciones locales de *C. annuum* mexicanas que presentan mayor diversidad genética (González-Pérez *et al.*, 2014).

En los genotipos analizados se observó heterogeneidad en el contenido de capsaicina, dihidrocapsaicina, capsaicinoides totales y picor, así como en contenido individual y total de carotenoides y de vitamina A. Si bien se ha reportado que el contenido de capsaicina usualmente es el de mayor abundancia (Barbero *et al.*, 2014), aquí se encontró que en la mayor parte de los chiles analizados el contenido de dihidrocapsaicina fue superior al de capsaicina.

Respecto a la biosíntesis, acumulación y efecto del ambiente sobre los contenidos de capsaicinoides, Garcés-Claver *et al.* (2006) y González-Zamora *et al.* (2013) han señalado que depende de la variedad y condiciones ambientales donde se desarrolla el cultivo. Esto fue confirmado por Meckelmann *et al.* (2014) quienes identificaron un comportamiento diferencial en la composición de capsaicinoides, flavonoides, tocoferoles y color, como resultado de la interacción genético ambiental; sin embargo, algunas poblaciones evaluadas no mostraron este efecto, por lo que se supone una respuesta individual a los cambios en las condiciones de desarrollo.

El sabor peculiar de chile 'Guajillo' es relacionado con bajo picor, referida como principal criterio de utilización en la gastronomía regional, y este mismo patrón se ha identificado en la asociación de el contenido de capsaicinoides y las preferencias de uso en morfotipos de chile de Yucatán (Cázares-Sánchez *et al.*, 2005), así como en chiles nativos de Oaxaca, los cuales son preferidos por su sabor y grado de picor en formas peculiares de consumo (Castellón-Martínez *et al.*, 2012).

Los chiles aquí analizados expresaron de manera general poco picor, lo que corresponde con el tipo preferido. Desde el punto de vista de la planta, los compuestos secundarios juegan un papel importante en su adaptación al ambiente y en su respuesta a las condiciones de estrés (Akula y Ravishankar, 2011). En este contexto, la baja producción de capsaicinoides pudo corresponder a ventajas ambientales en el cultivo de estas poblaciones, haciendo innecesario la producción alta de capsaicinoides para contrarrestar los factores bióticos y abióticos adversos, cuya síntesis es mayor en condiciones de estrés (González-Zamora *et al.*, 2013).

Las poblaciones de 'Guajillo' presentaron el mayor contenido de carotenoides, sustancias que dan el color característico de cada chile (De Masi *et al.*, 2007) y que constituyen un atributo

organoléptico altamente relacionado con el criterio de selección para el consumo (Madosa *et al.*, 2009). Al igual que los capsaicinoides, los carotenoides son las variables de mayor importancia para el aprovechamiento de los frutos rojos de *Capsicum* (Kim *et al.*, 2002). El fruto del chile en sus variados morfotipos y formas de consumo, contienen cantidades importantes de carotenoides y capsaicinoides. En este trabajo el chile 'Guajillo' presentó altos valores en contenidos de carotenoides y principalmente de la fracción roja en la que la capsantina fue predominante, por tales características, las poblaciones de chile 'Guajillo' mostraron potencial de aprovechamiento tanto para usos industriales como agente antioxidante.

El aprovechamiento diferencial de cada tipo de chile entre las diversas localidades y productores ha propiciado la selección de sus características químicas y a su vez ha definido un patrón particular de sabor de acuerdo con cada región y cultura culinaria del país, además de usos farmacológicos, como el reportado por Frei *et al.* (1998) en *C. baccatum*. Las poblaciones de chile 'Guajillo' mostraron un patrón composicional propio, en el cual se lograron diferenciar variantes individuales, lo que indica que este recurso genético cultivado y mantenido por productores en la región de producción es una importante fuente de diversidad fitoquímica.

La variación y estructura genética de poblaciones de chile 'Guajillo' y tipos poblacionales colectados fue observada en plantas crecidas en la principal región productora del país. La información alélica y de diversidad genética analizada a través de microsatélites describió una amplia base genética. El chile 'Guajillo' mostró que la mayor parte de la diversidad genética se encuentra a nivel intrapoblacional, y que aun así existen también combinaciones alélicas y alelos exclusivos en morfotipos particulares. Los resultados derivados del presente estudio podrían utilizarse para diseñar estrategias más efectivas para el aprovechamiento genético de estas

poblaciones, y que la selección recurrente es el método más conveniente para obtener variedades mejoradas.

Los marcadores moleculares han sido utilizados con éxito en el género *Capsicum* en la selección de progenitores para la producción de híbridos, así como en la clasificación inter e intra específica y para análisis de distinción, homogeneidad y estabilidad (Kwon *et al.*, 2005). Los microsatélites son altamente útiles para la evaluación de la diversidad genética y su aplicación en la caracterización de la variabilidad genética de Chile hace efectiva la conservación y aprovechamiento de los recursos en programas de mejoramiento genético (Varshney *et al.*, 2005).

La heterogeneidad genética de Chile 'Guajillo' aquí observada está asociada a los porcentajes de alogamia que se han reportado en un intervalo de 7.6 a 38.6 % (Kwon *et al.*, 2005). La capacidad de entrecruzamiento de las poblaciones de Chile 'Guajillo' pudo dar lugar a la transferencia de alelos únicos dentro del tipo en función de los objetivos y necesidades antropocéntricas (Ortiz *et al.*, 2010), de modo que los alelos exclusivos han definido los patrones alélicos particulares aquí identificados. Es decir, la variabilidad registrada de los tipos de chiles cultivados corresponde a eventos de domesticación múltiples, así como a las preferencias antropocéntricas y a las condiciones ambientales donde se desarrolla el cultivo.

El tamaño, forma, color, picor así como la información alélica analizada en las poblaciones nativas de Chile 'Guajillo' separaron de manera clara a morfotipos particulares dentro del complejo. Los marcadores morfológicos son fuertemente influenciados por el ambiente y por ello la metodología es cuestionada, sin embargo la descripción de la variación fenotípica es importante para la selección de genotipos con base en características cuantitativas como forma y tamaño de fruto. Los microsatélites confirmaron la variabilidad en las poblaciones de Chile 'Guajillo'

observada a través de la caracterización morfológica y fitoquímica. Los tres estudios acerca de la diversidad genética de Chile 'Guajillo' mostraron alta consistencia en sus resultados y permitieron identificar la variabilidad y relación genética existente en este germoplasma de Chile.

#### LITERATURA GENERAL CITADA

- Aktas, H., K. Abak and S. Sensoy. 2009. Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. *African Journal of Biotechnology* 8:4378-4386.
- Barbero, G. F., A. G. Ruiz, A. Liázid, M. Palma, J. C. Vera and C. G. Barroso. 2014. Evolution of total and individual capsaicinoids in peppers during ripening of the Cayenne pepper plant (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry* 153:200-206.
- 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 International Journal of Experimental Botany* 77:189-202.
- Castellón-Martínez, É., J. L. Chávez-Servia, J. C. Carrillo-Rodríguez y A. M. Vera-Guzman. 2012. Preferencias de consumo de Chile (*Capsicum annuum* L.) nativos en los valles centrales de Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35 (Núm. Especial 5):27-35.
- Cázares-Sánchez, E., P. Ramírez-Vallejo, F. Castillo-González, R. M. Soto-Hernández, M. T. Rodríguez-González y J. L. Chávez-Servia. 2005. Capsaicinoides y preferencia de uso en diferentes morfotipos de Chile (*Capsicum annuum* L.) del centro-oriente de Yucatán. *Agrociencia* 39:627-638.

- Contreras T., A. R., H. López S., A. Santacruz Va., E. Valadez M., V. H. Aguilar R., T. Corona T., y P. A. López. 2011. Diversidad genética en México de variedades de chile ‘Poblano’ mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34:225-232.
- De Masi, L., P. Siviero, D. Castaldo, D. Cautela, C. Esposito and B. Laratta. 2007. Agronomic, chemical and genetic profiles of hot peppers (*Capsicum annuum* ssp.). *Molecular Nutrition & Food Research* 51:1053-1062.
- Frei, B., M. Baltisberger, O. Sticher and M. Heinrich. 1998. Medical ethnobotany of the Zapotecs of the Isthmus-Sierra (Oaxaca, Mexico): Documentation and assessment of indigenous uses. *Journal of Ethnopharmacology* 62:149-165.
- Garcés-Claver, A., M. S. Arnedo-Andrés, J. Abadia, R. Gil-Ortega and A. Álvarez-Fernández. 2006. Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum* fruits by liquid chromatography-electrospray/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:9303-9311.
- Geleta L. F., M. T. Labuschagne and C. D. Viljoen. 2005. Genetic variability in pepper (*Capsicum annuum* L.) estimated by morphological data and amplified fragment length polymorphism markers. *Biodiversity and Conservation* 14:2361-2375.
- Gepts P. 2006. Plant genetic resources conservation and utilization: the accomplishments and future of a societal insurance policy. *Crop Science* 46: 2278-2292.
- González-Jara, P., A. Moreno-Letelier, A. Fraile, D. Piñero y F. García-Arenal. 2011. Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. *PLoS One* 6:e28715. DOI: 10.1371/journal.pone.0028715.

- González-Pérez, S., A. Garcés-Claver, C. Mallor, L. E. Sáenz de Miera, O. Fayos, F. Pomar, F. Merino and C. Silvar. 2014. New insights into *Capsicum* spp relatedness and the diversification process of *Capsicum annuum* in Spain. PloS One 9:12, e116276. DOI: 10.1371/journal.pone.0116276.
- González-Zamora, A., E. Sierra-Campos, J. G. Luna-Ortega, R. Pérez-Morales, J. C. Rodríguez O. and J. L. García-Hernández. 2013. Characterization of different *Capsicum* varieties by evaluation of their capsaicin content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. Molecules 18:13471-13486.
- Kim, S., J.-B. Park and I.-K. Hwang. 2002. Quality attributes of various varieties of Korean red pepper powders (*Capsicum annuum* L.) and color stability during sunlight exposure. Journal of Food Science 67:2957-2961.
- 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 and 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.
- Latournerie, M. L., J. L. Chavéz S., M. Pérez P., G. Castañón N., S. A. Rodríguez H., L. M. Arias R. y P. Ramírez V. 2002. Valoración *in situ* de la diversidad morfológica de chiles (*Capsicum annuum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.) en Yaxcabá, Yucatán. Revista Fitotecnia Mexicana 25:25-33.



- Madosa, E., S. Ciulca, L. Sasu, G. Velicevici, C. Avădanei A. Ciulca and I. Friskan. 2009. Studies regarding breeding value of some long pepper local landraces. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology* 13:379-382.
- Meckelmann, S. W., D. W. Riegel, M. van Zonneveld, L. Ríos, K. Peña, E. Mueller-Seitz and M. Petz. 2015. Capsaicinoids, flavonoids, tocopherols, antioxidant capacity and color attributes in 23 native Peruvian chili peppers (*Capsicum spp.*) grown in three different locations. *European Food Research and Technology* 240:273-283.
- Medina, C. I., M. Lobo y A. F. Gómez. 2006. Variabilidad fenotípica en poblaciones de ají y pimentón de la colección colombiana del género *Capsicum*. *Revista Corpoica-Ciencia y Tecnología Agropecuaria* 7:25-39.
- Ortiz R., F. Delgado de la Flor, G. Alvarado and J. Crossa. 2010. Classifying vegetable genetic resources—A case study with domesticated *Capsicum spp.* *Scientia Horticulturae* 126:186-191.
- Pacheco-Olvera, A., S. Hernández-Verdugo, V. Rocha-Ramírez, A. González-Rodríguez and K. Oyama. 2012. Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern México analyzed by microsatellite markers. *Crop Science* 52:231-241.
- Paran I. and E. van der Knaap. 2007. Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *Journal of Experimental Botany* 58:3841-3852.
- Portis, E., A. Acquadro, C. Comino and S. Lanteri. 2004. Effect of farmers' seed selection on genetic variation of a landrace population of pepper (*Capsicum annuum* L.), grown in North-West Italy. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51:581-590.

Ramakrishna, A. and G. A. Ravishankar. 2011. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant signaling & Behavior* 6:1720-1731.

Varshney, R. K., A. Graner and M. E. Sorrells. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *TRENDS in Biotechnology* 23:48-55.

Votava, E. J., J. B. Baral and P. W. Bosland. 2005. Genetic diversity of chile (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) landraces from northern New Mexico, Colorado, and Mexico. *Economic Botany* 59:8-17.

## CONCLUSIONES GENERALES

En el presente estudio se postuló que la diversidad de chile nativo tipo 'Guajillo' es amplia a nivel morfológico, fitoquímico y genético. Para probar la hipótesis anterior se analizaron poblaciones nativas de chile 'Guajillo' junto con referencias poblacionales y testigos comerciales a través de descriptores morfológicos y fenológicas, de composición química y de marcadores moleculares.

Las características de fruto tamaño, color, forma, placenta, pedicelo, el arrugamiento transversal y días a fructificación, principalmente, definieron los rasgos distintivos de cada tipo de chile que explicaron de manera precisa la variabilidad fenotípica observada. Se confirmó que existe amplia diversidad morfológica de chile 'Guajillo' y otros tipos de chile seco, diversidad que parece mantenerse a través de la selección y manejo de morfotipos similares y específicos, dentro y entre tipos.

Existe amplia heterogeneidad fitoquímica en las poblaciones de chile analizadas, con base en el contenido de los metabolitos analizados. La variación en el chile 'Guajillo' se registró en la composición de capsaicinoides, carotenoides y vitamina A, en la cual se identificaron variantes particulares.

La información alélica y la diversidad genética corroboró la amplia base genética de las poblaciones locales de chiles 'Guajillo'. Los marcadores microsatélites permitieron una clara descripción de la diversidad y de las relaciones genéticas en las poblaciones analizadas.