



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

DOCTORADO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE POBLACIONES NATIVAS DE CHILE MIAHUATECO (*Capsicum annuum* L.)

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

NEREO MARTÍNEZ ANDRADE

BAJO LA SUPERVISIÓN DE:

DR. ROGELIO CASTRO BRINDIS



APROBADA



Chapingo, Estado de México, Mayo de 2022.

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE POBLACIONES
NATIVAS DE CHILE MIAHUATECO (*Capsicum annuum* L.)**

Tesis realizada por el C. Nereo Martínez Andrade bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito para el obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR: _____


DR. ROGELIO CASTRO BRINDIS

ASESOR: _____


DR. JUAN ENRIQUE RODRÍGUEZ PÉREZ

ASESOR: _____


DR. MARIO PÉREZ GRAJALES

LECTOR EXTERNO: _____


DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
DEDICATORIA.....	vii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS	x
RESUMEN GENERAL	xi
GENERAL ABSTRACT.....	xii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	13
1.1. OBJETIVOS	15
1.2 LITERATURA CITADA	16
CAPÍTULO II. EL GÉNERO <i>Capsicum</i>	21
RESUMEN.....	21
ABSTRACT	22
2.1. INTRODUCCIÓN	23
2.2. TAXONOMÍA DEL CHILE	24
2.3. IMPORTANCIA DEL CULTIVO.....	24
2.4. BIOQUÍMICA	26
2.5. FITOQUÍMICA	26
2.6. CITOGENÉTICA.....	28
2.7. DIVERSIDAD GENÉTICA	29
2.8. DIVERSIDAD GENÉTICA EN EL GÉNERO <i>Capsicum</i>	30
2.9. CONSERVACIÓN DE RECURSOS FITOGENÉTICOS	31
2.10. CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA.....	32
2.11. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA	34
2.12. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR	35

2.13. MARCADORES MOLECULARES	36
2.13.1. RFLPs.....	37
2.13.2. RAPDs.....	37
2.13.3. AFLPs.....	38
2.13.4. MICROSATÉLITES	39
2.13.5. SNPs.....	40
2.13.6. ISSR.....	40
2.13.7. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA ISSR PARA DETERMINAR MARCADORES MOLECULARES	41
2.14. AGRUPAMIENTO DE GENOTIPOS	42
2.15. MEJORAMIENTO GENÉTICO EN EL CULTIVO DE CHILE	43
2.16. CONCLUSIONES	44
2.17. LITERATURA CITADA.....	44
CAPÍTULO III. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE 94 COLECTAS DE CHILE MIAHUATECO (<i>Capsicum annuum</i> L.) NATIVO DE MÉXICO.....	68
RESUMEN.....	68
ABSTRACT	69
3.1. INTRODUCCIÓN	70
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	71
3.2.1. Colectas evaluadas.....	71
3.2.2. Caracterización morfológica.....	72
3.2.3. Caracterización molecular	75
3.2.4. Análisis estadístico.....	76
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	78
3.3.1. Caracterización morfológica.....	78
3.3.2. Caracterización molecular	86
3.3.3. Análisis de agrupamiento	87

3.3.4. Evaluación conjunta	88
3.3.5. Estrategia de conservación	90
CONCLUSIONES	91
3.4. LITERATURA CITADA.....	92
CAPÍTULO IV. GUÍA PARA LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CHILE MIAHUATECO	98
RESUMEN	98
ABSTRACT	99
4.1. INTRODUCCIÓN	100
4.2. GUÍA TÉCNICA PARA LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CHILE MIAHUATECO (<i>Capsicum annuum</i> L.).	101
4.3. CONCLUSIONES	127
4.4. LITERATURA CITADA.....	127
V. DISCUSIÓN GENERAL	130
LITERATURA CITADA	136
VI. CONCLUSIONES GENERALES	143

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Colectas de chile Miahuateco evaluadas y su lugar de procedencia.	71
Cuadro 2. Lista de descriptores cuantitativos y cualitativos evaluados durante la caracterización morfológica de chile Miahuateco.....	73
Cuadro 3. Secuencia y temperatura de alineamiento de 24 iniciadores ISSR en chile Miahuateco	77
Cuadro 4. Medidas de variación en la caracterización morfológica de colectas de chile Miahuateco (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	78
Cuadro 5. Descripción morfológica de los seis grupos identificados en colectas nativas de chile Miahuateco mediante análisis de agrupamiento	85
Cuadro 6. Subgrupos generados por las caracterizaciones morfológica y molecular de 94 colectas nativas de chile Miahuateco	89

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Caracter discriminante: Cavidad peduncular , en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (<i>Capsicum annuum</i> L.).	80
Figura 2. Caracter discriminante: Color de fruto , en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (<i>Capsicum annuum</i> L.).	80
Figura 3. Caracter discriminante: Forma de fruto , en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (<i>Capsicum annuum</i> L.).	81
Figura 4. Caracter discriminante: Forma de la sección longitudinal de fruto , en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	82
Figura 5. Caracter discriminante: Forma de la sección transversal y número de lóculos , en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (<i>Capsicum annuum</i> L.).....	82
Figura 6. Caracter discriminante: Número de Flores y/o frutos por bifurcación , en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (<i>Capsicum annuum</i> L.).	83
Figura 7. Caracter discriminante: Longitud de fruto , en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (<i>Capsicum annuum</i> L.).	83
Figura 8. Dendrograma jerárquico de caracteres morfológicos, derivado de distancias Gower y algoritmo de mínima varianza de Ward.	84
Figura 9. Representación gráfica de variables discriminantes de seis grupos de colectas nativas de chile Miahuateco, a partir de sus características morfológicas.	84
Figura 10. Dendrograma jerárquico generado a partir de 154 bandas polimórficas con la distancia de Jaccard y algoritmo de mínima varianza de Ward en 94 colectas de chile Miahuateco.	88

DEDICATORIA

Con todo mi amor, a quienes debo la hermosa experiencia de existir y por inculcarme en todo momento un gran espíritu de perseverancia, humildad y respeto.

A mis padres

Rosalía de la Merced Andrade Guzmán (†) y Cruz Juvenal Martínez López

A mis seres amados

Motor que día a día me impulsa hacia una superación y crecimiento constante, Gracias por Creer en Mí, por su Amor y Paciencia.

Mi Esposa: Ana Rodríguez Guzmán

Mis Hijos: Karla Daniela, Eduardo, Ana Paola

A mis Hermanos

Yaneth, Pedro, Efraín, Guadalupe, Maribel, Erick, Jesús, Adán
Les deseo siempre lo mejor

Al “Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 184” de Acatlán de Osorio,
Puebla.

A mis amigos y compañeros

Ing. Yadira Láscarez Ochoa, Ing. Mireya García Márquez, Dr. Luis Ángel Barrera Guzmán, Dra. Francisca Hernández Epigmenio, Dr. Eddy Feliciano Jiménez Ruiz, y muy especialmente por siempre a mi apreciado amigo Dr. Rosalino Gasga Peña (†).

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ayudarme a mantener la Fe y lograr una más de mis metas.

A mi Alma Máter, la Universidad Autónoma Chapingo, especialmente al Departamento de Fitotecnia, que a través del Instituto de Horticultura, me brindó la oportunidad de realizar el Doctorado en Ciencias en Horticultura.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la Beca otorgada para la realización de mis estudios de Doctorado.

Dr. Rogelio Castro Brindis, por su acertada dirección y apoyo durante el desarrollo de esta investigación, por compartir grandes experiencias y conocimientos.

Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, por su acertada dirección y apoyo en la parte estadística de esta investigación, y por aceptar ser mi formador en la ciencia.

Dr. Mario Pérez Grajales, por su acertada dirección y apoyo durante el desarrollo de esta investigación, por su amistad sincera.

Por su valioso apoyo en la fase experimental, Mi Gratitud sincera a:

Dr. Miguel Baltazar Luna, Mariela Reyes Rodríguez, Evelin Eva Martínez Reyes; Gael Adán Martínez Reyes, Ing. Diego León Reyes; Quim. Ricardo Gaspar Hernández; a mi Esposa e Hijos.

DATOS BIOGRÁFICOS

Nombre: Nereo Martínez Andrade

Fecha de nacimiento: 17 de Julio de 1975

Lugar de nacimiento: Tianguistengo, Acatlán de Osorio, Puebla

CURP: MAAN750717HPLRNR06

Profesión: Maestro en Ciencias en Horticultura

Cédula profesional: 4717818



Formación académica

Licenciatura: Ingeniero Agrónomo Fitotecnista	1993 - 1998	Universidad Autónoma Chapingo
Maestría: En Ciencias en Horticultura	2004 - 2005	Universidad Autónoma Chapingo
Maestría: En Ingeniería Administrativa	2009 - 2010	Instituto de Estudios Universitarios de Puebla
Doctorado: En Ciencias en Horticultura	2018 - 2021	Universidad Autónoma Chapingo

RESUMEN GENERAL

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE POBLACIONES NATIVAS DE CHILE MIAHUATECO (*Capsicum annuum* L.)¹

En más de 64 tipos, el chile (*Capsicum annuum* L.) con un consumo per cápita de 17.2 kg, es valorado por su aroma, color, forma, sabor y picor; cualidades que lo han posicionado incluso a nivel mundial como un producto alimenticio funcional, de uso industrial e incluso en la medicina, cosmetología y farmacéutica, debido a las propiedades bioquímicas y fitoquímicas del fruto; la importancia de este cultivo lo posicionan en el octavo lugar en la agricultura mexicana, y en el segundo productor de chiles a nivel internacional al aportar el 8.3 % del volumen total de producción. La vasta cantidad de poblaciones nativas, muy dinámicas y altamente heterogéneas, han generado por los procesos de domesticación, selección y dispersión una gran cantidad de morfotipos, donde el fruto es el principal carácter que los diferencia y explica la mayor variación total, estas poblaciones constituyen un acervo genético de gran relevancia y que ha definido a México como centro de domesticación y de diversidad genética del género *Capsicum*. La caracterización morfológica de los recursos vegetales ha sido de gran utilidad para definir una serie de descriptores útiles de importancia agronómica, e identificación de grupos, aunado a los métodos de caracterización con marcadores moleculares, lo que ha permitido conocer con mayor certeza la diversidad genética vegetal que se conserva *in situ*, como en este caso del chile miahuateco. Las guías de caracterización morfológica para la descripción de caracteres, permite distinguir a una población de plantas que constituyen una variedad vegetal, con lo cual se busca la protección y resguardo de estas. La caracterización morfológica y molecular realizadas en esta investigación, dan evidencia de la existencia de una amplia variabilidad genética en las poblaciones nativas de chile miahuateco, donde los caracteres de fruto fueron determinantes para diferenciar las colectas.

Palabras Clave: diversidad genética, caracterización morfológica y molecular

¹ Tesis de Doctorado en Ciencias en Horticultura, Universidad Autónoma Capingo
Autor: Nereo Martínez Andrade
Director de Tesis: Dr. Rogelio Castro Brindis

GENERAL ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF NATIVE POPULATIONS OF MIAHUATECO CHILI PEPPER (*Capsicum annuum* L.)²

With more than 64 types, chili (*Capsicum annuum* L.), with a per capita consumption of 17.2 kg, is valued for its aroma, color, shape, flavor, and hotness; qualities that have positioned it even worldwide as a functional food product, for industrial use and even in medicine, cosmetology, and pharmaceuticals, due to the biochemical and phytochemical properties of the fruit. The importance of this crop places it in eighth place in Mexican agriculture, and is the second-largest producer of chili peppers internationally, contributing 8.3% of the total volume of production. The vast amount of native populations, dynamic and highly heterogeneous, have been generated by domestication processes, selection, and dispersion of a large number of morphotypes, where the fruit is the main character that differentiates them and explains the greatest total variation. These populations constitute a genetic heritage of great relevance and that has defined Mexico as a center of domestication and genetic diversity of the genus *Capsicum*. Morphological characterization of plant resources has been very useful to define a series of useful descriptors of agronomic importance as well as identification of groups, together with characterization methods with molecular markers, which has allowed knowing with greater certainty plant genetic diversity, that is preserved *in situ*, as in this case of the Miahuateco chili pepper. Morphological characterization guides for a description of characters, allowing to distinguish a population of plants that constitute a plant variety, with which the protection and shelter these is sought. Morphological and molecular characterization carried out in this research, give evidence of the existence of a wide genetic variability in native populations of Miahuateco chili pepper, where the fruit characters were decisive to differentiate accessions.

Key words: genetic diversity, morphological and molecular characterization

² PhD Thesis of Science in Horticulture, Universidad Autónoma Chapingo
Author: Nereo Martínez Andrade
Advisor: Dr. Rogelio Castro Brindis

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El chile (*Capsicum annuum* L.) es valorado por su aroma, sabor y picor; sus poblaciones nativas son dinámicas y altamente heterogéneas (Camacho et al., 2005; Ramírez-Meraz, 2018). Dicha variación se ha generado por los procesos de dispersión, selección y adaptación a diferentes ambientes ecológicos, lo que ha dado como resultado la obtención de una gran cantidad de morfotipos, los cuales, constituyen un acervo genético de gran relevancia (Cázares-Sánchez et al., 2005; Votava et al., 2005). México es centro de domesticación y de diversidad genética de *Capsicum annuum* L. (Pickersgill, 1991; Pickersgill, 2007). Como parte del proceso de domesticación y selección continua, a los chiles se les han modificado características de fruto como: tamaño, forma, masa, color, apariencia y picor (Borovsky & Paran, 2011), lo que ha generado una gran variación morfológica y diversificación de poblaciones nativas (Pacheco-Olvera et al., 2012). En los estudios disponibles acerca de la diversidad morfológica en los diferentes tipos de chiles están los de Adetula & Olakojo (2006); Portis et al. (2007) y Kadri (2009), quienes revelaron la existencia de diversidad morfológica en *C. frutescens* de Nigeria, *C. annuum* de Italia, *C. annuum* de Turquía y *C. baccatum* de Brasil, respectivamente. Las variables de fruto fueron las de mayor importancia para explicar un mayor porcentaje de la variación total. La caracterización morfológica de los recursos vegetales, es de utilidad, porque permite definir una serie de descriptores útiles de importancia agronómica o de clasificación e identificación de grupos genéticos, siendo los órganos más importantes para la descripción morfológica aquellos que tienen menos influencia del ambiente como fruto, hojas y tallo (Hernández - Verdugo et al., 1999; Ulhoa et al., 2017).

El reciente desarrollo de la Biología Molecular y las nuevas herramientas experimentales y estadísticas han permitido generar métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares que superan en la gran mayoría de los casos las limitantes de los métodos tradicionales (Azofeita – Delgado, 2006; Naresh et al., 2018; Manzila et al., 2020; Yu et al., 2021).

Por su parte la caracterización y evaluación de la diversidad presente en colecciones vegetales silvestres, es central en el mantenimiento y mejora de la agricultura moderna ya que constituyen una alternativa viable, su conocimiento

permite llevar a cabo un uso, explotación y conservación racional de estos recursos (Parry et al., 2021). En este sentido, los recursos fitogenéticos relacionados con el género *Capsicum* adquieren gran relevancia por el potencial genético que representan, debido a que el chile es el octavo cultivo con mayor valor generado en la agricultura mexicana, alcanzando alrededor de 20,058,035 millones de pesos anualmente, con un volumen de producción promedio de 3,324,260 toneladas que equivale al 8.3 % de la producción mundial total, de las cuales se exportan cerca de 900 mil en fresco, en seco y en preparaciones. El estado de Chihuahua es el principal productor con 722,937 toneladas al año; le siguen el estado de Sinaloa y Zacatecas con 648,222 y 458,943 toneladas respectivamente. A escala internacional, México es el segundo productor de chiles, dedicando 159,981.51 hectáreas a su cultivo. Los tipos de mayor importancia económica son: jalapeño, serrano, poblano, morrón y habanero (SIAP, 2021).

En las especies vegetales, antes de promover su utilización en el mejoramiento, es necesario conocer la variabilidad genética que se conserva *in situ*. Para ello, la comunidad científica puntualiza en la necesidad de caracterizar morfológica y molecularmente a las colectas de germoplasma como lo es en este caso el chile Miahuateco, resaltando la importancia de este tipo de investigaciones como base en los programas de mejoramiento. Por lo antes expuesto, a través de este estudio, se exploró la diversidad genética de 94 colectas de chile Miahuateco, con el propósito de conocer los caracteres de interés agronómico y molecular, que sean útiles en un programa de mejoramiento genético de esta especie.

1.1. OBJETIVOS

1. Colectar muestras de poblaciones nativas de chile Miahuateco en la región del Valle de Tehuacán, Puebla, para su caracterización.
2. Caracterizar morfológicamente con descriptores del IPGRI 94 colectas de chile Miahuateco procedentes del Valle de Tehuacán, Puebla, con la finalidad de conocer su diversidad genética.
3. Determinar la variabilidad genética de 94 colectas de chile Miahuateco procedentes del Valle de Tehuacán, Puebla, mediante marcadores moleculares ISSR.
4. Elaborar la Guía Técnica de caracterización morfológica de chile Miahuateco, como antecedente para el registro de variedades nativas de esta especie.

En el capítulo II se aborda sobre la importancia del género *Capsicum* como recurso fitogenético, su vasta diversidad genética, las aportaciones realizadas para conocer sus propiedades bioquímicas y fitoquímicas que lo caracterizan, así como el uso de herramientas morfológicas y técnicas moleculares para caracterizar este importante recurso vegetal, haciendo énfasis en su resguardo en bancos de germoplasma como fuente de genes de importancia agronómica, para futuros programas de mejoramiento genético.

El capítulo III se presenta los resultados de la caracterización morfológica y molecular de 94 colectas de chile miahuateco, mediante la cuantificación de 58 descriptores cualitativos y cuantitativos acorde con la guía de chile del IPGRI (1995). Se seleccionaron las variables sin colinealidad estadística a partir de análisis de covarianzas sucesivas, después se realizó un análisis de agrupamiento a partir de la matriz de distancias de Gower y el algoritmo de generación del dendrograma de la mínima varianza de Ward, la altura de corte se decidió con base

en el criterio cúbico de agrupamiento (Statistical Analysis System [SAS], 2008), la pseudo estadística t^2 (Hotelling, 1951) y la pseudo F (Johnson, 1998), para el análisis molecular se generó una matriz básica de datos (MBD), mediante la determinación del polimorfismo entre colectas mediante evaluación de la presencia y ausencia de cada marcador, para lo cual se asignó 1 y 0, respectivamente. Con la MBD se obtuvo la matriz de disimilaridad de Jaccard (1912), con la cual se realizó un análisis de agrupamiento y el algoritmo de generación del dendrograma de la mínima varianza de Ward, la altura de corte se decidió con base en la pseudo estadística t^2 (Hotelling, 1951) y la pseudo F (Johnson, 1998).

En el capítulo IV se presenta la Guía Técnica para la caracterización morfológica de chile Miahuateco (*Capsicum annuum* L.), instrumento elaborado acorde a los lineamientos del IPGRI (1995), UPOV (2011) y SAGARPA-SNICS (2014), que servirá de base para el registro de variedades nativas de este tipo de chile en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVG) del Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) de la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). Para la generación de esta guía se caracterizó la variedad nativa de chile miahuateco “Don Miguel”, misma que se procederá a su registro en el CNVG-SNICS.

1.2 LITERATURA CITADA

- Adetula, A. O., & Olakojo, S. A. (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.
- Albrecht, E., Zhang, D., & Saftner, R. A. (2012). Genetic diversity and population structure of *Capsicum baccatum* genetic resources. *Genet Resour Crop Evol*, 59, 517-538. <https://doi.org/10.1007/s10722-011-9700-y>

- Azofeita-Delgado, A. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 221-242.
- Borovsky, Y., & Paran, I. (2011). Characterization of fs10.1, a major QTL controlling fruit elongation in *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 123, 657-665. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1615-7>
- Camacho, V. T., Maxted, M. S., & Ford-Lloyd, B. (2005). Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 3, 373-384.
- Cázares-Sánchez, E., Ramírez-Vallejo, P., Castillo-González, F., Soto-Hernández, R. M., Rodríguez-González, M. T., & Chávez-Servia, J. L. (2005). Capsaicinoids and preference of use in different morphotypes of chili peppers (*Capsicum annum* L.) of east-central Yucatan. *Agrociencia*, 39, 627-638.
- Hernández-Verdugo, S., Dávila, A. P., & Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 64, 65-84. doi: 10.17129/botscl.1583
- Hotelling, H. (1951). A generalized T test and measure of multivariate dispersion. Proceeding of the Second Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability. *The Regents of the University of California*. <http://projecteuclid.org/euclid.bsmsp/1200500217>
- IPGRI, AVRDC and CATIE. (1995). Descriptors for *Capsicum* (*Capsicum* spp.) International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy; the Asian Vegetable Re-search and Development Center. Taipei, Taiwan, and the Centro Agronómico Tropical de investigación y enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 345 p.
- Jaccard, P. (1912). The distribution of the flora in the alpine zone. 1. *New Phytologist*, 11(2), 37-50. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1912.tb05611.x>

- Johnson, D. E. (2000). Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. Edit. *Paraninfos*. 566 p.
- Kadri, B. M., Esiyok, E., & Turhan, K. (2009). Patterns of phenotypic variation in a germplasm collection of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Turkey. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 7, 83-95.
- Manzila, I., Priyatno, T. P., Nugroho, K., Terryana, R. T., Lestari, P., & Hidayat, S. H. (2020). Molecular and morphological characterization of EMS-induced chili pepper mutants resistant to Chili veinal mottle virus. *Biodiversitas*, 21(4), 1448-1457. doi:10.13057/biodiv/d210424
- Naresh, P., Lin, S-w., Lin, C-y., Wang, Y-w., Schafleitner, R., Kilian, A., & Kumar, S. (2018). Molecular markers associated to two non-allelic genic male sterility genes in peppers (*Capsicum annuum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 9, 1343. doi:10.3389/fpls.2018.01343
- Pacheco-Olvera, A., Hernández-Verdugo, S., Rocha-Ramírez, V., González-Rodríguez, A., & Oyama, K. (2012). Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern Mexico analyzed by microsatellite markers. *Crop Science*, 52, 231-241. doi: 10.2135/cropsci2011.06.0319
- Parry, C., Wang, Y-W., Lin, S-w. y Barchenger, D. W. (2021). Reproductive compatibility in *Capsicum* is not necessarily reflected in genetic or phenotypic similarity between species complexes. *PLoS ONE*, 16(3), Artículo e0243689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243689>
- Pickersgill, B. (1991). Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L. En Part, B. T. y P. K. Gupta (Eds.), *Chromosome Engineering in Plants, Genetics, Breeding and Evolution* (págs. 139-160). Elsevier, Amsterdam.
- Pickersgill, B. (2007). Domestication of plants in the Americas: Insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*, 100, 925-940. doi: 10.1093/aob/mcm193

- Portis, E., Nagy, I., Sasvári, Z., Stágel, A., Barchi, L., & Lanteri, S. (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.
- Rahevar, P. M., Patel, J. N., Kumar, S., & Acharya, R. (2019). Morphological, biochemical and molecular characterization for genetic variability analysis of *Capsicum annuum*. *Vegetos*, 32(2), 131-141.
- Ramírez-Meraz, M., Villalón-Mendoza, H., Aguilar-Rincón, V. H., Corona-Torres, T., & Latournerie-Moreno, L. (2018). Caracterización morfológica de chile silvestres y semidomesticados de la región Huasteca de México. *Agro Productividad*, 8(1). <https://mail.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/632>
- SAGARPA- SNICS. (2014). Guía Técnica para la descripción varietal de Chile *Capsicum annuum* L. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo, Pesca y Alimentación. 25 p.
- SAS. (2011). SAS/QC 9.3. User's guide. Cary, New York. <https://support.sas.com/documentation/cdl/en/qcug/63964/PDF/default/qcug.pdf>
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021). Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SADER. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2021/Panorama-Agroalimentario-2021
- Ulhoa, A. B., Pereira, T. N. S., Ribeiro, C. S. C., Moita, A. W., & Reifschneider, F. J. B. (2017). Obtenção e caracterização morfoagronômica de linhagens de pimenta do tipo jalapeño amarelo. *Horticultura Brasileira*, 35, 343-348. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620170305>

- UPOV. (2011). Documento conexo a la introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. Documento TGP/7. Elaboración de las directrices de Examen. Ginebra, Suiza. pp. 98.
- Votava, E. J., Baral, J. B., & Bosland, P. W. (2005). Genetic diversity of chile (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) landraces from Northern New Mexico, Colorado and Mexico. *Economic Botany*, 59, 8-17.
- Yu, D., Gu, X., Zhang, S., Dong, S., Miao, H., Gebretsadik, K., & Bo, K. (2021). Molecular basis of heterosis and related breeding strategies reveal its importance in vegetable breeding. *Horticulture Research*, 8,120. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00552-9>

CAPÍTULO II. EL GÉNERO *Capsicum*

THE *Capsicum* GENUS

RESUMEN

En México se encuentra la mayor diversidad genética del género *Capsicum*, con más de 64 tipos, donde *C. annuum* L. es la de mayor importancia económica incluso a nivel mundial, su demanda y consumo están determinados como alimento fresco, seco o procesado, y una creciente demanda en la cosmetología, medicina, industria farmacéutica y como oleorresinas, donde su color, aroma, sabor y nivel de pungencia son determinantes para definir la variedad a cultivar. Dentro de los procesos continuos de domesticación y selección ya sea natural o inducida, por su inherente muy dinámica de las poblaciones nativas y su alta heterogeneidad, a los chiles se les han modificado principalmente características de fruto expresados en tamaño, forma, color, apariencia y picor, lo que ha generado una gran variación morfológica y diversificación de poblaciones nativas en los diferentes ambientes ecológicos donde se desarrollan, constituyéndose cada nicho ecológico en un acervo genético de gran relevancia, en los que es importante realizar la caracterización y resguardo de estos materiales. Evidencia de ello es que en la mayoría de los trabajos realizados sobre caracterización de tipos de chiles, las variables de frutos sobresalen por su importancia para explicar el mayor porcentaje de la variación total, por lo que éste tipo de trabajos son de gran utilidad, porque permite definir una serie de descriptores útiles de importancia agronómica, o de clasificación e identificación de materiales genéticos, donde la caracterización morfológica y los marcadores moleculares son clave para la caracterización de germoplasma vegetal.

Palabras clave: *Capsicum*, diversidad genética, germoplasma

ABSTRACT

Mexico has the greatest genetic diversity of the *Capsicum* genus, with more than 64 types, where *C. annuum* L. is the most economically important species worldwide, its demand and consumption are determined as fresh, dry or processed food, and a growing demand in cosmetology, medicine and pharmaceutical industry as oleoresins, where its color, aroma, flavor and level of pungency are decisive to define the variety to be cultivated. Within the continuous processes of domestication and selection, whether natural or induced, due to their inherent dynamic nature of native populations and their high heterogeneity, fruit characteristics such as size, shape, color, appearance and itching have been the characteristics that have been mainly modified, which has generated a great morphological variation and diversification of native populations in the different ecological environments where they develop, constituting each ecological niche in a genetic heritage of great relevance, in which it is important to carry out the characterization and protection of these materials. Evidence of the importance of these fruit characteristics is that in most of the works carried out about chili types characterization, these variables stand out due to their importance in explaining the highest percentage of the total variation, for which this type of work is of interest and has great utility since it allows to define a series of useful descriptors of agronomic importance, as well as identify classification patterns and outstanding genetic materials, where the morphological characterization and molecular markers are key for the characterization of plant germplasm.

Key words: *Capsicum*, genetic diversity, germplasm

2.1. INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* es originario de América del Sur (Pickersgill, 1997; Konishi et al., 2019), consta de alrededor de 32 especies, pero las cinco domesticadas son *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. chinense* Jacq., *C. pubescens* R & P. y *C. baccatum* L.; de ellas *C. annuum* L. es la especie con mayor importancia económica en el mundo (Pickersgill, 2007; Zhigila et al., 2014; Pereira-Dias et al., 2019), la cual tiene su centro de domesticación en México, donde se encuentra su mayor diversidad genética. Se estima que en México existen más de 64 tipos de chiles, siendo los más conocidos jalapeño, ancho, guajillo, piquín, serrano, habanero, entre otros (Aguilar et al., 2010; Vera-Sánchez, 2016).

México fue determinado como el centro de domesticación y diversificación de la especie *Capsicum annuum* L. Las evidencias arqueológicas más antiguas fueron encontradas en las cuevas de Ocampo en la Sierra de Tamaulipas (7,000-5,000 a. C.) y Coxcatlán en el Valle de Tehuacán (6,000-4,000) (Perry et al., 2007; Kraft et al., 2014; Haralayya Asha, 2017).

Después de su domesticación el chile se dispersó a Europa, el Mediterráneo y el Medio Oriente, hasta alcanzar Asia y Africa, en donde *Capsicum annuum* L. se extendió rápidamente hasta convertirse en importantes centro secundarios de diversificación (Djian-Caporalino et al., 2006). Es por esta extensa diversificación que se generó una gran variabilidad en este recurso fitogenético, debido principalmente a la selección en ambientes totalmente contrastantes, observando ahora una extensa diversidad fenotípica (Lefebvre et al., 1995; Vera-Sánchez, 2016; Pereira-Dias et al., 2019).

El chile Miahuateco es considerado un progenitor silvestre de *C. annuum* L. y un importante recurso genético para el mejoramiento de los chiles cultivados, se distribuye endémicamente en la región del Valle de Tehuacán, Puebla.

2.2. TAXONOMÍA DEL CHILE

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Capsicum*

Especie: *annuum* L.

(Heiser & Pickersgill, 1975)

La especie *C. annum* L. es la más ampliamente distribuida en México, su taxonomía ha sido objeto de debate por muchos años dado que existe una amplia diversidad genética y morfológica en tipos, colores, formas, tamaños, sabores y contenidos fitoquímicos (Zhigila et al., 2014; Massot & Barbieri, 2016).

2.3. IMPORTANCIA DEL CULTIVO

El chile (*Capsicum annum* L.) es uno de los cultivos de mayor importancia a nivel nacional e internacional. La producción de sus diferentes variedades, alcanzó 3, 324, 260 toneladas en 2020, con un valor aproximado de 20, 058, 035 millones de pesos. El consumo per cápita de chile en México es de 17.2 kg al año y se cultiva una superficie de 159, 981.51 hectáreas, principalmente en los estados de Chihuahua, Sinaloa, Zacatecas y Durango. Además, representa cerca de 20 % de la producción de hortalizas en el país. A nivel mundial, México se ubica como el segundo productor de chile verde y sus principales destinos de exportación son Estados Unidos, Canadá y España (SIAP, 2021). Los chiles y pimientos ocupan el quinto puesto dentro de los 20 productos principales comercializados

internacionalmente. Dentro del sector agrícola, constituyen el tercer sitio en importancia, precedidos sólo por el jitomate y el aguacate (SIAP, 2021).

La variabilidad de los diferentes tipos de chiles de *C. annuum* L. es identificada por las características de sus frutos tales como: forma, color, aroma, sabor y nivel de pungencia. Dichas características son de importancia para productores, mejoradores y la industria (Bosland & Votava, 2000; Ramírez-Meraz, 2018; Konishi et al., 2019; Parry et al., 2021). En México existen tres grandes regiones productoras de chile, a) La Región Norte y Noreste considerada de alto nivel tecnológico, que se especializa en la producción de chiles frescos, abarca los estados de Chihuahua, Sinaloa, Baja California Sur, Sonora, Durango, Nayarit y sur de Tamaulipas; b) La Región Central y del Bajío que tiene nivel tecnológico medio, orientada principalmente a la producción de chiles secos, incluye los estados de Zacatecas, Aguascalientes, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro y Puebla; y c) La Región Sur y Sureste caracterizada por su nivel tecnológico bajo, comprende los estados de Quintana Roo, Campeche, Oaxaca y Veracruz, y donde se siembra principalmente en condiciones de secano y con humedad residual (Caro et al., 2014; Vera-Sánchez et al., 2016); por lo que la mayor producción de chile se concentra en los estados del norte del país, Chihuahua, Sinaloa y Zacatecas producen juntos el 59.8% de la producción nacional de chile verde, Zacatecas y San Luis Potosí son los principales productores de chile seco, ya que juntos aportan el 70.9% de la producción nacional (SIAP, 2021).

Actualmente, en la gastronomía mexicana se utilizan uno o más tipos de chiles para preparar diversos platillos como el mole poblano, mole negro de Oaxaca, adobos, rajas, salsas, chiles en nogada y chiles rellenos, entre otros (Aguilar et al., 2010; Haralayya Asha, 2017; Konishi et al., 2019). Además de los usos culinarios que tiene el chile, también es una fuente rica de vitaminas, antioxidantes, colorantes, y se ha demostrado que puede ayudar en el combate de enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer y anemia (Bosland y Votava, 2012; Xiao-min et al., 2016; Varghese et al., 2017).

Dentro de los diversos morfotipos que existen en *C. annuum* L. se encuentran los chiles anchos, los cuales son de los tipos con mayor importancia (SIAP, 2021). Dentro del chile tipo ancho se encuentran las siguientes variantes: “mulato”,

“ancho”, “cristalino”, “huacle”, “miahuteco” y “dulce”; de éstos el chile Miahuateco se caracteriza por una longitud no mayor de 13 cm, coloración café oscuro en la maduración, ausencia de cavidad peduncular y se cultiva exclusivamente en el Valle de Tehuacán, estado de Puebla (Aguilar et al., 2010).

2.4. BIOQUÍMICA

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 et al. (2004) revelaron amplia variación en el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en poblaciones nativas de *C. annuum* procedentes de Puebla. 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, β -caroteno, color y capsaicinoides. En los chiles ‘Guajillo’, ‘Ancho’, ‘Pasilla’, ‘Puya’, ‘Tres Venas’, ‘Chipotle’, ‘Jalapeño’, ‘Mirasol’, ‘Morita’, ‘Serrano’, ‘De Árbol’ y ‘Piquín’, Orellana-Escobedo et al. (2013) 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’. Pacheco-Olvera et al. (2012) encontraron amplia diversidad en poblaciones silvestres y nativas del noreste de México, al igual que González-Jara et al. (2011) en poblaciones silvestres de piquín o chetepín (*C. annuum* var. *glabriusculum*).

2.5. FITOQUÍMICA

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., 2013; Barbero et al., 2014; Ramírez-Meraz, 2018; Naves et al., 2019), debido a la importancia industrial, farmacéutica y alimenticia que tienen los capsaicinoides, se han realizado diversos estudios para cuantificar el nivel de picor en diferentes tipos de chiles de especies domesticadas y silvestres, así como en variedades mejoradas (Canto-Flick et al., 2008; Bosland et al., 2012; Meckelmann et al., 2013; Naves et al., 2019; Konishi et al., 2019). El principal uso médico de estos metabolitos es como analgésico, y se ha descrito su utilidad para disminuir dolores de cabeza, trastornos neuropáticos y artritis (Guzman et al., 2011; Varghese et al., 2017). Los capsaicinoides son propios del género *Capsicum*, son metabolitos relacionados con la pungencia, característica regulada por la expresión de 18 genes, empiezan su acumulación a partir del día 20 después de la antesis, se almacenan en pequeñas vesículas de la epidermis de la placenta de los frutos, y confieren la sensación de picor cuando son ingeridos por humanos y mamíferos (Stewart et al., 2007; Naves et al., 2019; Zhang et al., 2022). Se han identificado alrededor de 20 diferentes compuestos capsaicinoides, los cuáles se sintetizan a partir de la vainillilamina y un ácido graso; capsaicina y dihidrocapsaicina son los principales compuestos que dan lugar al 90 % del total de capsaicinoides que contiene un fruto de chile (Vázquez-Flota et al., 2007). Típicamente, las unidades de picor se expresan en unidades Scoville (SHU, Scoville Heat Units), unidades establecidas por Scoville en 1912, donde 1 ppm equivale a 16 SHU (Guzman et al., 2011). Entre los más picosos del mundo, se encuentra la variedad denominada 'Trinidad Moruga Scorpion' que alcanza más de 2 millones de SHU; ésta fue resultado de la cruce entre *C. chinense* y *C. frutescens* (Bosland et al., 2012); perfiles de ácidos grasos (Keum et al., 2012; Jarret et al., 2013; De Souza et al., 2015), los ácidos grasos no saturados se encuentran en mayor proporción en las semillas, en comparación con el pericarpio de frutos de *C. annuum* (Kim et al., 2002; Naves et al., 2019). Los principales ácidos grasos encontrados en semillas son: linoleico (C18:2), oleico (C18:1), palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0) (Jarret et al., 2013); perfil de carotenoides individuales (Giuffrida et al., 2013), la coloración de los chiles se debe a la presencia de compuestos carotenoides que son sintetizados durante la maduración del fruto (Hornero-Méndez et al., 2002). La riqueza en pigmentos proporciona una gama de coloraciones a los frutos de los chiles, los

cuales pueden ser rojos, naranja, amarillos, morados y de color café, debido a la acumulación de carotenoides en los cromoplastos del pericarpio (Guzmán et al., 2011). Estos carotenoides tienen propiedades benéficas para la salud, son fuente de antioxidantes, reducen el riesgo de cáncer, mejoran la respuesta inmune y algunos son precursores de vitamina A (Zimmer et al., 2012; Silva et al., 2013), son también de gran interés para la extracción del pigmento rojo, y son extraídos como oleorresinas y utilizados como colorante natural en las industrias cosmética, farmacéutica y alimenticia (Guzmán et al., 2011), los flavonoides como quercetina y luteolina (Butcher et al., 2012; Butcher et al., 2013), y tocoferoles (Meckelmann et al., 2015), estos compuestos aromáticos tienen capacidad antioxidante debido al número y ubicación de los grupos hidroxilo, así como presencia de dobles enlaces en su estructura (Rice-Evans et al., 1996). También se ha estudiado la variación de estos compuestos químicos conforme a la madurez de fruto y su regulación genética (Rodríguez-Urbe et al., 2012; Liu et al., 2013; Keyhaninejad et al., 2014).

Dadas las cualidades únicas del fruto de chile, se ha sugerido la ingesta regular de capsaicinoides por sus beneficios a la salud debido a sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales y adelgazantes, por lo tanto, los chiles pueden ser considerados alimentos funcionales (Varghese et al., 2017).

2.6. CITOGENÉTICA

Las especies cultivadas del género *Capsicum*, así como sus parientes silvestres, presentan un número cromosómico de $2n=2x=24$ (Pickersgill, 1997). Sin embargo, algunas de las especies que se desarrollan típicamente en América del Sur, el Sureste de Brasil y en Querétaro, México, como son *C. ciliatum*, *C. buforum*, *C. campylopodium*, *C. comutum*, *C. schottianum* y *C. villosum* tienen 26 cromosomas (Hernández-Verdugo et al., 1999).

Las especies de importancia comercial *C. chinense* y *C. frutescens* presentan 11 pares de cromosomas metacéntricos y un par acrocéntrico, contrastando con *C. annuum* que posee 10 pares metacéntricos y dos acrocéntricos (Romero-da Cruz et al., 2017).

2.7. DIVERSIDAD GENÉTICA

La diversidad genética se define como las variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones que pertenecen a una misma especie. La biodiversidad, como producto, se deriva de los procesos evolutivos que operan sobre dichas variaciones (Lowe et al., 2004). La domesticación vegetal es el resultado de un proceso de selección artificial unidireccional de caracteres deseables llevado a cabo por el hombre, con el propósito de permitir la adaptación a condiciones de cultivo (Gepts, 2004). Esto provoca cambios en las frecuencias fenotípicas y genotípicas de las poblaciones que se encuentran bajo manejo, generando divergencias respecto a sus ancestros silvestres, lo cual implica una pérdida gradual de la diversidad alélica, así como de la habilidad de adaptación a los ambientes naturales y la disminución de la capacidad reproductiva y de dispersión (Casas et al., 2007). El uso de germoplasma silvestre es una alternativa viable frente a la pérdida de diversidad en plantas cultivadas debido a los procesos de selección y domesticación. Esta relación genética cercana posibilita el flujo de genes, constituyéndose en una fuente primaria de variabilidad y permitiendo la incorporación de rasgos específicos que están presentes solo en las plantas silvestres debido a las condiciones del medio natural. Ejemplo de estos caracteres son la tolerancia a temperaturas altas o bajas, sequías, condiciones edáficas particulares como salinidad o acidez, así como la producción de metabolitos secundarios implicados en la respuesta a la incidencia de plagas y/o enfermedades (Pickersgill, 2007; Khoury et al., 2020; Ji et al., 2020).

Esta diversidad puede no ser aparente u observable en el fenotipo por lo que es necesario recurrir a distintos métodos. La forma más directa de estudiar la variación entre un conjunto de organismos, es mediante la comparación de secuencias nucleotídicas que integran los genes que portan los individuos de una población determinada. El reciente desarrollo de la Biología Molecular y las nuevas herramientas experimentales permiten identificar y utilizar esta variación cuyas fuentes principales son la mutación, la hibridación y la migración (Manzila et al., 2020; Moreno-Peris et al., 2020; Yut et al., 2021).

La mutación es considerada como la principal fuente de variación, consiste en cambios aleatorios, que ocurren en baja frecuencia, en la secuencia normal de

nucleótidos del material genético de un individuo; éstas pueden ocurrir de forma espontánea, por ejemplo durante la replicación del ADN o ser inducidas mediante radiaciones ionizantes (rayos X, γ o luz ultravioleta) o químicos mutagénicos (agentes intercalantes, alquilantes o desaminantes). Solo aquellas mutaciones que ocurren en células germinales, son transmitidas a la descendencia generando variación en las poblaciones (Krebs et al., 2018; Manzila et al., 2020).

El conocimiento de la diversidad genética puede ser utilizado en diferentes ámbitos, por ejemplo: a) evaluación de la capacidad de respuesta frente a cambios ambientales naturales o inducidos; b) estudio de riesgos de la pérdida de especies, poblaciones y recursos genéticos; c) determinación de la riqueza genética y de su distribución geográfica; d) entendimiento de la forma, la velocidad y las causas de la pérdida de la diversidad; e) evaluación de los riesgos de introducción de enfermedades, plagas, especies invasoras, variedades mejoradas y modificadas genéticamente sobre las poblaciones y especies nativas; f) planeación de estrategias de mejoramiento y conservación de recursos fitogenéticos (Piñeiro et al., 2008).

2.8. DIVERSIDAD GENÉTICA EN EL GÉNERO *Capsicum*

Los recursos fitogenéticos relacionados con el género *Capsicum*, adquieren gran relevancia por el potencial genético que presentan y por la base para obtener variedades mejoradas (Parry et al., 2021). 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. 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.

La domesticación de *Capsicum annuum* ocurrida en México generó amplia diversidad fenotípica (Hill et al., 2013; Kraft et al., 2014; Xiao-min et al., 2016), 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; Parry et al., 2021). En cada población se ha logrado definir una amplia fuente de variación, en particular para los alelos de interés agrícola y de adaptaciones locales (Nicolaï et al., 2013).

2.9. CONSERVACIÓN DE RECURSOS FITOGENÉTICOS

Desde el punto de vista de la conservación de recursos fitogenéticos, así como del mejoramiento vegetal, se persigue como principal objetivo estudiar, medir y determinar la variación que existe entre y dentro de los individuos de una misma población o de poblaciones geográficamente distantes (Donald, 2004).

Con el fin de evitar la erosión genética debido a la pérdida de cultivos tradicionales se debe enfatizar en la preservación de los recursos fitogenéticos como fuente de variación genética, para futuras adaptaciones a los cambios climáticos, resistencia a plagas y enfermedades, sin descuidar la calidad y productividad de dichos recursos (Iriondo, 2001). Existen dos grandes niveles de conservación, *in situ* y *ex situ*; el primero implica la conservación de los entornos naturales donde se encuentran los organismos de interés, la segunda permite la conservación de los mismos fuera de su ambiente, existiendo diversos métodos en cada nivel, donde los más importantes para la conservación de plantas cultivadas son el cultivo en campo de variedades tradicionales y los bancos de germoplasma (Iriondo, 2001). La diversidad genética contribuye a la productividad, sostenibilidad y estabilidad de los sistemas agrícolas. La pérdida acelerada interfiere con la satisfacción de la

creciente demanda de productos agroalimentarios, con la conservación de la variabilidad genética, con los servicios ecosistémicos y, por lo tanto, con el bienestar de las poblaciones humanas (Kessier et al., 2007; Khoury et al., 2020).

La pérdida de agrobiodiversidad, como conjunto, ha sido propiciada principalmente por cambios en el uso de suelo y de la cobertura vegetal, resultando en la transformación de los ambientes por deforestación y/o desertificación (Pascual & Perrings, 2007).

La conservación de los recursos genéticos vegetales es esencial para preservar atributos o características de interés, así como para disponer de genes de importancia para el fitomejoramiento (Charafi et al., 2008). Desde este punto de vista, los recursos fitogenéticos constituyen la base biológica de la seguridad alimentaria, ya que, de forma directa o indirecta, sostienen los medios de subsistencia. Por tanto, su conservación y uso sostenible son necesarios para garantizar la producción agrícola y satisfacer los crecientes desafíos ambientales y el cambio climático (FAO, 2010).

2.10. CARACTERIZACIÓN DE GERMOPLASMA

La caracterización permite describir, cuantificar y clasificar la diversidad fenotípica y genética de las poblaciones mediante el uso de descriptores definidos, 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 & Hidalgo, 2003; Hernández, 2013; Ulhoa et al., 2017).

En los organismos vivos existe una amplia variedad de formas morfológicas que los distinguen entre sí. Esta variabilidad o polimorfismo genético, ocurre en forma natural dentro y entre diferentes poblaciones de organismos. Cualquier diferencia genética detectable en los individuos sirve como una etiqueta o marcador genético que se convertirá en un rasgo característico propio de cada individuo o de cierto grupo de individuos (Franco & Hidalgo, 2003).

Un descriptor es una característica o atributo cuya expresión es fácil de medir, registrar o evaluar y que hace referencia a la forma, estructura o comportamiento de una accesión. Los descriptores son empleados en la caracterización y evaluación de accesiones debido a que ayudan a expresar un atributo de manera precisa y uniforme, lo que simplifica la clasificación, el almacenamiento, la recuperación y el uso de los datos (Franco & Hidalgo, 2003; Hernández, 2013).

La caracterización de colectas se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos y/o agronómicos. No obstante el uso de marcadores morfológicos a través de descriptores tiene muchas limitantes, debido a que su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos. Con frecuencia estos marcadores pueden ser evaluados a nivel de toda la planta y cuando ésta llega a su estado adulto. Para los investigadores tomar los datos hasta estado adulto significa una espera que se refleja en atraso. Por otro lado actualmente se han desarrollado métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares que superan en la gran mayoría de los casos las limitantes de los métodos tradicionales (Azofeita–Delgado, 2006; Naresh et al., 2018; Escoto-Sandoval et al., 2021), estos marcadores moleculares están basados en las variaciones del ADN, ya que presentan la característica de no ser afectados por el ambiente y dependen directamente de las propiedades del ADN, las cuales no cambian aunque las plantas estén sujetas a condiciones ambientales cambiantes (Naresh et al, 2018).

La caracterización de cierto material vegetal particular consiste en la determinación de atributos específicos que permitan diferenciarlo de manera clara de otros entes similares o relacionados. Generalmente con propósitos de clasificación, identificación y/o determinación de organismos, análisis de diversidad genética, gestión de bancos de germoplasma, definición de variedades comerciales, conservación y uso racional de los recursos fitogenéticos y búsqueda de marcadores útiles para el mejoramiento vegetal (González-Andrés, 2001; Ulhoa et al., 2017; Khoury et al., 2020).

En el caso de Chile se ha definido una lista de los principales descriptores morfológicos para el género *Capsicum*, con el fin de generar información

homogénea y compatible, además de hacer más eficiente el manejo de datos y del germoplasma (IPGRI, 1995). Estos caracteres consideran atributos de las flores, semillas y frutos principalmente; sin embargo, el reconocimiento de las distintas variedades por medio de estas características puede resultar confuso o complicado, debido a que puede haber sobreposición u homogeneidad en algunos factores fenotípicos, compartidos por variedades distintas (Pickersgill, 2007; Haralayya y Asha, 2017; Ulhoa et al., 2017).

2.11. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

Para llevar a cabo la caracterización y evaluación de materiales vegetales se utilizan caracteres seleccionados que son útiles en la descripción de una muestra. Los estados de un carácter o descriptor son los valores que puede asumir en las diferentes escalas de medición ya sea nominal o categórica, ordinal, de intervalo o de proporción. Estos descriptores deben presentar preferentemente características inherentes como: fácil observación, alto poder discriminante, baja influencia ambiental y homología (Hidalgo, 2003; Ulhoa et al., 2017).

Tradicionalmente la caracterización e identificación de organismos vegetales se ha basado en el empleo de rasgos morfológicos y/o agronómicos, no obstante, su uso presenta algunas limitaciones pues su expresión diferencial puede estar sujeta a factores fenológicos, climáticos, edáficos o nutrimentales. Por otro lado, se deben incluir todas las estructuras de la planta y ésta debe encontrarse en estado adulto, lo cual puede dificultarse en especies cuyos ciclos de vida son prolongados (Tanksley, 1983; Staub et al., 1996; Haralayya et al., 2017). Con el propósito de reducir la heterogeneidad y uniformizar los caracteres utilizados, se han desarrollado listas de descriptores simplificando la recuperación de la información. Estas guías se elaboran considerando los antecedentes para especies o géneros relacionados y restringiendo el número de características que permiten estimar la variabilidad, discriminar grupos y diferenciar accesiones individuales (Abadie & Berretta, 2010). El IPGRI (1995) sugieren que en la caracterización morfológica se deben registrar aquellos caracteres altamente heredables, que pueden ser fácilmente evaluados a simple vista y se expresan en todos los ambientes

En *Capsicum* se han caracterizado morfológicamente diversos órganos de la planta, estructuras reproductivas, fruto y componentes del rendimiento (Toledo-Aguilar et al., 2011; Castellón et al., 2014). Tal caracterización permite la valoración y conservación genética, 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; Martínez-Sánchez et al., 2010; Abu et al., 2019; Parry et al., 2021).

2.12. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

Con el advenimiento de las herramientas biotecnológicas, diversas estrategias de análisis genético están disponibles y se han aplicado en el estudio de tan importante recurso fitogenético. Marcadores isoenzimáticos (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, SSRLP, ISSR, CAPS y DAMD-PCR, utilizados de manera principal en estudios de clasificación taxonómica (Adetula & Olakojo, 2006; Albrecht et al., 2012; Hill et al., 2013; Gálvez-Muñoz et al., 2021; Yu et al., 2021; Escoto-Sandoval et al., 2021). 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 (Nagy et al., 2007; Portis et al., 2007; Patel et al., 2011; Dhaliwal et al., 2014; Carvalho et al., 2017; Gálvez-Muñoz et al., 2021), 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), éstos reducen el número de caracteres de estudio y están libres de efectos ambientales, pleiotrópicos y epigenéticos (Singh et al., 2008; Rana et al., 2014; Gálvez-Muñoz et al., 2021).

Los marcadores moleculares presentan herencia mendeliana simple y para que sean considerados de utilidad deben cumplir con ciertas características deseables, por ejemplo, alto grado de polimorfismo o variación, especificidad de locus, distribución amplia en el genoma, reproducibilidad, facilidad en la expresión,

simplicidad en la identificación y análisis y posibilidad de automatización (Singh et al., 2015).

2.13. MARCADORES MOLECULARES

Los marcadores moleculares, permiten visualizar diferencias tangibles entre las secuencias homólogas del ADN de los organismos. Estas diferencias resultan de cambios o arreglos entre las bases que forman este tipo de moléculas tales como: translocaciones, inversiones, inserciones o deleciones en regiones homólogas. Por lo tanto, estos marcadores detectan variaciones directas a nivel del ADN y tienen ventajas como el hecho de ser dominantes o codominantes, desarrollándose de manera estable, de carecer de efectos pleiotrópicos y sobre todo no estar sujetos al ambiente (Valadez & Kahl, 2000; Naresh et al., 2018).

En la última década, el uso de marcadores de ADN para el estudio de la diversidad genética de los cultivos ya es rutinario y está revolucionando la Biología, incrementando el desarrollo de técnicas de más precisión, rapidez y bajo costo para evaluar la variación genética (Karp et al., 1998; Escoto-Sandoval et al., 2021). Esto se ve reflejado en la enorme variedad de técnicas que están emergiendo para su análisis y que pueden diferir de manera importante con respecto a características tales como la abundancia genómica necesaria, nivel de polimorfismo detectado, locus específico, reproducibilidad, requerimientos técnicos e inversión financiera (Rahevar et al., 2019).

El desarrollo de marcadores moleculares está ayudando a eliminar tanto los inconvenientes de una selección basada exclusivamente en el análisis del fenotipo, así como a la identificación de especies y variedades de una forma más rigurosa y repetible. Los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismos en *loci* únicos o múltiples y son de tipo dominante o codominante (Ferreira, 1998; Escoto-Sandoval et al., 2021). Además, reducen el tiempo de identificación de genotipos con características asociadas a dichos marcadores genéticos sin necesidad de esperar su madurez y prueba en ambientes

diferentes, actualmente se consideran una herramienta complementaria para los programas de mejoramiento genético (Valadez-Moctezuma & Kahal, 2005).

2.13.1. RFLPs

Los RFLP (Restriction fragment length polymorphism- polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción) se detectan mediante el uso de enzimas de restricción que cortan moléculas de ADN genómicos en secuencias de nucleótidos específicos (sitios de restricción), lo que produce fragmentos de ADN de tamaño variable. La identificación de los fragmentos de ADN genómico se realiza mediante Southern blotting, un procedimiento mediante el cual los fragmentos de ADN, separados por electroforesis, se transfieren a un filtro de nitrocelulosa o nailon (Staub et al, 1996). El ADN inmovilizado en el filtro se deja hibridar con el ADN de la sonda marcada radiactivamente. Las sondas suelen ser pequeños segmentos de ADN (500 a 3000 pares de bases (pb)). El filtro se coloca contra la película fotográfica, donde la hibridación con la sonda radiactiva produce bandas visibles. Tales bandas son visualizaciones de RFLPs, que son marcadores codominantes (Naresh et al., 2018).

En *Capsicum*, los RFLP se han utilizado para mapear el gen responsable de los colores rojo y amarillo CCS (capsantina-capsorubina sintasa) y, a través de la mutación inducida, se ha observado que su eliminación aumenta la intensidad del color amarillo en los frutos y se activa específicamente durante las etapas finales de la maduración (Lefebvre et al., 1998).

2.13.2. RAPDs

Los marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA-ADN polimórfico amplificado al azar) se generan mediante la amplificación por PCR de segmentos aleatorios de ADN genómico con cebadores únicos, generalmente de 10 nucleótidos de secuencia arbitraria (Bobadilla-Larios et al., 2017). Los polimorfismos detectados como segmentos de ADN que amplifican en un progenitor

pero no en otro, son heredados de forma Mendeliana en 90 % de los casos, y pueden ser utilizados para construir mapas genéticos de gran variedad de especies.

Estos marcadores han sido utilizados con éxito para diferenciar especies cuando no se cuenta con información previa de secuencias. Sin embargo, una de sus desventajas es que requieren de la optimización del experimento, con objeto de conseguir reproducibilidad en los resultados. El desarrollo posterior de la metodología RAPD ha producido otros marcadores basados en PCR, por ejemplo, marcadores SCAR (regiones amplificadas con secuencia caracterizada) y ASAP (iniciadores específicos asociados con alelos) (Naresh et al., 2018).

En *Capsicum annuum* los marcadores RAPD ayudaron en la identificación varietal y la prueba de pureza genética, dónde se identificaron cuatro RAPD específicos para tres variedades híbridas y 11 RAPD como útiles para determinar la pureza de las semillas, especialmente para el control de calidad de semillas (Ilbi, 2003). Además, mediante el uso de RAPD, se determinó que se produjo la separación entre poblaciones silvestres y domesticadas de *C. annuum* en el norte de México, lo que sugiere que la selección artificial, que interviene en diferentes direcciones, produce cambios a nivel genético (Oyama et al., 2006); es una herramienta útil en la detección de variabilidad genética y polimorfismo entre diferentes variedades de *C. annuum* (Bobadilla–Larios et al., 2017; Carvalho et al., 2017; Gálvez-Muñoz et al., 2021)

2.13.3. AFLPs

Los Polimorfismos de Fragmentos Amplificados de Diferente Longitud (AFLP) se basan en la amplificación selectiva de fragmentos de ADN digeridos con enzimas de restricción (Zabeau, 1993). Se generan múltiples bandas en cada reacción de amplificación que contiene marcadores de ADN de origen aleatorio. Los AFLP son cuantitativos, ya que los genotipos heterocigotos y homocigotos pueden diferenciarse por la intensidad de las bandas amplificadas. La capacidad de esta tecnología para generar muchos marcadores con pruebas mínimas de cebadores,

y la alta resolución del sistema son características que hacen que los AFLP sean atractivos como marcadores genéticos (principalmente dominantes).

Los AFLP se han usado para mapear el gen que determina el picor (locus C del cromosoma 2) en las poblaciones de progenitores y F2 desarrolladas por *C. frutescens* (picante) x *C. annuum* var. *grosso* (no picante) (Blum et al., 2003; Castañón-Najera et al., 2011), y para caracterizar frutos de chile habanero (Baba et al., 2015) .

2.13.4. MICROSATÉLITES

El uso de microsatélites se ha incrementado recientemente, gracias a lo cual se ha definido un gran número de microsatélites para Chile (Nagy et al., 2007; Lee et al., 2004; Naresh et al., 2018). Los marcadores de repetición de secuencia simple (SSR), o microsatélites, detectan diferencias en la longitud de las secuencias de repetición de mono a hexa-nucleótido. Los marcadores SSR constituyen una herramienta útil para el análisis de diversidad genética, ya que permiten la detección de alelos múltiples, son altamente transferibles entre las especies y son lo suficientemente flexibles para que puedan usarse con varios sistemas de laboratorio. Se han utilizado ampliamente en mapeo de genoma, etiquetado de genes, selección asistida por marcadores, estimación de diversidad genética, e identificación de variedades (McCouch et al., 1997; Carvalho et al., 2017; Gálvez-Muñoz et al., 2021). Los marcadores SSR se pueden clasificar en dos categorías: SSR genómicas y ETS-SSR, que se diseñan a partir de secuencias de transcripción del genoma completo y ARNm, respetivamente (Kalia et al., 2011).

Se han desarrollado marcadores SSR útiles para el mapeo y la selección asistida por marcadores en el mejoramiento genético de especies de *Capsicum* y un mapa de vinculación que proporciona un mapa genético de referencia para éstas especies (Minamiyama et al., 2006).

La variabilidad genética encontrada por González-Pérez et al., (2014), mediante microstélites en variedades locales de chile 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 et al. (2011) y Ramírez-Meza (2018) también encontraron amplia variabilidad genética y diversidad intra poblacional.

2.13.5. SNPs

Los SNPs (Single Nucleotide Polymorphism- Polimorfismos de un solo nucleótido) son la técnica de genotipificación más nueva y altamente automatizada que puede detectar cambios en las secuencias de nucleótidos mediante una sustitución de una base y polimorfismos en posiciones de una sola base. Dicha variación es muy común en el genoma, por lo tanto, los SNP son muy abundantes. Los SNP utilizan cadenas de ADN incrustadas en alguna superficie sólida como chips de silicio o microarreglos, y son láseres vinculados con computadoras que detectan la variación (Staub et al., 1996). En *Capsicum* se logró la identificación de 31 accesiones, que representaron seis especies, mediante la detección de variaciones alélicas de marcadores SNPs a través del análisis de fusión de alta resolución (HRM), el método resultó útil para la identificación de germoplasma nuevo (Jeong et al., 2010).

2.13.6. ISSR

La técnica ISSR (Inter-secuencias simples repetidas), reportada por Zietkiewicz et al. (1994), es un método basado en PCR, que consiste en la amplificación del segmento de ADN presente a una distancia amplificable entre dos regiones de repetición de microsatélites idénticas orientadas en dirección opuesta. La técnica utiliza microsatélites, generalmente de 16 a 25 pb de longitud, como cebadores en una reacción de PCR de cebador único dirigida a múltiples loci genómicos para amplificar principalmente las secuencias inter-ISSR de diferentes tamaños. Las repeticiones de microsatélites utilizadas como cebadores pueden ser di-nucleótido, tri-nucleótido, tetra-nucleótido o penta-nucleótido. Los cebadores utilizados pueden estar sin anclar (Gupta et al., 1994) o más generalmente anclados en el extremo 3' o 5' con una a cuatro bases degeneradas extendidas (Zietkiewicz et al., 1994).

Los marcadores ISSR no requieren conocimiento previo sobre las secuencias a amplificar y muestran un alto polimorfismo, segregan principalmente como

marcadores dominantes siguiendo la herencia mendeliana simple (Gupta et al., 1994). Este tipo de marcador molecular es empleado para conocer aspectos de diversidad genética intra e interpoblacional (Dávila et al., 2007; Thul et al., 2012; Ahmed, 2013) y relaciones genéticas y procesos evolutivos entre especies (Du et al., 2002; López et al., 2019). También proporcionan información biogeográfica, así como características ecológicas de las especies o colecciones de germoplasma sobre las cuales se desea trabajar (Wallace, 2003). El ISSR-PCR es un método sencillo y rápido que combina las mejores ventajas de los microsatélites, los AFLP y la universalidad de los RAPD (Pradeep et al., 2002).

2.13.7. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA ISSR PARA DETERMINAR MARCADORES MOLECULARES

Los ISSR son un tipo de marcador genético que permite evaluar los niveles de variación entre las regiones microsatélite que se encuentran dispersas en varios genomas, particularmente el nuclear aunque también se puede encontrar en otros organelos. Estas regiones consisten en repeticiones en tándem de pares de bases simples (CT) $_n$ ó (CA) $_n$, ubicadas entre secuencias no repetitivas del genoma nuclear eucarionte. Los pares de bases repetidos, llamados también SSRs (Simple sequence repeats) pueden ser penta-, tetra-, tri- y dinucleótidos. La longitud de las secuencias de los microsatélites tienden a ser altamente variables entre individuos debido a las altas tasas de mutación que experimentan, ya que cuando el ADN se replica durante la meiosis, la ADN polimerasa puede “tartamudear” hacia adelante o hacia atrás en las unidades repetidas, eliminando o agregando unidades a la cadena (Zietkiewicz et al., 1994; Wolfe, 2000). Estos marcadores son semiarbitrarios amplificados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de la presencia de un oligonucleótido o iniciador complementario a un microsatélite, diseñado para unirse a los pares de bases repetidos de di y trinucleótidos (evitando los mononucleótidos presentes en el cloroplasto). Los iniciadores de ISSR consisten en pares de bases repetidos de di- o trinucleótidos complementarios a la secuencia del microsatélite. A veces es posible añadir a esta secuencia un par de nucleótidos extra arbitrarios en el extremo 3' o en el 5', que

jugarán el papel de “anclas” asegurando así que la amplificación inicie siempre en el extremo 5' o en el 3' del microsatélite (Pradeep, 2002).

Cuando dos secuencias repetidas se presentan dentro de una distancia amplificable y con una orientación invertida, el ‘primer’ complementario a ellas puede inducir la amplificación del segmento de ADN intermedio. La molécula generada, con un tamaño particular (peso molecular), se considera un “locus”, que representa el segmento de ADN entre los microsatélites. Se ha verificado que los ISSR frecuentemente amplifican de 25 a 50 bandas en una sola reacción. Este patrón característico de productos de PCR se considera la “huella digital genética” de cada individuo analizado. El polimorfismo entre individuos de la misma población puede detectarse, ya que el análisis es sensible a la presencia/ausencia del elemento genómico reconocido por el iniciador y a la longitud de la secuencia intermedia amplificada (Zietkiewicz et al., 1994; López et al., 2019).

Las bandas ISSR se consideran marcadores dominantes. La presencia de la banda representa el genotipo dominante (homocigoto o heterocigoto), mientras que su ausencia representa el genotipo homocigoto recesivo. Se asume que siempre existen dos alelos por locus. La ausencia de una banda puede deberse a varios factores: 1. La no existencia de un sitio de unión completo al ‘primer’ debido a una mutación; 2. rearrreglos estructurales en el cromosoma durante la meiosis; 3. Inserciones o deleciones suficientemente grandes como para aumentar o disminuir el tamaño de la banda, de manera que se identifica como un locus diferente.

Finalmente, los marcadores ISSR, no requieren tener un conocimiento previo sobre las secuencias a amplificar además muestran un alto grado de polimorfismo en el material evaluado, siendo muy útiles en estudios de diversidad genética, filogenia, genómica y evolución (Reddy et al., 2002; Thul et al., 2012; López et al., 2019).

2.14. AGRUPAMIENTO DE GENOTIPOS

Los marcadores moleculares han contribuido a los estudios de divergencia y relación filogenética entre y dentro de especies vegetales de interés agrícola, con aplicaciones en la organización del germoplasma, así como mejoramiento y

genética de plantas. En estos estudios se utilizan técnicas multivariadas, como el análisis de conglomerados o agrupamientos, para la representación simplificada de los resultados. El preámbulo de dichos análisis es la construcción de una matriz de similitud (o distancia) entre los genotipos evaluados (Duarte et al., 1999).

Las variables registradas de marcadores moleculares dominantes (RAPDs o ISSR) son cualitativas. En cada posición relativa de una banda se tienen dos opciones, asignar un 1 en caso de presencia y 0 para la ausencia. El número de coincidencias positivas (1,1) se representa por a, y d es el número de coincidencias doble cero. Las discordancias (1,0) y (0,1) son representadas por b y c, respectivamente. Con base en estas opciones se han construido varios coeficientes de similitud S_{rs} y la distancia (disimilitud) está dada por $d_{rs}=1- S_{rs}$ (Khattree & Naik, 2000).

2.15. MEJORAMIENTO GENÉTICO EN EL CULTIVO DE CHILE

Las especies silvestres de las plantas cultivadas son fuente importante de genes primarios lo cual puede ayudar a resolver problemas de la agricultura actual, tales como tolerancia o resistencia a sequía, plagas y enfermedades causadas por virus, salinidad, acame, altas y bajas temperaturas, vida de anaquel, lo cual es posible a través del fitomejoramiento con la ingeniería genética (Hernández-Verdugo et al., 2015; Ramírez et al., 2018; Vijeth et al., 2019; Manzila et al., 2020; Ji et al., 2020), por lo cual debe asegurarse la conservación de éstas para posteriores programas de mejoramiento y/o uso sustentable (González-Cortés et al, 2015; Abu et al., 2019), en este sentido , el conocimiento de la diversidad morfológica y molecular de las especies y sus patrones de distribución geográfica es de gran interés para comprender la evolución de las especies vegetales, fenotipo, polinización y trabajar en su adecuada conservación (Solís-Neffa, 2010). Aunado a que en la actualidad muchos estudios concluyen que para tener una adecuada estimación de la diversidad genética dentro del género *Capsicum*, es necesaria la asociación entre los datos agronómicos, morfológicos y moleculares (Campos, 2016).

En la última década se han obtenido variedades de *Capsicum annuum* L., con rasgos de interés agronómico tales como resistencia a factores adversos, mayor

contenido de compuestos de interés y/o rendimiento y calidad de fruto (Vijeth et al., 2019; Ji et al., 2020), también se han desarrollado mapas genéticos de *capsicum* para determinar con detalle su arquitectura y contenido genético (Mimura et al., 2012).

El mejoramiento genético del chile necesita de información sobre el genoma de *Capsicum*, así como sobre la diversidad y estructura de poblaciones y sus relaciones filogenéticas, también deben identificarse genotipos que puedan aprovecharse en el mejoramiento genético del género, estos datos asistirán y guiará de forma exitosa los trabajos de mejoramiento así como la conservación de dichos recursos genéticos (Pérez-Castañeda et al., 2015; Abu et al., 2019; Yu et al., 2021).

2.16. CONCLUSIONES

Dada la diversidad genética presente en el género *Capsicum*, es indispensable que previo a iniciar un programa de mejoramiento genético se debe conocer la variabilidad genética que se conserva *in situ*; y para ello surge la necesidad de caracterizar morfológica y molecularmente las colectas de germoplasma de interés como en este caso lo fue en chile miahuateco, proceso que permita obtener información robusta y confiable sobre genotipos y caracteres de interés para el fitomejorador y para los agricultores, con la consecuente conservación de este germoplasma.

2.17. LITERATURA CITADA

Abadie, T., y Barretta, A. (2010). Caracterización y evaluación de recursos fitogenéticos. En Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (Eds.), *Estrategia en recursos fitogenéticos para los países del cono sur* (págs. 91-100). Procisur.

- Abu, N. E., Udoh, O. E., & Uguru, M. I. (2019). Evaluation of the parental and hybrid lines- Heterosis and other genetic parameters among *Capsicum annuum* genotypes and their hybrids. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 11(1), 11-16. doi: 10.5897/JPBCS2018.0739
- Adetula, A. O., & Olakojo, S. A. (2006). Genetic characterization and evaluation of some pepper accesions *Capsicum frutescens* (L): The Nigerian 'Shombo' collections. *American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 1, 273-281.
- Aguilar, R. V. H., Corona, T. T., López, L. P., Latournerie, M. L., Ramírez, M. M., Villalón, M. H., & Aguilar, C. J. A. (2010). Los chiles de México y su distribución. SINAREFI. Colegio de Postgraduados, INIFAP. IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114 p.
- Ahn, Y-K., Tripathi, S., Kim, J. H., Cho, Y. I., Lee, H. E., Kim, D. S., Woo, J. G., & Yoon, M. K. (2014). Microsatellite marker information from high-throughput next-generation sequence data of *Capsicum annuum* varieties Mandarin and Blackcluster. *Scientia Horticulturae*, 170, 123-130.
- Ahmed, S. M. (2013). Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in the evaluation of genetic polymorphism of Egyptian *Capsicum* L. hybrids. *African Journal of Biotechnology*, 12(7), 665-669. doi:10.5897/AJB12.2838
- Albrecht, E., Zhang, D., & Saftner, R. A. (2012). Genetic diversity and population structure of *Capsicum baccatum* genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59, 517-538. <https://doi.org/10.1007/s10722-011-9700-y>
- Azofeita-Delgado, A. (2006). Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 221-242.
- Baba, V. Y., Rocha, K. R., Gomes, G. P., Ruas, C. de F., Ruas P. M., Rodríguez, R. R., & Gonçalves, L. S. (2015). Genetic diversity of *Capsicum chinense* accessions base don fruit morphological characterization and AFLP markers.

- Barbero, G. F., Ruiz, A. G., Liazid, A., Palma, M., Vera, C. J. C., & Barroso, G. (2014). Evolution of total and individual capsaicinoids in peppers during ripening of the Cayenne pepper plant (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 153, 200-206.
- Blum, E., Mazourek, M., O'Connell, M., Curry, J., Thorup, T., Liu, K., & Paran, I. (2003). Molecular mapping of capsaicinoid biosynthesis genes and quantitative trait loci analysis for capsaicinoid content in *capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(1), 79-86. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1405-y>
- Bobadilla-Larios, V., Esparza-Ibarra, E., Delgadillo-Ruiz, L., Gallegos-Flores, P., & Ayala-Lujan, J. L. (2017). Variedades de chile (*Capsicum annuum* L.) identificadas mediante marcadores RAPD. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20, 465-473.
- Borovsky, Y., & Paran, I. (2011). Characterization of fs10.1, a major QTL controlling fruit elongation in *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 123, 657-665. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1615-7>
- Bosland, P. W., & Votava, E. J. (2012). Peppers. Vegetable and spice *Capsicums*. 2nd ed. Vol. 22. *Crop Production Science in Horticulture*. CABI. Cambridge, UK. 230 p.
- Bosland, P. W., Coon, D., & Reeves, G. (2012). 'Trinidad Moruga Scorpion' pepper is the world's hottest measured chile pepper at more than two million Scoville Heat Units. *HortTechnology*, 22, 534-538.
- Bosland, P. W., & Votava, E. J. (2000). Peppers: vegetable and spice *capsicums*. *Crop production science in horticulture*, 12. CAB International.

- Butcher, J. D., Crosby, K. M., Yoo, K. S., Patil, B., Jifon, J. L., & Rooney, W. L. (2013). Heterosis in different F1 *Capsicum annuum* genotypes for fruit traits, ascorbic acid, capsaicin, and flavonoids. *Scientia Horticulturae*, 159, 72-79.
- Butcher, J. D., Crosby, K. M., Yoo, K. S., Patil, B. S., Ibrahim, A. M. H., Leskovar D. I., & Jifon, J. L. (2012). Environmental and genotypic variation of capsaicinoid and flavonoid concentrations in Habanero (*Capsicum chinense*) peppers. *HortScience*, 47, 574-579.
- Campos, A. L., Marostega, T. N., Cabral, N. S. S., Araújo, K. L., Serafim, M. E., Seabra-Júnior, S., Sudré, C. P., Rodríguez, R., & Neves, L. G. (2016). Morphoagronomic and molecular profiling of *Capsicum* spp from southwest Mato Grosso, Brazil. *Genetics and Molecular Research*, 15(3), Artículo gmr.15038167. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15038167>
- Camacho, V., Maxted, T. C. N., Scholten, M., & Ford-Lloyd, B. (2005). Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 3, 373-384.
- Canto-Flick, A., Balam-Uc, E., Bello-Bello, J. J., Lecona-Guzmán, C., Solís-Marroquín, D., Avilés-Viñas, S., Gómez-Uc, E., López-Puc G., & Santana-Buzzy, N. (2008). Capsaicinoids content in habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.): Hottest known cultivars. *HortScience*, 43, 1344-1349.
- Caro, E. M., Leyva M. C. & J. Ríos S. (2014). Competitividad mundial de la producción de chile verde de México. *Revista de Economía*, 31, 95-128.
- Carvalho, S. I., Agassi, C. F., Ribeiro, C. S., Reifschneider, F. J., Buso, G. S., & Faleiro, F. G. (2017). Genetic variability of a Brazilian *Capsicum frutescens* germplasm collection using morphological characteristics and SSR markers. *Genetics and Molecular Research*, 16(3), 1-18. <https://doi.org/10.4238/gmr16039689>.
- Casas, A., Otero-Arnaiz, A., Pérez-Negrón, E., & Valiente-Banuet, A. (2007). In situ management and domestication of plants in Mesoamérica. *Annals of Botany*, 100, 1101-1115. doi: 10.1093/aob/mcm126

- Castañón-Nájera, G., Latournerie-Moreno, L., Leshner-Gordillo, J. M., Cruz-Lázaro, & Mendoza-Elos, E. de la, M. (2010). Identificación de variables para caracterizar morfológicamente colectas de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, 26, 225-234.
- Castañón-Nájera, G., Ramírez-Meraz, M., Ruiz-Salazar, R., & Mayek-Pérez, N. (2011). AFL marker application to explore heterosis in *Capsicum* spp. *Phyton International Journal of Experimental Botany*, 80, 53-88.
- Castellón, M. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., & Vera-Guzmán, A. M. (2014). Variación fenotípica de morfotipos de chile (*Capsicum annuum* L.) nativo de Oaxaca, México. *Phyton International Journal of Experimental Botany*, 83, 225-236.
- Cázares-Sánchez, E., Ramírez-Vallejo, P., Castillo-González, F., Soto-Hernández, R. M., Rodríguez-González, M. T., & Chávez-Servia, J. L. (2005). Capsaicinoids and preference of use in different morphotypes of chili peppers (*Capsicum annum* L.) of east-central Yucatan. *Agrociencia*, 39, 627-638.
- Charafi, J., Meziane, A., Moukhli, A., Boulouha, B., Modafar, C., & Khadari, B. (2008). Menara gardens: a Moroccan olive germplasm collection identified by a SSR locus-based genetic study. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(6), 893-900. <https://10.1007/s10722-007-9294-6>
- Contreras, T. A. R., López, S. H., Santacruz, V. A., Valadez, M. E., Aguilar, R. V. H., Corona, T. T., & López, P. A. (2011). Diversidad genética en México de variedades nativas de chile 'Poblano' mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34, 225-232.
- Corona-Torres, T., García-Velázquez, A., Castillo-González, F., Montero-Tavera, V., & Azpiroz-Rivero, H. S. (2000). Caracterización isoenzimática de la diversidad genética de colectas de chile (*Capsicum annuum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 6, 5-17. <https://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.1999.04.033>

- Dávila, M., Castillo, M. A., & Laurentin, H. (2007). Uso de marcadores moleculares ISSR para inferir las relaciones genéticas y variabilidad intraespecífica en Agave. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 33(1), 93-111.
- Dash, S. S., Kumar, S., & Singh, J. N. (2001). Cytomorphological characterization of a nuclear male sterile line of chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *Cytologia*, 66, 365-371.
- De la Cruz-Lázaro, E., Márquez-Quiroz, C., Osorio-Osorio, R., Preciado-Rangel, P., & Márquez-Hernández, C. (2017). Caracterización morfológica in situ de chile silvestre Pico de paloma (*Capsicum frutescens*) en Tabasco, México. *Acta Universitaria*, 27(2), 10-16. doi:10.15174/au.2017.1083
- De Souza, S. G. T., Pereira, S. A. H., Ferreira, Z. A. A., Isidoro, H. C. W., Matsushita, M., & Peralta, R. M. (2015). Fatty acid composition of *Capsicum* genus peppers. *Food Science And Technology*, 39(4). <https://doi.org/10.1590/S1413-70542015000400008>
- Dhaliwal, M. S., Yadav, A., & Jindal, S. K. (2014). Molecular characterization and diversity analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 13, 3137-3143. <https://doi.org/10.5897/ajb2014.13695>.
- Djian-Caporalino, C. V., Lefevre, A. M., y Sage-Daubeze, P. A. (2006). Capsicum. En *Vegetable Crops*. R. J. Singh (eds.), *Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement* (págs.185-243). Vol. 3. CRC Press. Boca Raton, FL.
- Donald, P. F. (2004). Biodiversity impacts of some agricultura commodity production systems. *Conservation Biology*, 18, 17-37. doi: 10.1111/j.1523-1739.2004.01803.x
- Du, J. K., Yao, Y. Y., Ni, Z. F., Peng, H. R., & Sun, Q. X. (2002). Genetic diversity revealed by ISSR molecular marker in common wheat, spelt, compactum and progeny of recurrent selection. *Acta Genética Sinica*, 29(5), 445-452. <https://europepmc.org/abstract/med/12043574>

- Duarte, J. M., Santos, J. B., & Melo, L. C. (1999). Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. *Genetics and Molecular Biology*, 22(3), 427-432. <http://doi.org/10.1590/S1415-47571999000300024>
- Escoto-Sandoval, C., Ochoa-Alejo, N., & Martínez, O. (2021). Inheritance of gene expression throughout fruit development in chili pepper. *Nature*, 11-22. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02151-z>
- FAO. (2010). Segundo Informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura en el mundo. Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura. *Food and Agricultural Organization of the United Nations*. Rome, Italy. 372 p.
- Ferreira, M. E., & Grattapaglia, D. (1998). Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Federal District, Brazil: *Embrapa*, 220 p.
- Franco, T. L. & Hidalgo, R. (2003). Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no. 8. Cali, Colombia: *Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI)*. 89 p.
- Gálvez-Muñoz, Y. A., Cea, M. M. E., Leshner, G. J. M., Latournerie-Moreno, L., Martínez-Moreno, E., Martínez, S. J. L., & Castañón-Nájera, G. (2021). Comparación Molecular de poblaciones de chile (*Capsicum* spp.) de Tabasco y Chiapas, México. *Bioagro*, 33(1), 3-12. <http://www.doi.org/10.51375/biagro331.1>
- García, E. (1987). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 4ª ed. Instituto de Geografía de la UNAM. México, D.F. 213 p.
- Gepts, P. (2004). Crop domestication as a long-term selection experiment. *Plant Breeding Reviews*, 24, 1-44. doi: 10.1002/9780470650288.ch1

- Giuffrida, D., Dugo, P., Torre, G., Bignardi, C., Cavazza, A., Corradini, C., & Dugo, G. (2013). Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry*, *140*, 794-802.
- González-Jara, P., Moreno-Letelier, A., Fraile, A., Piñero, D., & García-Arenal, F. (2011). Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. *PLoS One*, *6*, Artículo e28715. doi. 10.1371/journal.pone.0028715.
- González-Cortés, N., Jiménez, R., Guerra, E. C., Silos, H., & Payro, E. (2015). Germinación del chile amashito (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) en el sureste mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *6*(11), 2211-2218.
- González-Andrés, F. (2001). La caracterización vegetal: Objetivos y enfoques. En F. González-Andrés y J. M. Pita Villamil. (Eds.), *Conservación y caracterización de recursos fitogenéticos* (pp. 189-198). Valladolid, España: Publicaciones Instituto Nacional de Educación Agrícola.
- González-Pérez, S. A., Garcés-Claver, A., Mallor, L., Sáens de, M. L. E., Fayos, O., Pomar, F., Merino, F., & Silvar, C. (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., Sierra-Campos, E., Luna-Ortega, J. G., Pérez-Morales, R., Rodríguez O., J. C., & García-Hernández, J. L. (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.
- Gupta, S., Swinton, J., & Anderson, R. M. (1994). Theoretical studies of the effects of heterogeneity in the parasite population on the transmission dynamics of malaria. *Proceeding of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *256*(1347), 231-238. <https://doi.org/10.1098/rspb.1994.0075>

- Guzman, I., Bosland, P. W., y O'Connell, M. A. (2011). Heat, color, and flavor compounds in *Capsicum* fruit. En D. R. Gang (ed.), *The Biological Activity of Phytochemicals. Recent Advances in Phytochemistry*. (págs. 109-126). Springer. New York.
- Guzmán, F. A., Ayala, H., Azurdia, C., Duque, M. C., & de Vicente, M. C. 2005. AFLP assessment of *Capsicum* genetic resources in Guatemala. *Crop Science*, 45, 363-370.
- Haralayya, B., & Asha, I. S. (2017). Molecular Marker Application in *Capsicum* spp.: A supplement to Conventional Plant Breeding. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 3840-3855
- Hernández, V. A. E. (2013). Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Revista BioCiencias*, 2(3), 113-118.
- Hernández-Verdugo, S., Dávila, A. P., & Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 64, 65-84. doi: 10.17129/botscl.1583
- Hernández-Verdugo, S., González-Sánchez, R. A., Porras, F., Parra-Terraza, S., Valdéz-Ortíz, A., Pacheco-Olvera, A., & López-España, R. G. (2015). Plasticidad fenotípica de poblaciones de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) en respuesta a disponibilidad de luz. *Botanical Science*, 93(2), 231-240. doi: 10.17129/botscl.237
- Hernández-Verdugo, S., Porras, F., Pacheco-Olvera, A., López-España, R. G., Villarreal-Romero, M., Parra-Terraza, S., & Osuna-Enciso, T. (2012). Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. *Polibotánica*, 33, 175-191.

- Hidalgo R. (2003). Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. En T. L. Franco, R. Hidalgo (eds.), *Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos* (págs.. 2-26). Boletín Técnico IPGRI No. 8. *Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos* (IPGRI). Cali, Colombia.
- Hill, T. A., Ashrafi, H., Reyes-Chin-Wo, S., Yao, J., Stoffel, K., Truco, M. J., Kozik, A., Michelmore, R. W., & Van, D. A. (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
- Hornero-Méndez, D., Costa-García, J., & Mínguez-Mosquera, M. I. (2002). Characterization of carotenoid high-producing *Capsicum annuum* cultivars selected for paprika production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5711-5716.
- Ibiza, V. P., Blanca J., Cañizares, J., & Nuez, F. (2012). Taxonomy and genetic diversity of domesticated *Capsicum* species in the Andean region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(6), 1077-1088. <https://doi.org/10.1007/s10722-011-9744-z>
- Ilbi, H. (2003). RAPD markers assisted varietal identification and genetic purity test in pepper, *Capsicum annuum*. *Scientia Horticulturae*, 97(3), 211-218. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(02\)00158-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00158-9)
- IPGRI, AVRDC, CATIE. (1995). Descriptors for *Capsicum* (*Capsicum* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy; the Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan, and the Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica. 51 p.
- Iriondo, A. J. M. (2001). Conservación de recursos fitogenéticos. En F. González-Andrés y J. M. Pita (eds), *Conservación y caracterización de Recursos Fitogenéticos* (págs. 15-32). Publicaciones INEA. Valladolid, España.

- Jarret, R. L., Levy, I. J., Potter, T. L., & Cermak, S. C. (2013). Seed oil and fatty acid composition in *Capsicum* spp. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30, 102-108.
- Jeong, H. J., Jo, Y. D., Park, S. W., & Kang, B. C. (2010). Identification of *Capsicum* species using SNP markers base don high resolution melting analysis. *Genome*, 53(12), 1029-1040. <https://doi.org/10.1139/G10-094>
- Ji, L., Li, P., Su, Z., Li, M., & Guo, S. (2020). Cold-tolerant introgression line construction and low-temperature stress response analysis for bell pepper. *Plant Signaling & Behavior*, 15(7), Artículo e1773097. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1773097>
- Johnson, D. E. (2000). Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. Edit. *Paraninfos*. 566 p.
- Juhász, G. A., Stágel, A., Ács, S., Zatykó, L., & Nagy, I. (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.
- Kadri, B. M., Esiyok, E., & Turhan, K. (2009). Patterns of phenotypic variation in a germplasm collection of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Turkey. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 7, 83-95.
- Kalia, R. K., Rai, M. K., Kalia, S., Singh, R., & Dhawan, A. K. (2011). Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177(3), 309-334. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0286-9>
- Karp, A., y Edwards, K. J. (1998). DNA markers: a global overview. En G. Caetano-Anolle's, y P. M. Gresshoff (Eds.), *DNA Markers: Protocols, applications and overviews* (págs. 1-13). Wiley, New York: J. Wiley & Sons.

- Kessier, J. J., Rood, T., Tekelenburg, T., & Bakkenes, M. (2007). Biodiversity and socioeconomic impacts of selected agro-commodity production systems. *The Journal of Environment & Development*, 16(2), 131-160. doi: 10.1177/1070496507302516
- Keum, Y. S., Park, H. W., Song, H. H., Kim, B. D., Kang, B. C., & Kim, J. H. (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., Curry, J., Romero, J., & O'Connell, M. A. (2014). Fruit specific variability in capsaicinoid accumulation and transcription of structural and regulatory genes in *Capsicum* fruit. *Plant Science*, 215, 59-68.
- Khattree, R., & Naik, D. N. (2000). Multivariate Data Reduction and Discrimination with SAS Software. SAS Publishing. Cary, N. C., U.S.A.
- Khoury, C. K., Carver, D., Barchenger, D. W., Barboza, G. E., Van, Zonneveld, M., & Jarret, R. (2020). Modelled distributions and conservation status of the wild relatives of chile peppers (*Capsicum* L.). *Biodiversity Research*, 26(2), 209-225. <https://doi.org/10.1111/ddi.13008>
- Kim, S., Park, J., & Hwang, K. I. (2002). Changes in FA composition and antioxidative activity of pigment extracts from Korean red pepper powder (*Capsicum annuum* L.) due to processing conditions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79, 1267-1270.
- Konishi, A., Furutani, A., Minamiyama, Y., & Ohyama, A. (2019). Detection of quantitative trait loci for capsanthin content in pepper (*Capsicum annuum* L.) at different fruit ripening stages. *Breeding Science*, 69(1), 30-39.
- Kraft, K., Brown, C. H., Nabhan, G. P., Luedeling, E., Luna-Ruiz, J. de J., Coppens d'Eeckenbrugge, G., Hijmans, R. J., & Geps, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), 6165-6170. doi: 10.1073/pnas.1308933111

- Krebs, J. E., Lewin, B., Goldstein, E. S., & Kilpatrick, S. T. (2018). *Lewin's genes XII*. Massachusetts, USA: Jones & Bartlett Learning. 892 p.
- Kumar, O. A., Tata, S. S., & Rupavathi, T. (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.
- Latournerie, M. L., Chávez, S. J. L., Pérez, G. M., Castañón, N. G., Rodríguez, H. S. A., Arias, R. L. M., & Ramírez, V. P. (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., Nahm, S. H., Kim, Y. M., & Kim, B. D. (2004). Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theoretical and Applied Genetics*, 108, 619-627.
- Lefebvre, V. A., Palloix, C. C., & Pochard, E. (1995). Construction of an intraspecific integrated linkage map of pepper using molecular markers and doubled-haploid progenies. *Genome*, 38, 112-121.
- Lefebvre, V., Kuntz, M., Camara, B., & Palloix, A. (1998). The capsanthin-capsorubin synthase gene: a candidate gene for the y locus controlling the red fruit color in pepper. *Plant Molecular Biology*, 36(5), 785-789. <https://doi.org/10.1023/A:1005966313415>
- Liu, A., Han, C., Zhou, X., Zhu, Z., Huang, F., & Shen, Y. (2013). Determination of three capsaicinoids in *Capsicum annuum* by pressurized liquid extraction combined with LCMS/MS. *Journal of Separation Science*, 36, 857-862.
- López-Espinosa, S. T., Latournerie-Moreno, L., Castañón-Nájera, G., Ruiz-Sánchez, E., Gómez-Leyva, J., Andueza-Noh, R. H., & Mijangos-Cortés, J. O. (2018). Genetic diversity of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) using ISSR. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(3), 227-236.

- Lopez, C. L. D., Garruña, H. R., Castillo, A. C. D., Martínez-Hernández, A., Ortiz-García, M. M., & Andueza-Noh, R. H. (2019). Structure and genetic diversity of nine important landraces of *Capsicum* species cultivated in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Agronomy*, 9(7), 376.
- Lowe, A., Harris, S., & Ashton, P. (2004). *Ecological Genetics. Design, Analysis, and Application*. Oxford, UK: Blackwell Publishing. 344 p.
- Manzila, I., Priyatno, T. P., Nugroho, K., Terryana, R. T., Lestari, P., & Hidayat, S. H. (2020). Molecular and morphological characterization of EMS-induced chili pepper mutants resistant to Chili veinal mottle virus. *Biodiversitas*, 21(4), 1448-1457. doi: 10.13057/biodiv/d210424
- Martínez-Sánchez, D., Pérez-Grajales, M., Rodríguez-Pérez, J. E., & Moreno, P. E. C. (2010). Colecta y caracterización morfológica de 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 16, 169-176.
- Massot P. H., & Barbieri, R. L. (2016). Plant breeding of chili peppers (*Capsicum*, solanaceae) A review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(15), 148-154.
- McCouch, S. R., Chen, O. X., Panand, S., Temnykh, S., Xu, Y., Cho, Y. G., Huang, N., Ishii, T., & Blair, M. (1997). Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Molecular Biology*, 35, 89-99.
- Meckelmann, S. W., Riegel, D. W., van Zonneveld, M. J., Ríos, L., Peña, K., Ugas R., Quiñonez, L., Mueller-Seitz, E., & Petz, M. (2013). Compositional characterization of native Peruvian chili peppers (*Capsicum* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 2530-2537.
- Meckelmann, S. W., Jansen, C., Riegel, D. W., van Zonneveld, M., Ríos, L., Peña, K., Mueller-Seitz, E., & Petz, M. (2015). Phytochemicals in native Peruvian *Capsicum pubescens* (Rocoto). *European Food Research and Technology*, 241, 817-825.

- Minamiyama, Y., Tsuru, M., & Hirai, M. (2006). An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding*, 18(2), 157-169. <https://doi.org/10.1007/s11032-006-9024-3>
- Mimura, Y., Inoue, T., Minamiyama, Y., & Kubo, N. (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.
- Morán, B., Ribero, B. M., García, F. Y., y Ramírez, V. P. (2004). Patrones isoenzimáticos de chiles criollos (*Capsicum annuum* L.) de Yucatán, México. En J. L. Chávez-Servia, J. Tuxill y D. I. Jarvis (eds.), *Manejo de la Diversidad de los Cultivos en los Agroecosistemas Tradicionales* (págs. 83-89). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia.
- Moreno-Peris, E., Cortés-Olmos, C., Díez-Díaz, M., González-Mas, M. C., Luis-Margarit, A., Fita, A., & Rodríguez-Burruezo, A. (2020). Hybridization in peppers (*Capsicum* spp.) to improve the volatile composition in fully ripe fruits: The effects of parent combinations and fruit tissues. *Agronomy*, 10, 751. doi: 10.3390/agronomy10050751
- Moscone, E. A., Scaldaferrro, M. A., Grabiele, M., & Cecchini, N. M. (2007). The evolution of chili peppers (*Capsicum*-solanaceae): a cytogenetic perspective. *Acta Horticulturae*, 745, 137-169. doi:10.17660/ActaHortic.2007.745.5
- Nagy, I., Stágel, A., Sasvári, Z., Röder, M., & Ganai, M. (2007). Development, characterization, and transferability to other Solanaceae of microsatellite markers in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Genome*, 50, 668-688.
- Naghavi, M. R., & Jahansouz, M. R. (2005). Variation in the agronomic and morphological traits of Iranian chickpea accessions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 47, 375-379.
- Naresh, P., Lin, S. W., Lin, C. Y., Wang, Y. W., Schafleitner, R., Kilian, A., & Kumar, S. (2018). Molecular markers associated to two non-allelic genic male sterility genes in peppers (*Capsicum annuum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 9, 1343. doi: 10.3389/fpls.2018.01343

- Naves, E. R., Silva, L. A., Sulpice, R., Araujo, W. L., Nunes-Nesi, A., & Peres, L. E. P. (2019). Caapsaicinoids: pungency beyond Capsicum. *Trends in Plant Science*, 24, 109-120. doi: 10.1016/j.tplants.2018.11.0011
- Nicolai, M., Cantet, M., Lefebvre, V., Sage-Palloix, A. M., & Palloix, A. (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. <https://doi.org/10.1007/s10722-013-0006-0>
- Orellana-Escobedo, L., García-Amezquita, L. E., Olivas, G. I., Ornelas-Paz, J. J., & Sepúlveda, D. R. (2013). Capsaicinoids content and proximate composition of Mexican chili peppers (*Capsicum* spp.) cultivated in the State of Chihuahua. *CyTA-Journal of Food*, 112, 179-184. doi: 10.1080/19476337.2012.716082
- Ortíz, R., Delgado de la Flor, F., Alvarado, G., & Crossa, J. (2010). Classifying vegetable genetic resources- A case study with domesticated *Capsicum* spp. *Scientia Horticulturae*, 126, 186-191.
- Oyama, K., Hernández-Verdugo, S., Sánchez, C., González-Rodríguez, A., Sánchez-Peña, P., Garzón-Tiznado, J. A., & Casas, A. (2006). Genetic Structure of Wild and Domesticated Populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from Northwestern México Analyzed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(3), 553-562. <https://doi.org/10.1007/s10722-004-2363-1>
- Pacheco-Olvera, A., Hernández-Verdugo, S., Rocha-Ramírez, V., González-Rodríguez, A., & Oyama, K. (2012). Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern Mexico analyzed by microsatellite markers. *Crop Science*, 52, 231-241. <https://doi.org/10.2135/cropsci2011.06.0319>

- Parry, C., Wang, Y. W., Lin S. W., & Barchenger, D. W. (2021). Reproductive compatibility in *Capsicum* is not necessarily reflected in genetic or phenotypic similarity between species complexes. *PLos ONE*, 16(3), Artículo e0243689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243689>
- Pascual, U. & Perrigs, C. (2007). Developing incentives and economic mechanisms for in situ biodiversity conservation in agricultural landscapes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 121(3), 256-268. doi: 10.1016/j.agee.2006.12.025
- Patel, A. S., Sasidharan, N., Vala, A. G., & Kumar, V. (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., Castañón-Nájera, G., Ramírez-Meza, M., & Mayek-Pérez, N. (2015). Advanves and perspectives about the study of the origin and genetic diversity of *Capsicum* spp. *Filogenia y Diversidad en Capsicum*, 2(4), 117-128.
- Pereira-Dias, L., Vilanova, S., Fita, A., Prohens, J., & Rodríguez-Barrueso, A. (2019). Genetic diversity, population structure, and relationships in a collection of pepper (*Capsicum* spp) landraces from the spanish centre of diversity revealed by genotyping-by-sequencing (GBS). *Horticulture Research*, 6(54). doi: 10.1038/s41438-019-0132-8
- Perry, L., Dickau, R., Zarrillo, S., & Holst, I. (2007). Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (*Capsicum* spp. L.) in the Americas. *Science*, 315, 986-988. doi: 10.1126/science.1136914
- Perry, L., & Flannery, K. V. (2017). Precolumbian use of chili peppers in the valley of Oaxaca, México. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 11905-11909.
- Pickersgill, B. (1991). Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L. En T. Tsuchiya y P. K. Gupta (eds.), *Chromosome Engineering in Plants, Genetics, Breeding and Evolution* (págs. 139-160). Elsevier, Amsterdam.

- Pickersgill, B. (1997). Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*, 96, 129-133. doi: 10.1023/A:1002913228101
- Pickersgill, B. (2007). Domestication of plants in the Americas: Insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*, 100, 925-940. doi: 10.1093/aob/mcm193
- Piñeiro, D., Caballero-Mellano, J., Cabrera-Toledo, D., Canteros, C. E., Casas, A., Castañeda-Sortibrán, A., Castillo, A., Cerritos, R., Chassin-Noria, O., Colunga-García, M. P., Delgado, P., Díaz-Jaimes, P., Eguiarte, L. E., Escalante, A. E., Espinoza, B., Fleury, A., Flores, R.S., Fragosó, G., González-Astorga, J., Islas, V. V., Martínez, E., Martínez, F., Martínez-Castillo, J., Mastretta, Y. A., Medellín, R., Medrano-González, L., Molina-Freaner, F., Morales, V. B., Murguía, V. A., Payró de la Cruz, E., Reyes-Montes, M., Robles, S. M., Rodríguez-Arellanes, G., Rojas, B. L., Romero-Martínez, R., Sahaza-Cardona, J., Salas, L. R., Sciutto, E., Scott, B. C., Schramm, U. Y., Silva, C., Souza, V., Taylor, M., Urbán, R. J., Uribe-Alcocer, M., Vázquez, C. M., Vázquez-Domínguez, E., Vovides, A. P., Wegier, A., Zaldívar-Riverón, A., y Zúñiga, G. (2008). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. En J. Soberón, G. Halffter y J. Llorente-Bousquets (Eds.), *Capital natural de México. Volumen 1: Conocimiento actual de la Biodiversidad* (págs. 437-494). CONABIO.
- Portis, E., Nervo, G., Cavallanti, F., Barchi, L., & Lanteri, S. (2006). Multivariate analysis of genetic relationships between Italian pepper landraces. *Crop Science*, 46, 2517-2525.
- Portis, E., Nagy, I., Sasvári, Z., Stágel, A., Barchi, L., & Lanteri, S. (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.
- Pradeep, R., Sarla, N., & Siddiq, E. A. (2002). Inter simple sequence repeats (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128(1), 9-17. <https://doi.org/10.1023/A:1020691618797>

- Rao, R. V., & Hodgkin, T. (2002). Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 68, 1-19. doi: 10.1023/A:1013359015812
- Rahevar, P. M., Patel, J. N., Kumar, S., & Acharya, R. (2019). Morphological, biochemical and molecular characterization for genetic variability analysis of *Capsicum annuum*. *Vegetos*, 32(2), 131-141.
- Ramírez, N. U. I., Cervantes, O. F., Montes, H. S., Raya, P. J. C., Cibrian, J. A., & Andrio, E. E. (2018). Diversidad morfológica del chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) de Querétaro y Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(6). <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i6.1581>
- Ramírez-Meraz, M., Villalón-Mendoza, H., Aguilar-Rincón, V.H., Corona-Torres, T., & Latournerie-Moreno, L. (2018). Caracterización morfológica de chile silvestres y semidomesticados de la región Huasteca de México. *Agro Productividad*, 8(1). <https://mail.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/632>
- Rana, M., Sharma, R., Sharma, P., Bhardwaj, S. V., & Sharma, M. (2014). Estimation of genetic diversity in *Capsicum annuum* L. germplasm using PCR-based molecular markers. *National Academy Science Letters*, 37(3), 295-301. doi: 10.1007/s40009-014-0236-5
- Reddy, M., Sarla, N., & Siddiq, E. (2002). Inter simple sequence repeats (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128(1), 9-17.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure - antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 933-956.
- Rodriguez-Urbe, L., Guzman, I., Rajapakse, W., Richins, R. D., & O'Connell, M. A. (2012). Carotenoid accumulation in orange-pigmented *Capsicum annuum* fruit, regulated at multiple levels. *Journal Experimental Botany*, 63, 517-526

- Romero-da Cruz, M. V., Urdampilleta, J. D., Forni Martins, E. R., & Moscone, E. A. (2017). Cytogenetic markers for the characterization of *Capsicum annuum* L. cultivars. *Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 151(1), 84-91. doi: 10.1080/11263504.2015.1103798
- SAS Institute. (2008). SAS/STAT[®] 9.2. User's Guide. SAS Inst. Inc. Cary, NC, USA.
- Schweiggert, U., Carle, R., & Schieber, A. (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., Luitel, B. P., Lee, T. J., & Kang, W. H. (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.
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021). Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SADER. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2021/Panorama-Agroalimentario-2021
- Silva, L. R., Azevedo, J., Pereira, M. J., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2013). Chemical assessment and antioxidant capacity of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 240-248.
- Singh, R. K., Mishra, G. P.; Thakur, A. K. y Singh, S. B. (2008). Molecular markers in plants. En R. K. Singh; R. Singh; G. Ye; A. Selvi y G. P. Rao. (Eds.), *Molecular plant breeding: principle, method and application* (págs. 35-78). Texas, USA: Studium Press LLC.
- Singh, B. D. & Thakur, A. K. (2015). Marker-assisted plant breeding: principles and practices. New Delhi, India. *Springer*, 514 p.

- Solís-Neffa, V. G. (2010). Geographic patterns of morphological variation in *Turnera sinoides* subsp. *Pinnatifida* (Turneraceae). *Plant Systematics and Evolution*, 284, 231-253.
- Stewart, C., Mazourek, M., Stellari, G. M., O'Connell, M., & Jahn, M. (2007). Genetic control of pungency in *C. chinense* via the Pun1 locus. *Journal of Experimental Botany*, 58, 979-991.
- Staub, J. E., Serquen, F. C., & Gupta, M. (1996). Genetic Markers, Map Construction, and Their Application in Plant Breeding. *HortScience*, 31(5), 729-741. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.31.5.729>
- Sugita, T., Semi, Y., Sawada, H., Utoyama, Y., Hosomi, Y., Yoshimoto, E., Maehata, Y., Fukuoka, H., Nagata, R., & Ohyama, A. (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. I., Choi, L., Lee, Y. B., Choi, K. Y., Hong, S. K., & Kang, H. M. (2014). Molecular diversity and phylogenetic analysis of *Capsicum annuum* varieties using the nrDNA ITS region. *Scientia Horticulturae*, 165, 336-343.
- Tanksley, S. (1983). Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1, 3-8. doi: 10.3923/pjbs.2002.1141.1147
- Thul, S.T., Darokar, M. P., Shasany, A. K., & Khanuja, S. P. (2012). Molecular profiling for genetic variability in *Capsicum* species based on ISSR and RAPD markers. *Molecular Biotechnology*, 51(2), 137-147.
- Toledo-Aguilar, R., López-Sánchez, H., López, P. A., Guerrero-Rodríguez, J. D., Santacruz-Varela, A., & Huerta de la Peña, A. (2011). Características vegetativas, reproductivas y de rendimiento de fruto de variedades nativas de Chile "Poblano". *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17, 139-150.

- Toledo-Aguilar, R., López-Sánchez, H., López, P. A., Guerrero-Rodríguez, J. D., Santa-Cruz-Varela, A., & Huerta-de la Peña, A. (2016). Morphological diversity of native population's poblano pepper. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(5), 1005-1015.
- Tundis, R., Loizzo, M. R., Menichini, F., Bonesi, M., Conforti, F., Statti, G., De Luca, D., de Cindio, B., & Menichini, F. (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.
- Ulhoa, A. B., Pereira, T. N., Silva, R. N., Ragassi, C. F., Rodriguez, R., Pereira, M. G., & Reifschneider, F. J. (2014). Caracterização molecular de linhagens de pimenta tipo Jalapeño amarelo. *Horticultura Brasileira*, 32(1), 35-40.
- Ulhoa, A. B., Pereira, T. N. S., Ribeiro, C. S. C., Moita, A. W., & Reifschneider, F. J. B. (2017). Obtenção e caracterização morfoagronômica de linhagens de pimenta do tipo jalapeño amarelo. *Horticultura Brasileira*, 35, 343-348. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620170305>
- UPOV. (2006). Directrices para la ejecución del exámen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad: ají, chile, pimienta. Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV). Ginebra, Suiza. 47 p.
- Valadéz, E. & Kahl, G. (2000). Huellas de ADN en genomas de plantas. Texcoco, México. Mundi-Prensa, México, S. A. de C. V. Universidad Autónoma Chapingo. 147p.
- Varghese, S., Kubatka, P., Rodrigo, L., Gazdikova, K., Caprnda, M., & Fedotova, J. (2017). Chili pepper as a body weight-loss food. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68, 392-401. doi: 10.1080/09637486.2016.1258044
- Vázquez-Flota, F., Miranda-Ham, M. L., Monforte-González, M., Gutiérrez-Carbajal, G., Velázquez-García, C., & Nieto-Pelayo, Y. (2007). La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30, 353-360.

- Vera-Guzmán, A. M., Chávez-Servia, J. L., Carrillo-Rodríguez, J. C., & López, M. G. (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.
- Vera-Sánchez, K. S., Cadena-Iñiguez, J., Latournerie-Moreno, L., Santiaguillo-Hernández, J. F., Rodríguez-Contreras, A., Basurto-Peña, F. A., Castro-Lara, D., Rodríguez-Guzmán, E., López-López, P., & Rios-Santos, E. (2016). Conservación y utilización sostenible de las hortalizas nativas de México. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). México, D.F. 132 p.
- Vijeth, S., Sreelathakumary, I., Rafeekher, M., & Kaushik, P. (2019). Appraisal of genetics and heterosis of important traits in chili pepper cultivated under the influence of chili leaf curl virus disease. *Preprints*. doi: 10.20944/preprints2019.0415.v1
- Votava, E. J., Baral, J. B., & Bosland, P. W. (2005). Genetic diversity of chile (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) landraces from Northern New Mexico, Colorado and Mexico. *Economic Botany*, 59, 8-17.
- Wallace, L. E. (2003). Molecular Evidence for Allopolyploid Speciation and Recurrent Origins in *Platanthera huronensis* (Orchidaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 164(6), 907-916. <https://doi.org/10.1086/378658>
- Wolfe, A. (2000). ISSR Resource Website. <http://www.biosci.ohio-state.edu/~awolfe/ISSR/ISSR.html>
- Wu, F., Eannetta, N. T., Xu, Y., Durrett, R., Mazourek, M., Jahn M. M., & Tanksley, S. D. (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.
- Xiao-min, Z., Zheng-hai, Z., Xiao-zhen, G., Sheng-li, L., Chadoeuf, J., Palloix, A., Li-hao, W., & Bao-xi, Z. (2016). Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp)

- germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(9), 1991-2001
- Yi, G., Lee, J. M., Lee, S., Choi, D., & Kim, B. D. (2006). Exploitation of pepper EST–SSRs and an SSR-based linkage map. *Theoretical and Applied Genetics*, 114, 113-130.
- Yu, D., Gu, X., Zhang, S., Dong, S., Miao, H., Gebretsadik K., & Bo K. (2021). Molecular basis of heterosis and related breeding strategies reveal its importance in vegetable breeding. *Horticulture Research*, 8,120. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00552-9>
- Zabeau, M. (1993). Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. *European Patent Application*, Artículo 92402629.7. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10012136811/>
- Zhang, B., Hu, F., Cai, X., Cheng, J., Zhang, Y., Lin, H., Hu, K., & Wu, Z. (2022). Integrative analysis of the metabolome and transcriptome of a cultivated pepper and its wild progenitor chiltepín (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) revealed the loss of pungency during *Capsicum* domestication. *Frontiers in Plant Science*, Artículo 12:783496. doi:10.3389/fpls.2021.783496.
- Zhigila, D. A., AbdulRahaman, A. A., Kolawole, O. S., & Oladele, F. A. (2014). Fruit morphology as taxonomic features in five varieties of *Capsicum annuum* L. Solanaceae. *Journal of Botany*, 1-6. doi: 10.1155/2014/540868
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeats (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20, 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>
- Zimmer, A. R., Leonardi, B., Miron, D., Schapoval, E., de Oliveira, J. R., & Gosmann, G. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Capsicum baccatum*: from traditional use to scientific approach. *Journal of Ethnopharmacology*, 139, 228-233.

CAPÍTULO III. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE 94 COLECTAS DE CHILE MIAHUATECO (*Capsicum annuum* L.) NATIVO DE MÉXICO

RESUMEN

Al ser una materia prima esencial para la elaboración del mole poblano, una gama de platillos típicos en la gastronomía poblana, y representar uno de los cultivos más rentables del valle de Tehuacán, Puebla, hacen del chile miahuateco (*Capsicum annuum* L.) un recurso genético con caracteres agronómicos útiles en el mejoramiento de nuevos cultivares, sin embargo, la diversidad genética en esta especie ha sido poco valorada. La presente investigación tuvo como objetivo caracterizar morfológica y molecularmente 94 accesiones de chile Miahuateco (*Capsicum annuum* L.) nativo del Valle de Tehuacán, Puebla. La caracterización morfológica se desarrolló bajo condiciones de invernadero con 58 descriptores morfológicos para *Capsicum* del International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, 1995). La caracterización molecular se realizó con 24 marcadores moleculares ISSR que generaron 241 bandas con 64 % de polimorfismo. El tratamiento estadístico de la información morfológica consistió en análisis de agrupamiento con el algoritmo de mínima varianza de Ward con distancias de Gower, y discriminante y de comparaciones de medias al considerar los grupos generados. La información de la caracterización molecular se trató con un análisis de agrupamiento con el algoritmo de mínima varianza de Ward y distancias de Jaccard. Se detectaron 6 grupos morfológicos definidos por las características de fruto: cavidad peduncular, color, forma, así como de flores por bifurcación y frutos totales. Molecularmente se detectaron 8 grupos, por lo cual la caracterización morfológica y molecular son herramientas complementarias que permiten identificar la diversidad genética de chile miahuateco. Por la variabilidad encontrada entre las poblaciones se sugiere que estas podrían ser empleadas para el mejoramiento genético de este cultivo para caracteres de rendimiento, tamaño, forma y color de fruto. Sin embargo, antes de su uso es necesario establecer estrategias que permitan su conservación, por lo que se sugiere resguardar el 53 % de las recolectas evaluadas.

Palabras Clave: mejoramiento genético, marcadores moleculares, caracteres morfológicos, recursos genéticos, conservación de germoplasma.

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF 94 ACCESSIONS OF MIAHUATECO CHILI PEPPER (*Capsicum annuum* L.) NATIVE TO MEXICO

For being an essential raw material for the elaboration of mole poblano, a range of typical dishes in Pueblan gastronomy, and representing one of the most profitable crops in Tehuacán Valley, Puebla, Miahuateco chili pepper (*Capsicum annuum* L.) is a resource with useful agronomic characters in the improvement of new cultivars, however, the genetic diversity in this species has been little valued. The objective of this research was to characterize morphologically and molecularly 94 accessions of Miahuateco chili pepper (*Capsicum annuum* L.) native to Tehuacán Valley, Puebla. Morphological characterization was developed under greenhouse conditions with 58 morphological descriptors for *Capsicum* from the International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, 1995). Molecular characterization was performed with 24 ISSR molecular markers that generated 241 bands with 64% polymorphism. Statistical treatment of morphological information consisted of grouping analysis with Ward's minimum variance algorithm with Gower distances, discriminant analysis and mean comparisons when considering the generated groups. Molecular characterization information was treated with a cluster analysis with Ward's minimum variance algorithm and Jaccard distances. Six morphological groups defined by the characteristics of the fruit were detected: peduncle cavity, color, shape, as well as flowers by bifurcation and total fruits. Molecularly, 8 groups were detected, for which the morphological and molecular characterization are complementary tools that allow identifying the genetic diversity of Miahuateco chili pepper. Due to the variability found between the populations, it is suggested that these populations could be used for the genetic improvement of this crop for yield characters, size, shape and color of the fruit. However, before its use it is necessary to establish strategies that allow its conservation, for which it is suggested to protect 53% of the evaluated accessions.

Key words: genetic breeding, molecular markers, morphological characters, genetic resources, germplasm conservation.

3.1. INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* se conforma por 32 especies, entre las cuales se observa variación genética en diferentes caracteres como formas, colores, picor y tamaños de frutos, de los cuales en México se desarrolló el proceso de domesticación y diversificación (Bosland & Votava, 2012). En las regiones Centro y Sur de México se observa la conservación y aprovechamiento de genotipos nativos que han sido seleccionados durante siglos por los productores de esta hortaliza (Luna-Ruíz et al., 2018).

Las especies silvestres y criollas son una fuente importante de germoplasma para el fitomejoramiento porque sus variantes permiten incrementar la base genética de los cultivos (Marín-Montes et al., 2019; Khoury et al., 2020). Así, es primordial conocer los recursos genéticos con los que cuenta el cultivo para establecer estrategias que permitan su aprovechamiento (Carvalho et al., 2017). Por lo que, es necesario realizar diversas acciones que coadyuven a este objetivo, entre las cuales sobresalen la caracterización morfológica y/o molecular de poblaciones silvestres y nativas.

Ante el incremento del número de accesiones que son conservadas en bancos de germoplasma es imprescindible detectar materiales duplicados, para esto es necesario tomar decisiones a partir de caracterizaciones morfológicas, moleculares y valor antropocéntrico, lo cual permitirá mantener solo genotipos distintos con un uso potencial (Marín-Montes et al., 2016).

Respecto a evaluaciones morfológicas en Chile se han realizado diferentes estudios sobre calidad postcosecha, variación de fruto, calidad culinaria y nutracéutica (Ramírez-Meraz, 2018; Moreno-Peris et al., 2020), resistencia a virus (Vijeth et al., 2019; Manzila et al., 2020; Zhang et al., 2022) tolerancia a factores abióticos como salinidad y bajas temperaturas (Ji et al., 2020). A pesar de la importancia que representan los recursos fitogenéticos, se estima que sólo el 20 % de las recolectas realizadas a nivel mundial han sido caracterizadas, por lo tanto, la función principal de los bancos de germoplasma es de un almacén de semillas (Orton & Ayeni, 2022).

La variación genética en plantas puede valorarse mediante marcadores moleculares basados en PCR (Gálvez-Muñoz et al., 2021). En Chile se han utilizado diferentes marcadores, entre los que se encuentran los ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), que permiten la detección de polimorfismo significativo en accesiones de *Capsium* (Ibarra-Torres et al., 2015; López et al., 2019; Gutiérrez-Burón et al., 2020).

Debido a que la domesticación y diversificación de *Capsicum annum* L. se desarrolló en México, es posible que dentro de sus genotipos silvestres y criollos se podría conservar un amplio reservorio de variantes morfológicas que resultarían útiles para el mejoramiento genético de esta hortaliza de importancia económica mundial. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue caracterizar morfológicamente y molecularmente 94 colectas de Chile miahuateco (*Capsicum annum* L.) nativos del Valle de Tehuacán, Puebla, y generar una estrategia de conservación de uso sostenible para su mejoramiento genético.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Colectas evaluadas

Los genotipos evaluados fueron 94 colectas de Chile Miahuateco, del Valle de Tehuacán, Puebla (Cuadro 1).

Cuadro 1. Colectas de Chile Miahuateco evaluadas y su lugar de procedencia.

No.	Colectas	Lugar de procedencia
59	C4, C6, C9, C10; C12, C13, C14, C15, C18, C19, C20, C21; C22, C24, C25, C27, C28, C29, C30, C31, C33, C34, C35, C37, C38, C39, C40, C42, C43; C44, C46, C47; C49, C50, C53, C54, C56, C58, C61, C62, C63, C65, C67,	Santo Nombre, Tlacotepec de Benito Juárez (18°39'35" LN y 97°41'11" LO)

	C69; C71, C72, C74, C76, C78, C83, C84, C87, C90, C92, C93, C94; C118, C120, C122	
2	C125 y C130	La Estación, Tlacotepec de Benito Juárez 18°41'51" LN y 97°38'53" LO
1	C134	La Sabana, Tlacotepec de Benito Juárez 18°40'09" LN y 97°38'34" LO
32	C144, C149, C150, C151, C156, C157, C163, C164, C167; C168, C170, C171, C173, C174, C175, C176, C178, C180, C182, C183, C185; C187, C188, C189, C191, C194; C202, C203, C204, C213, C214, C220	La Magdalena Cuayucatepec 18°34'40" LN y 97°29'14" LO

3.2.2. Caracterización morfológica

La caracterización morfológica se realizó en octubre de 2020 a mayo de 2021, bajo condiciones de invernadero tipo "Baticenital" de nivel tecnológico medio, con cubierta de polietileno calibre 600 con 70 % de transmisión de luz, con ventilación frontal, lateral y superior, ubicado en el Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 184 de Acatlán de Osorio, Puebla (18° 13' 29"LN y 98° 02' 17" LO; 1204 msnm).

Las colectas se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades con una mezcla 3:1 de turba (Kekkila®, Europa) y agrolita (Multiperl®, Mexicana) como sustrato. El trasplante se realizó 32 días después de la siembra, cuando la planta tuvo 5 hojas verdaderas. Se establecieron en suelo, en camas de 40 cm de ancho,

30 cm de alto, 80 cm de separación entre camas, y 40 cm entre plantas, con lo cual se obtuvo una densidad de plantación de 2.5 plantas·m⁻². Se usó un diseño experimental de bloques completos al azar con tres repeticiones. La unidad experimental se conformó por 10 plantas.

El manejo agronómico se realizó acorde a las necesidades del cultivo. Se realizó tutoreo con rafia negra tratada contra rayos UV, el control de mosquita blanca y trips se realizó con Imidacloprid[®] y Abamectina[®] respectivamente. Se aplicó Metalaxil 250[®] para el control de enfermedades fungosas de raíz. La nutrición se proporcionó mediante fertirrigación con la solución nutritiva Steiner (1984) a 2.0 dS/m, pH de 6.5, con el siguiente balance iónico en mEq.l⁻¹ (Ca: 9.0; Mg: 4.0; K: 7.0; NO₃: 12.0; H₂PO₄: 1.0; SO₄: 7.0).

La caracterización morfológica se realizó con los 58 descriptores propuestos por el IPGRI (1995) para *Capsicum* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Lista de descriptores cuantitativos y cualitativos evaluados durante la caracterización morfológica de chile Miahuateco.

a) **De la planta:**

Longitud del tallo a primer bifurcación
Altura de planta
Diámetro de tallo
Ancho de planta
Antocianinas en nudos
Pubescencia del tallo
Número de ramas en la primera bifurcación
Número de ramas por planta
Hábito de crecimiento

b) **De las estructuras florales:**

Número de pétalos
Color de pétalos
Color de anteras
Posición de la flor
Flores por bifurcación

c) **De las estructuras foliares:**

Longitud de hoja
Ancho de hoja
Longitud de peciolo
Forma de hoja
Color de hoja
Forma de la lámina foliar
Pubescencia en hojas

d) **Del fruto:**

Longitud de fruto
Ancho de fruto
Grosor de pericarpio
Longitud del pedúnculo
Diámetro de pedúnculo
Longitud de la placenta
Peso fresco de fruto
Frutos comerciales
Frutos no comerciales
Frutos totales por planta
Color de fruto maduro fresco
Color de fruto en seco
Frutos por bifurcación
Brillantez de fruto
Posición del fruto
Forma de fruto
Forma de la sección longitudinal
Forma de la sección transversal
Forma del ápice
Espesor del pericarpio
Número predominante de lóculos
Cavidad peduncular
Profundidad de la cavidad peduncular
Presencia de capsaicina en placenta

-
- Forma del pedúnculo
 - Textura del fruto
 - Desarrollo del cáliz
 - Desprendimiento del fruto
 - e) **De la semilla:**
 - Número de semillas por fruto
 - Peso de 1000 semillas
 - Color de semilla
 - Ancho de semilla
 - Longitud de semilla
 - f) **De la fenología:**
 - Días a bifurcación del tallo principal
 - Días a floración
 - Días a fructificación
 - Días en producción
-

3.2.3. Caracterización molecular

La caracterización molecular, se realizó en 2021, en el Laboratorio de Mejoramiento Genético Asistido de la Universidad Autónoma Chapingo. La extracción de ADN de las colectas se llevó a cabo con el método CTAB modificado (Wagner *et al.*, 1987). La concentración y calidad de ADN ($\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) se determinó con un espectrofotómetro (“NanoDrop Lite” de “Thermo Scientific”).

La reacción en cadena de la Taq ADN polimerasa se realizó en 24 iniciadores (Cuadro 3). Para cada genotipo se emplearon 2.5 μL de ADN ($10\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) y 22.5 μL de mezcla de reacción, la cual consistió de: 5.2 μL de H_2O grado Biología Molecular, 10 μL de dNTP's (500 μM), 2.5 μL de amortiguador (10X), 1.5 μL de MgCl_2 (50 mM), 3.0 μL de iniciador ISSR ($10\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$), 0.3 μL^{-1} de enzima Taq ADN polimerasa (5 $\text{u}\cdot\mu\text{L}^{-1}$).

La amplificación se llevó a cabo en un Termociclador modelo Veriti marca AB Applied Biosystems, con el siguiente programa: un ciclo de predesnaturalización

con temperatura de 93 °C por 1 min; 40 ciclos de desnaturalización, cada uno con: 20 s a 93 °C, 60 s a la temperatura de alineamiento del iniciador empleado y 20 s a 72 °C; para extensión final a 72 °C por 6 min. Los productos amplificados se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.8 % (Ultrapura Invitrogen No. 16500-500), teñido con bromuro de etidio ($0.6 \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ en TAE 1 X) y visualidad mediante un transluminador y el paquete DigiDoc-It®Imagin System UVP. Posteriormente, se obtuvo la matriz de datos moleculares con la codificación del polimorfismo obtenido en los 24 iniciadores, donde 0 fue ausencia y 1 presencia de la señal del marcador.

3.2.4. Análisis estadístico

En los caracteres morfológicos se eliminaron las variables cuantitativas que presentaban colinealidad a partir de análisis de covarianzas sucesivas. Posteriormente se consideraron las variables cuantitativas seleccionadas y las cualitativas para estimar la matriz de distancias de Gower. A partir de las cuales se generó un agrupamiento con el algoritmo de la mínima varianza de Ward, en el cual el número de grupos se determinó con base a los valores de pseudo estadística t^2 (Hotelling, 1951) y la pseudo F (Johnson, 2000).

Para verificar la pertinencia de los grupos generados e identificar los caracteres responsables de esta agrupación, se hicieron análisis discriminantes donde se consideró como variable categórica los grupos generados, aunado se realizaron pruebas de resustitución con el objetivo de verificar la ubicación de colectas en los grupos (Johnson, 2000).

El análisis de la caracterización molecular consistió en obtener la matriz de distancias de Jaccard (1912), con la cual se realizó un análisis de agrupamiento con el algoritmo de generación del dendrograma de mínima varianza de Ward, la altura de corte se decidió con base en la pseudo estadística t^2 (Hotelling, 1951) y la pseudo F (Johnson, 2000). Con la matriz básica de datos (MBD) se calculó el índice de diversidad genética esperada (H_e) de Nei (1987), y el Índice de Shannon, mediante el programa GenAlex versión 6.5 (Peakall & Smouse, 2012).

Cuadro 3. Secuencia y temperatura de alineamiento de 24 iniciadores ISSR en chile Miahuateco.

Iniciador	Secuencia	Temperatura de alineamiento °C	Bandas totales	Proporción de <i>loci</i> polimórficos	PP (%)
ISSR1	(CA) ₈ AAGG	60	15	14	93.3
ISSR2	(CA) ₈ AAGCT	62	15	11	73.3
ISSR3	(GA) ₈ CTC	58	13	10	76.9
ISSR4	(AG) ₈ CTC	58	14	7	50
ISSR5	(AC) ₈ CTA	56	8	4	50
ISSR6	(AC) ₈ CTG	58	11	11	100
ISSR7	(AG) ₈ CTG	58	16	11	68.7
ISSR8	(AC) ₈ CTT	56	8	7	87.5
ISSR9	(AG) ₈ C	52	11	7	63.6
ISSR10	(GA) ₈ T	50	9	5	55.5
LOL2	(CT) ₈ GC	56	13	12	92.3
LOL7	(GA) ₆ CC	44	9	3	33.3
LOL8	(GT) ₆ CC	44	9	4	44.4
LOL9	(CAC) ₃ GC	38	11	8	72.7
LOL10	(GAG) ₃ GC	38	10	4	40
LOL12	(GTG) ₃ GC	38	5	5	100
MELS1	(CA) ₆ GG	44	8	4	50
MELS2	(GA) ₆ GG	44	9	2	22.2
MELS3	(TG) ₇ G	46	8	0	0
PIO1	(CA) ₆ AGCT	48	7	7	100
PIO2	(CA) ₆ AGG	46	8	5	62.5
PIO3	(CA) ₆ AGG	48	9	7	77.8
17899A	AGCT(GACA) ₃	42	7	2	28.6
17898B	(CA) ₆ GT	42	8	4	50

PP (%): Porcentaje de Polimorfismo

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Caracterización morfológica

El análisis de covarianzas sucesivas permitió reducir la dimensionalidad de la matriz de datos morfológicos y así cumplir con el supuesto de no colinealidad estadística. En este sentido, se omitieron las características de número de frutos comerciales y diámetro de tallo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Medidas de variación en la caracterización morfológica de colectas de chile Miahuateco (*Capsicum annum* L.).

Variable	Media	Valor Máx.	Valor Min.	S	S ²	C.V. (%)	t
Longitud de tallo a primer bifurcación (cm)	30.07	39.9	18.7	3.64	13.28	12.12	**
Altura de planta (cm)	117.21	136	92.67	10.04	100.83	8.57	**
Diámetro de tallo (mm)	16.14	19.5	11.7	2.11	4.46	13.09	**
Longitud de hoja (mm)	129.01	146.3	105.8	8.91	79.36	6.90	**
Ancho de hoja (mm)	68.82	81.13	54.17	6.20	38.41	9.01	**
Longitud de peciolo (mm)	60.79	82.10	40.37	9.54	91.00	15.69	**
Longitud de fruto (mm)	120.98	159.3	96.57	14.32	205.1	11.84	**
Ancho de fruto (mm)	39.85	48.83	25.8	11.24	20.05	11.24	**
Grosor de pericarpio (mm)	2.41	3.50	1.63	0.41	0.17	16.89	**
Longitud de pedúnculo (mm)	61.64	84.5	43.23	8.61	74.22	13.98	**
Diámetro de pedúnculo (mm)	4.48	6.53	3.30	0.75	0.57	16.81	**
Longitud de placenta (mm)	23.85	36.63	14.23	6.13	37.62	25.71	**
Peso fresco de fruto (g)	1,600.5	2,253.3	1,054.5	309.2	95,743	19.33	**
Frutos comerciales	55.17	74.33	39.33	9.67	93.46	17.52	**
Frutos no comerciales	13.35	35.33	1.66	7.42	55.09	55.61	**
Frutos totales	68.51	94.3	45	12.19	148.63	17.79	**
Semilla por fruto	168.72	319.38	54.33	52.75	2,782	31.26	**
Peso de mil semillas (g)	12.82	16.60	8.83	1.74	3.03	13.58	**

S: Desviación estándar; S²: Varianza; C.V.: Coeficiente de Variación (%); t: Significancia

Los estadísticos empleados para determinar el número de grupos, sugirieron la presencia de seis agrupamientos (Figura 8), los cuales incluyeron 15, 30, 21, 18, 5 y 5 genotipos, de manera respectiva (Cuadro 5). El análisis discriminante corroboró que las agrupaciones obtenidas mediante agrupamiento jerárquico fueron correctas. Además, este procedimiento determinó las variables de mayor expresión

de la variabilidad morfológica las cuales explicaron el 90.1 % de la variación presente en las accesiones evaluadas (Figura 9). Las tres primeras variables discriminantes (VD) fueron las de mayor importancia. Así, la VD1 se asoció en forma negativa con la cavidad peduncular. En contraste la VD2 se asoció en forma negativa con número de frutos totales, forma de la sección longitudinal de fruto y forma de fruto. La VD3 se asoció en forma negativa con número de flores y número de frutos por bifurcación (Figura 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). A partir de estos resultados, es posible describir los seis grupos identificados y observar las principales diferencias morfológicas entre las poblaciones evaluadas (Cuadro 5).

De manera similar, en poblaciones de chile nativas de México se reportaron que los caracteres de flores y fruto son las de mayor importancia para generar los agrupamientos en esta hortaliza, lo cual coincide con los resultados de esta investigación, donde las características de fruto: cavidad peduncular, forma de fruto, forma de la sección longitudinal, color, y número de frutos totales favoreció la discriminación de colectas, esto coincide con Toledo-Aguilar et al., 2011 y Castellón et al., 2014 al evaluar variedades nativas de chile poblano, y colectas de chiles nativos de Oaxaca, respectivamente, donde los resultados muestran que las diferencias entre las poblaciones de chile caracterizadas están expresadas principalmente en características fruto.



Figura 1. Caracter discriminante: **Cavidad peduncular**, en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (*Capsicum annum* L.).



Figura 2. Caracter discriminante: **Color de fruto**, en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (*Capsicum annum* L.).



1
Rectangular



3
Triangular



5
De Cuerno



7
Trapezoidal



9
De Corazón

Figura 3. Caracter discriminante: **Forma de fruto**, en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuatenco (*Capsicum annuum* L.).



1
De Cuerno



3
Triangular



5
Trapezoidal



7
Rectangular
(Miahuateco)

Figura 4. Caracter discriminante: **Forma de la sección longitudinal de fruto**, en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (*Capsicum annuum* L.).



1
Circular



3
Rectangular



5
Elíptica



7
Triangular

Figura 5. Caracter discriminante: **Forma de la sección transversal y número de lóculos**, en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (*Capsicum annuum* L.).



1
Uno



3
Dos



5
Tres

Figura 6. Caracter discriminante: **Número de Flores y/o frutos por bifurcación**, en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (*Capsicum annuum* L.).



Intervalo de 9 a 15 cm

Figura 7. Caracter discriminante: **Longitud de fruto**, en la caracterización morfológica de 94 colectas de chile Miahuateco (*Capsicum annuum* L.).

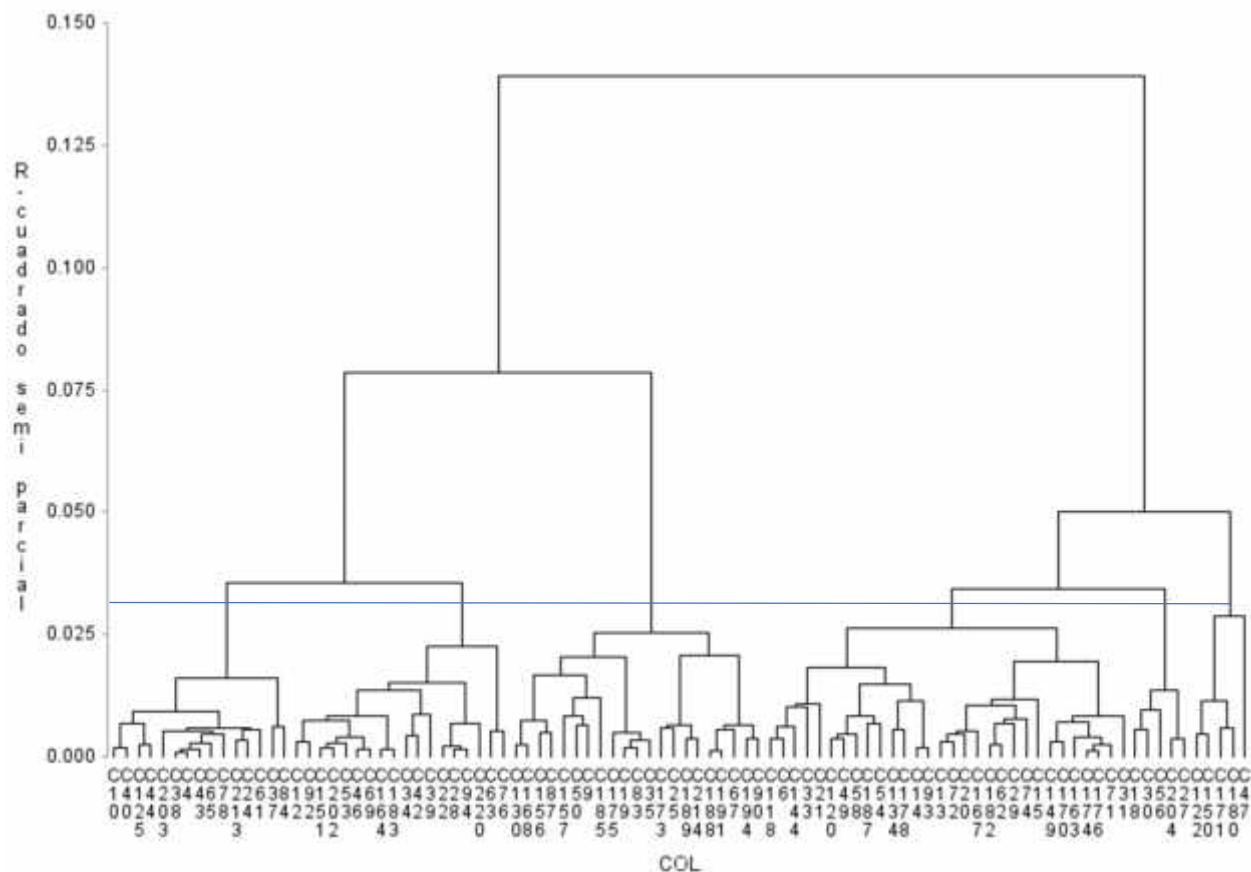


Figura 8. Dendrograma jerárquico de caracteres morfológicos, derivado de distancias Gower y algoritmo de mínima varianza de Ward.

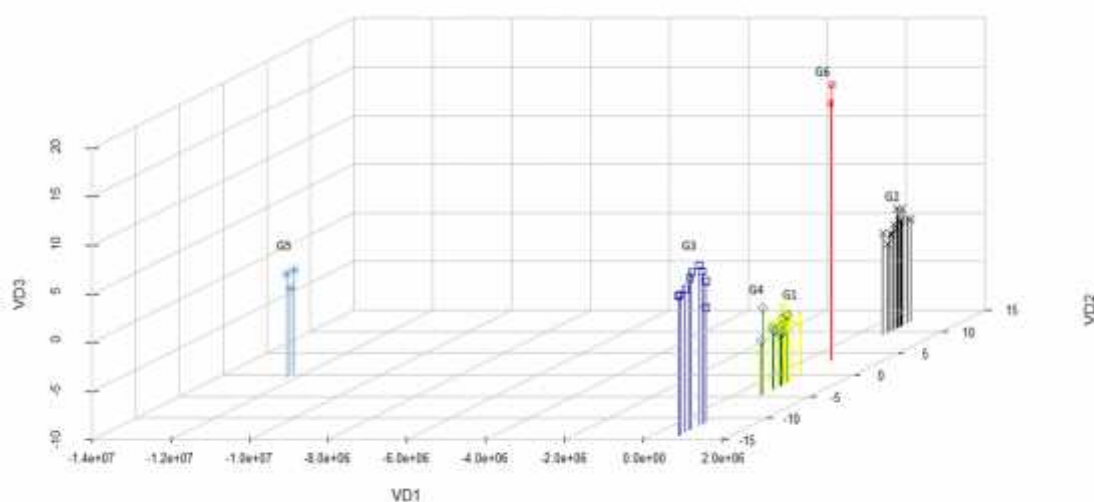


Figura 9. Representación gráfica de variables discriminantes de seis grupos de colectas nativas de Chile Miahuateco, a partir de sus características morfológicas.

Cuadro 5. Descripción morfológica de los seis grupos identificados en colectas nativas de Chile Miahuateco mediante análisis de agrupamiento.

Grupo	Colecta	Características
1	4, 10, 24, 37, 38, 40, 43, 44, 61, 65, 78, 84, 125, 203, 213	93 % ausencia de cavidad peduncular, 87 % color marrón, 60 % forma rectangular, 1 flor por bifurcación
2	6, 13, 14, 15, 20, 21, 29, 31, 33, 49, 54, 58, 62, 71, 72, 74, 93, 118, 120, 134, 144, 149, 163, 167, 170, 174, 176, 178, 182, 187	40 % presencia de cavidad peduncular, 93 % color marrón, 73 % forma rectangular, 1 flor por bifurcación
3	9, 19, 25, 35, 50, 67, 83, 87, 90, 130, 156, 157, 168, 173, 175, 185, 188, 189, 191, 194, 214	100 % ausencia de cavidad peduncular, 33 % color rojo, 71 % forma de cuerno, 1 flor por bifurcación
4	12, 22, 28, 34, 39, 42, 46, 53, 63, 69, 76, 92, 94, 151, 164, 183, 202, 220	100 % ausencia de cavidad peduncular, 89 % color marrón, 72 % forma rectangular, 1 flor por bifurcación
5	18, 27, 30, 56, 204	80% ausencia de cavidad peduncular, 100 % color marrón, 40 % forma trapezoidal, 1 flor por bifurcación
6	47, 122, 150, 171, 180	100 % ausencia de cavidad peduncular, 40 % color negro, 20 % forma de triangular, 1 flor por bifurcación

En la prueba de resustitución realizada con las funciones lineales discriminantes (Johnson, 2000), se corroboró que el reagrupamiento realizado presentó un 72 % de coincidencias, debido a que 26 de las 94 colectas evaluadas fueron reubicadas en algún grupo diferente al original.

3.3.2. Caracterización molecular

Los 24 iniciadores ISSR utilizados en la caracterización molecular generaron 241 bandas, de las cuales 154 fueron polimórficas, lo que representa un polimorfismo de 64 %, registrando 10 bandas en promedio por iniciador (Cuadro 3). El número de bandas amplificadas por iniciador osciló entre 5 (LOL12) y 16 (ISSR7). Los iniciadores que generaron el mayor número de bandas polimórficas fueron ISSR6, LOL12, PIO1, ISSR1, LOL2 e ISSR8, estos iniciadores se caracterizan porque su base es la secuencia CA, AC y GTG, lo que de acuerdo con Medina et al., 2015, los iniciadores con repeticiones de base CA son los más informativos en estudios moleculares.

La variación genética encontrada en chile miahuateco de acuerdo a la heterocigosidad esperada (H_e) fue de 0.344, lo cual coincide con Contreras et al., 2011 quien al evaluar la diversidad genética en México de variedades nativas de chile Poblano con 24 microsatélites encontraron 220 alelos con 80 % de polimorfismo, donde dos poblaciones incluidas de chile miahuateco mostraron una H_e de 0.477; López-Espinoza et al., (2018), encontraron 98 % de polimorfismo en 60 poblaciones de chile habanero con tres iniciadores ISSR con una H_e de 0.40; resultados similares fueron los de Gálvez-Muñoz et al., 2021, quienes encontraron 229 alelos de ellos 70 fueron polimórficos con una variación genética 0.448 al utilizar cuatro marcadores microsatélites para estimar la diversidad genética de chiles silvestres de Tabasco y Chiapas, México; por su parte, Dhaliwal et al., 2014 al utilizar 27 microsatélites en 64 accesiones de tres especies de *Capsicum* de la India (*C. Annuum*, *C. chinense* y *C. frutescens*)

obtuvieron 75 alelos en total con 2.78 alelos por locus; Tsonev et al., 2017 reportaron valores promedios de diversidad genética de 0.214 en genotipos criollos de *Capsicum* de Bulgaria, mientras que Shiferaw et al., 2017 observaron rangos de variación genética de 0.03 a 0.19 en chiles criollos de Etiopía, lo anterior indica que las poblaciones de México tienen mayor variación genética que podría ser utilizada en la mejora genética de esta especie y por lo cual, México es considerado centro de domesticación y diversificación de *Capsicum annuum* L. Lo anterior enfatiza en la importancia de usar marcadores que permitan identificar mayor polimorfismo en las poblaciones de estudio, como lo han sido el uso de microsatélites e ISSR para detectar variaciones entre genotipos e identificar candidatos para futuros programas de mejoramiento (Parry, 2021).

El Índice de diversidad de Shannon encontrado en chile miahuateco fue de 0.52, lo cual coincide con el índice encontrado por López-Espinoza et al, (2018) en el análisis de 60 poblaciones de chile habanero con tres iniciadores ISSR donde se obtuvo un I. de 0.59, lo cual indica una diversidad intermedia entre las poblaciones estudiadas.

3.3.3. Análisis de agrupamiento

Las distancias genéticas de Jaccard, junto con el método de Ward, generaron el dendrograma de agrupamiento jerárquico el cual identificó ocho grupos (Figura 10).

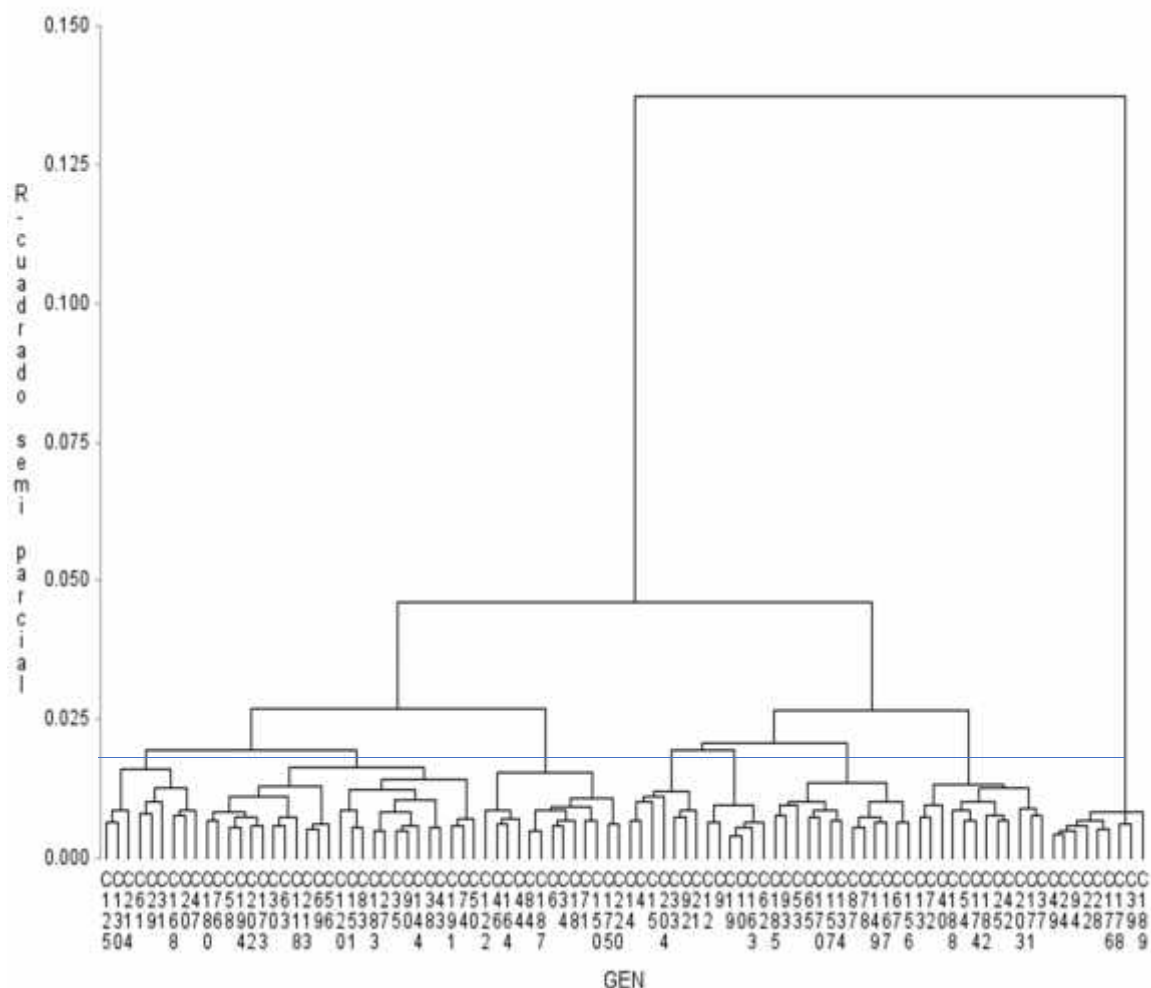


Figura 10. Dendrograma jerárquico generado a partir de 154 bandas polimórficas con la distancia de Jaccard y algoritmo de mínima varianza de Ward en 94 colectas de Chile Miahuateco.

3.3.4. Evaluación conjunta

El análisis conjunto de dos tipos de caracterizaciones permite diseñar estrategias de mejoramiento genético y conservación de genotipos, elegir dentro de cada grupo aquellos genotipos con mejores caracteres para el cultivo, y en este caso que conserven las características distintivas de fruto del Chile Miahuateco, por lo que ambas caracterizaciones son estudios complementarios que permiten definir

de mejor manera la variabilidad genética (Marin-Montes et al., 2019; Brillhante et al., 2021). Al comparar los resultados de ambos agrupamientos sólo 12 colectas (12.8 %) se ubicaron en el mismo grupo para ambas caracterizaciones (Cuadro 6).

Cuadro 6. Subgrupos generados por las caracterizaciones morfológica y molecular de 94 colectas nativas de Chile Miahuateco.

		Grupos de la caracterización morfológica					
		1	2	3	4	5	6
Grupos de la caracterización molecular	1	10 AMRP	62 AMRFP, 163 AMP	9 AMP,19 AMFP	12 AM	0	0
	2	24 AMRF	49 PMR,176 AM, 178 PM	189 AR	22 AN,28 AM, 39 AM, 94 AM	0	0
	3	44 PMRP, 84 AMRP	6 PMRFP,71 AMRP, 187 PRP	175 AMFP	34 AMRP,46 ANP, 164 AMP, 220 AMP	18 AMRFP	122 AMRFP, 150ARP
	4	38 ANRP, 43 AMRP, 213 AMP	58 PMRFP, 74 AMRP, 118 AMRP, 120 PMRFP, 144 PMP	35 AMRP, 50 AMRFP, 83 AMP, 90 ANRP, 173 AMP, 191 ARRFP, 194 ARP	63 AMP,69 AMP, 76 AMRP, 151 AMRP, 183 AMP,202 AMRP	27 AMRFP, 30 AMRP, 56 AMFP	180 ANRP
	5	65 AMRP, 78 AM	93 PMF,134 ARF, 149 AM,167 AM, 170 PMR	67 ARRP,87 AR, 156 AMF, 157 AMF,185 AMP	53 AMRP	0	0
	6	61 AMRP, 125 AR	20 AMRP,29 PMP, 31 AM	130 ARFP, 168 AM,214 AMRP	0	0	47 AMP
	7	4 AMRP	14 AMP,15 AMRP, 21 PMR,33 AMR	0	92AMRFP	204PMRF	0
	8	37 AM, 40 AMR, 203 AM	13 AMP,54 AMR, 72 AM,174 PMP, 182 AMRF	25 AMR,188 AR	42AMR	0	171 ANR

P: Presencia; A: Ausencia de cavidad peduncular; Color de Fruto: M: Marrón; R: Rojo; N: Negro; R: rendimiento sobresaliente ($>1600 \text{ g}\cdot\text{p}^{-1}$); F: sobresaliente producción de frutos comerciales ($> 60 \text{ f}\cdot\text{p}^{-1}$); P: Mayor presencia de bandas (> 120)

3.3.5. Estrategia de conservación

La variabilidad genética identificada en chile miahuateco, es de gran importancia para la selección de genotipos acorde a caracteres de interés agronómico, por lo que es necesario su resguardo en un banco de germoplasma para garantizar la protección de la mayor diversidad genética posible. En el presente estudio se puede alcanzar este objetivo al conservar como mínimo las 50 colectas más representativas con las características que definen al fruto de chile miahuateco (ausencia de cavidad peduncular, tamaño, forma, color y número de frutos totales) y su polimorfismo molecular (Cuadro 5, 6) lo que representa un 53 % de este germoplasma; o bien mediante una mezcla homogénea de semillas dentro de cada subgrupo, lo cual concuerda con Biasutti et al., 2007, quienes refieren que no hay un patrón universal para definir el tamaño de muestra de una población para ser resguardada en un banco de germoplasma, si no que esto estará en función del germoplasma disponible, su rol de uso en la sociedad, y las características agronómicas que lo identifican y que hacen de interés su conservación, pero evitando la acumulación repetitiva de accesiones en los bancos de germoplasma (Orton & Ayeni, 2022).

CONCLUSIONES

Se encontró una alta variabilidad entre las colectas evaluadas de chile miahuateco, misma que estuvo determinada principalmente por caracteres del fruto. Dicha variabilidad puede ser de utilidad para iniciar un programa de mejoramiento genético de éste tipo nativo de chile, por lo cual se recomienda el resguardo de 53 % de las colectas.

La caracterización morfológica con descriptores del IPGRI y molecular con marcadores ISSR, son estrategias complementarias para conocer la diversidad genética de poblaciones de chile miahuateco, al tiempo que favorece la selección de genotipos de interés y el alcance de su resguardo.

Los caracteres de cavidad peduncular, tamaño, forma, color y número de frutos totales, son los caracteres con mayor capacidad discriminante entre genotipos de chile miahuateco.

3.4. LITERATURA CITADA

- Biasutti, C. A., Peretti, N., Perez, A., & Durand, G. (2007). Banco de germoplasma en Argentina. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Bosland, P. W., & Votava, E. J. (2012). Peppers. Vegetable and spice *Capsicums*. 2nd ed. Vol. 22. *Crop Production Science in Horticulture*, CABI. Cambridge, UK. 230 p.
- Brilhante, B. D. G., Santos, T. d. O., Santos, P. H.A. D., Kamphorst, S. H., Neto, J. D. S., Rangel, L. H., Valadares, F. V., de Almeida, R. N., Rodríguez, R.; Júnior, A. C. S., & Moreira, M. M. (2021). Characterization of Brazilian *Capsicum* Germplasm. *Agronomy*, 11, 854. <https://doi/10.3390/agronomy11050854>
- Carvalho, S. I., Agassi, C. F., Ribeiro, C. S., Reifschneider, F. J., Buso, G. S., & Faleiro, F. G. (2017). Genetic variability of a Brazilian *Capsicum frutescens* germplasm collection using morphological characteristics and SSR markers. *Genetics and Molecular Resesearch*, 16(3), 1-18. <https://doi.org/10.4238/gmr16039689>.
- Castellón, M. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., & Vera-Guzmán, A. M. (2014). Variación fenotípica de morfotipos de chile (*Capsicum annum* L.) nativo de Oaxaca, México. *Phyton International Journal of Experimental Botany*, 83, 225-236.
- Contreras, T. A. R., López, S. H., Santacruz, V. A., Valadez, M. E., Aguilar, R. V. H., Corona, T. T., & López, P. A. (2011). Diversidad genética en México de variedades nativas de chile 'Poblano' mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34, 225-232.

- Dhaliwal, M. S., Yadav, A., & Jindal, S. K. (2014). Molecular characterization and diversity analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 13, Artículo 3137-3143. doi: 10.5897/ajb2014.13695.
- Gálvez-Muñoz, Y. A., Cea, M. M. E., Leshner, G. J. M., Latournerie-Moreno, L., Martínez-Moreno, E., Martínez, S. J. L., & Castañón-Nájera, G. (2021). Comparación Molecular de poblaciones de chile (*Capsicum* spp.) de Tabasco y Chiapas, México. *Bioagro*, 33(1), 3-12. doi: <http://www.doi.org/10.51375/biogro331.1>
- Gutiérrez-Burón, R., Latournerie-Moreno, L., Garruña-Hernández, R., Ruiz-Sánchez, E., Lara-Martín, A. R., & Castañón-Nájera, G. (2020). Diversidad fenotípica de chile Amashito de Tabasco y Chiapas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(3). <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i3.2087>
- Hotelling, H. (1951). A generalized T test and measure of multivariate dispersion. Proceeding of the Second Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability. *The Regents of the University of California*. <http://projecteuclid.org/euclid.bsmsp/1200500217>
- Ibarra-Torres, P., Valadez-Moctezuma, E., Pérez-Grajales, M., Rodríguez-Campos, J., & Jaramillo-Flores, M. E. (2015). Inter- and intraspecific differentiation of *Capsicum annuum* and *Capsicum pubescens* using ISSR and SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 181, 137-146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2014.10.054>
- IPGRI, AVRDC and CATIE. (1995). Descriptors for Capsicum (*Capsicum* spp.) International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy; the Asian Vegetable Re-search and Development Center. Taipei, Taiwan, and the Centro Agronómico Tropical de investigación y enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 345 p.

- Jaccard, P. (1912). The distribution of the flora in the alpine zone. 1. *New Phytologist*, 11(2), 37-50. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1912.tb05611.x>
- Ji, L., Li, P., Su, Z., Li, M., & Guo, S. (2020). Cold-tolerant introgression line construction and low-temperature stress response analysis for bell pepper. *Plant Signaling & Behavior*, 15(7), Artículo e1773097. <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1773097>
- Johnson, D. E. (2000). Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. Edit. *Paraninfos*. 566 p.
- Khoury, C. K., Carver, D., Barchenger, D. W., Barboza, G. E., Van, Z. M., & Jarret, R. (2020). Modelled distributions and conservation status of the wild relatives of chile peppers (*Capsicum* L.). *Biodiversity Research*, 26(2), 209-225. <https://doi.org/10.1111/ddi.13008>
- López, C. L. D., Garruña, H. R., Castillo, A. C. D., Martínez-Hernández, A., Ortiz-García, M. M., & Andueza-Noh, R. H. (2019). Structure and genetic diversity of nine important landraces of *Capsicum* species cultivated in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Agronomy*, 9(7), 376.
- López-Espinosa, S. T., Latournerie-Moreno, L., Castañón-Nájera, G., Ruiz-Sánchez, E., Gómez-Leyva, J., Andueza-Noh, R. H., & Mijangos-Cortés, J. O. (2018). Genetic diversity of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) using ISSR. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(3), 227-236.
- Luna-Ruiz, J. de J., Nabhan, G. P., & Aguilar-Meléndez, A. (2018). Shifts in plant chemical defenses of chile pepper (*Capsicum annuum* L.) due to domestication in Mesoamerica. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 6, 48. doi: 10.3389/fevo.2018.00048

- Manzila, I., Priyatno, T. P., Nugroho, K., Terryana, R. T., Lestari, P., & Hidayat, S. H. (2020). Molecular and morphological characterization of EMS-induced chili pepper mutants resistant to Chili veinal mottle virus. *Biodiversitas*, 21(4), 1448-1457. doi: 10.13057/biodiv/d210424
- Marín-Montes, I. M., Rodríguez-Pérez, J. E., Sahagún-Castellanos, J., Hernández-Ibáñez, L., & Velasco-García, A. M. (2016). Morphological and molecular variation in 55 native tomato collections from Mexico. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 22(2), 117-131. doi: 10.5154/r.rchsh.2016.03.00
- Marin-Montes, M., Lobato-Ortiz, R., Carrillo-Castañeda, G., Rodríguez-Pérez, J. E., García-Zavala, J. G., & Velasco-García, A. M. (2019). Allelic richness of native tomato populations (*Solanum lycopersicum* L.) for plant breeding. *Agrociencia*, 53, 355-370.
- Medina, C. H. C., Gutiérrez, S. P. A., & Marin, M. M. (2015). Detección del potato virus y (PVY) en tubérculos de papa mediante TAS-ELISA y QRT-PCR en Antioquía (Colombia). *Bioagro*, 27(2), 83-92. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85741585004>
- Moreno-Peris, E., Cortés-Olmos, C., Díez-Díaz, M., González-Mas, M. C., Luis-Margarit, A., Fita, A., & Rodríguez-Burruezo, A. (2020). Hybridization in peppers (*Capsicum* spp.) to improve the volatile composition in fully ripe fruits: The effects of parent combinations and fruit tissues. *Agronomy*, 10, 751. doi: 10.3390/agronomy10050751
- Nei, M. (1987). Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press.
- Orton, T., & Ayeni, A. (2022). Specialty crop germplasm and public breeding efforts in the United States. *Agronomy*, 12(2), 239. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020239>

- Parry, C., Wang, Y. W., Lin, S. W., & Barchenger, D. W. (2021). Reproductive compatibility in *Capsicum* is not necessarily reflected in genetic or phenotypic similarity between species complexes. *PLoS ONE*, 16(3), Artículo e0243689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243689>
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenAlex 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics*, 28(19). doi:10.1093/bioinformatics/bts460
- Ramírez-Meraz, M., Villalón-Mendoza, H., Aguilar-Rincón, V. H., Corona-Torres, T., & Latournerie-Moreno, L. (2018). Caracterización morfológica de chile silvestres y semidomesticados de la región Huasteca de México. *Agro Productividad*, 8(1). <https://mail.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/632>
- SAS. (2011). SAS/QC 9.3. User's guide. Cary, New York. <https://support.sas.com/documentation/cdl/en/qcug/63964/PDF/default/qcug.pdf>
- Shiferaw, A. A., Destaw, M. A., & Samuel, G. A. (2017). Genetic diversity study of Ethiopian hot pepper cultivars (*Capsicum* spp.) using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). *Journal of Plant Molecular Breeding*, 5(2), 27-37. doi: 10.22058/JPMB.2019.91684.1169
- Steiner, A. (1984). The Universal Nutrient Solution. En *Proceedings of the 6th International Congress on Soils Culture* (págs. 633-649). ISOSC. Wageningen, The Netherlands.
- Toledo-Aguilar, R., López-Sánchez, H., López, P. A., Guerrero-Rodríguez, J. D., Santacruz-Varela, A., & Huerta de la Peña, A. (2011). Características vegetativas, reproductivas y de rendimiento de fruto de variedades nativas de chile "Poblano". *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17, 139-150.

- Tsaballa, A., Ganopoulus, I., Timplalexia, A., Alik, X., Bos, I., Nianiou-Obeidat, I., Athanasios, T., & Madesis, P. (2015). Molecular characterization of greek pepper (*Capsicum annuum* L.) landraces with neutral (ISSR) and gene-based (SCoT and ETS-SSR). *Biochemical Systematics and Ecology*, 59, 256-263. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.02.005>
- Tsonev, S., Todorova, V., Groseva, S., Popova, T., & Todorovska, E.G. (2017). Evaluation of diversity in Bulgarian pepper cultivars by agronomical traits and ISSR markers. *Genetika*, 49(2), 647-662. <https://doi.org/10.2298/GENSR1702647T>
- Vijeth, S., Sreelathakumary, I., Rafeekher, M., & Kaushik, P. (2019). Appraisal of genetics and heterosis of important traits in chili pepper cultivated under the influence of chili leaf curl virus disease. *Preprint*. doi: 10.20944/preprints2019.0415.v1
- Wagner, D. B., Furnier, G. R., Saghai-Maroo, M. A., Williams, S. M., Dancik, B. P., & Allard, R. W. (1987). Chloroplast DNA Polymorphisms in lodgepole and jack pine and their hybrids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(7), 2097-100. <http://www.pnas.org/content/84/7/2097.full.pdf>
- Zhang, B., Hu, F., Cai, X., Cheng, J., Zhang, Y., Lin, H., Hu, K., & Wu, Z. (2022). Integrative analysis of the metabolome and transcriptome of a cultivated pepper and its wild progenitor chiltepín (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) revealed the loss of pungency during *Capsicum* domestication. *Frontiers in Plant Science*, 12, Artículo 783496. doi:10.3389/fpls.2021.783496.

CAPÍTULO IV. GUÍA PARA LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CHILE MIAHUATECO (*Capsicum annuum* L.)

RESUMEN

La caracterización es un conjunto de observaciones que permiten distinguir a una población de plantas que constituyen una variedad vegetal, a través de caracteres o expresiones fenotípicas propias de ésta que permiten su identificación, descripción y distinción, esto a través de un documento guía que para el caso de México expide la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) a través del Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), donde contiene la descripción de los caracteres pertinentes y la metodología para su evaluación, esto permite describir una población de plantas que constituyen una variedad vegetal para su identificación y distinción, a través de la protección vegetal como mecanismo que proporciona y fomenta un sistema eficaz para el resguardo de nuevas variedades vegetales en beneficio de la sociedad. Con el propósito de contribuir a la caracterización y registro de variedades nativas de chile miahuateco, se elaboró la Guía Técnica para la caracterización morfológica de chile miahuateco (*Capsicum annuum* L.), en la cual se establecen los lineamientos para la descripción de variedades vegetales nativas de este tipo de chile con fines de descripción varietal y certificación de su semilla, basada en las características de distinción, homogeneidad y estabilidad.

Palabras Clave: *Capsicum annuum* L., caracterización morfológica, variedad nativa

ABSTRACT

**GUIDE FOR MIAHUATECO CHILI PEPPER (*Capsicum annuum*
L.) MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION**

Characterization is defined as a set of observations that allow distinguishing a population of plants that constitute a plant variety, through its own phenotypic characters or expressions that allow its identification, description and distinction, this through a guide document that, in the case of Mexico, is issued by the Ministry of Agriculture and Rural Development (SADER) through the National Seed Inspection and Certification Service (SNICS), where it contains the description of the pertinent characters and the methodology for evaluation. This methodology allows describing a population of plants that constitute a plant variety for their identification and distinction, through plant protection as a mechanism that provides and promotes an effective system for protection of new plant varieties for the benefit of society. With the purpose of contributing to the characterization and registration of native varieties of Miahuateco chili pepper, a Technical Guide for Miahuateco chili pepper (*Capsicum annuum* L.) morphological characterization was prepared, in which the guidelines for description of native plant varieties are established for purposes of varietal description and certification of its seed, based on characteristics of distinction, homogeneity and stability.

Key words: *Capsicum annuum* L., morphological characterization, native variety.

4.1. INTRODUCCIÓN

Las especies silvestres son fuente importante de germoplasma para el fitomejoramiento (Castellón et al., 2014; González-Cortés et al., 2015; Khoury et al., 2020; Parry et al., 2021), el conocimiento de esta biodiversidad es de gran importancia para la conservación inmediata de los recursos genéticos, lo cual obliga a contar con un inventario que permita cuantificar y conservar en forma eficaz la variación genética detectada, con el fin de lograr un uso y aprovechamiento sustentable del germoplasma; así mismo, una vez que los recursos fitogenéticos disponibles han sido caracterizados, es posible decidir cuáles accesiones serán utilizadas en los programas de mejoramiento para realizar las cruza y aumentar la expansión de la base genética con sus respectivo resguardo en bancos de germoplasma (Florido et al., 2008; Carvalho et al., 2017; Abu et al., 2019), sin embargo, a pesar de la importancia que representa el conocer las características y patrones de variación genética de los recursos genéticos, se estima que 80 % de las colectas realizadas a nivel mundial no se han caracterizado y 95 % siguen sin evaluación agronómica; por lo que la función de los bancos de germoplasma se limita a almacén de semillas (Orton & Ayeni, 2022). Ante el crecimiento del número de accesiones a conservar, es imprescindible detectar y eliminar materiales duplicados y, adicionalmente, descubrir el valor de las colecciones conservadas Castellón et al., 2014. Lo anterior deriva en la necesidad de realizar diversas acciones entre las que sobresalen la caracterización morfológica. Esto facilitará y potenciará el adecuado uso de germoplasma vegetal al tener identificados los caracteres agronómicos de interés para un programa de mejoramiento genético (Castañón-Nájera et al., 2010). Se entiende por caracterización a la descripción y documentación de la variación que existe en la colección de germoplasma, en términos de características morfológicas y fenológicas que presentan alta heredabilidad (Hinthum, 1995). En el caso de la caracterización morfológica del género *Capsicum*, se cuenta con un documento base emitido por el IPGRI (1995) y UPOV (2011), y uno específico de *Capsicum annuum* L. para el caso de México

emitido por la SAGARPA-SNICS (2014), que contiene la descripción de los caracteres pertinentes y la metodología para su evaluación, con un conjunto de observaciones que permiten la identificación, descripción y distinción de una población de plantas que constituyen una variedad vegetal de chile (SAGARPA-SNICS, 2014), y apartir de este documento se generó de forma particular la Guía técnica para la caracterización morfológica de chile Miahuateco, la cual se utilizará como instrumento para el registro de variedades nativas de este tipo de chile.

4.2. GUÍA TÉCNICA PARA LA CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE CHILE MIAHUATECO (*Capsicum annum* L.).

CHILE MIAHUATECO
(*Capsicum annuum* L.)

Guía Técnica

Para la Caracterización Morfológica

M.C. Nereo Martínez Andrade
Dr. Rogelio Castro Brindis
Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez
Dr. Mario Pérez Grajales



Contenido

	Pág.
Sección Uno: Notas técnicas	3
1.1. Objetivo de aplicación de esta Guía	3
1.2. Definiciones	3
1.3. Evaluación	4
1.4. Conducción de las pruebas	5
1.5. Métodos y observaciones	5
1.5.1. Tipos de observaciones	5
1.6. Símbolos y notas	6
1.6.1. Tipos de características utilizadas	6
Sección Dos: Cuadro de características	7
Sección Tres: Caracteres complementarios	10
Sección Cuatro: Especificaciones y Métodos	11
3.1. Especificaciones y figuras	11
3.1.1. Explicaciones relativas a varios caracteres	11
3.1.2. Evaluación de caracteres descriptivos	11
Bibliografía	20



Sección Uno: Notas Técnicas

1.1. Objetivo de aplicación de esta guía

La presente guía establece los lineamientos para la descripción de variedades vegetales de chile Miahuateco (*Capsicum annuum* L.) con fines de descripción varietal y certificación de su semilla, basada en las características de distinción, homogeneidad y estabilidad de variedades. Así mismo, su cumplimiento es obligatorio en el registro y expedición del título de obtentor.

1.2. Definiciones

Los conceptos descritos en la presente guía son extraídos de la Guía Técnica para la Descripción Varietal de Chile (*Capsicum annuum* L.) de SAGARPA-SNICS (2014); Guía UPOV (2011); Ley Federal de producción, comercialización y certificación de semillas del DOF (2007); Ley de variedades vegetales del DOF (1996); IPGRI (1995) y, su aplicación es dirigida a la descripción y certificación varietal.

Caracteres pertinentes: Expresiones fenotípicas propias de la variedad vegetal que permiten su identificación, descripción y distinción.

Catálogo Nacional de Variedades Vegetales (CNVV): Documento que enlista las variedades vegetales cuyos caracteres pertinentes han sido descritos conforme a las guías de cada especie, para garantizar su identidad genética, descripción y distinción.



Descripción varietal: Informe técnico en el que se especifican los caracteres pertinentes de una variedad vegetal, de acuerdo con la guía específica, y que permite evaluar la identidad genética.

Caracterización: Conjunto de observaciones que permiten distinguir a una población de plantas que constituyen una variedad vegetal.

Distinta: Una variedad vegetal tendrá esta característica, cuando existan uno o varios caracteres pertinentes, que permitan diferenciarla claramente de cualquier otra variedad, cuya existencia sea conocida en el momento de solicitar la protección.

Estable: Una variedad o población es estable si los caracteres pertinentes de ésta, se mantienen con un alto nivel de homogeneidad tras sucesivas producciones, en los términos de las guías técnicas correspondientes.

Evaluación: Valoración que se realiza con base en la guía técnica propia de la especie, para caracterizar una variedad o población vegetal que se desea inscribir en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales, o para recibir el título de obtentor.

Guía: Documento que expide la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) a través del Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), que contiene la descripción de los caracteres pertinentes y la metodología para su evaluación. Permite describir una población de plantas que constituyen una variedad vegetal para su identificación y distinción.



Homogénea: Una variedad vegetal tendrá esta cualidad cuando sus caracteres que la identifican y definen son uniformes; a reserva de la variación previsible debido al tipo de reproducción, ya sea sexual o asexual.

Identidad genética: Variedad vegetal que en campo presenta homogeneidad.

Obtentor: Persona física o moral que mediante algún proceso de mejoramiento, obtiene y desarrolla una variedad vegetal de cualquier género o especie.

Título de obtentor: Reconocimiento por parte del Estado, a través del SNICS, a favor de una persona física o moral quien demostró, haber obtenido y desarrollado una nueva variedad vegetal de cualquier género o especie mediante un proceso de mejoramiento genético.

Protección vegetal: Mecanismos o procedimientos que proporcionan y fomentan un sistema eficaz para el resguardo de nuevas variedades vegetales para beneficio de la sociedad.

Solicitante: Persona física o moral que desea inscribir una variedad vegetal en el CNVV, o que requiere el título de obtentor.

Secretaría: La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER).

Variedad vegetal: Subdivisión de una especie vegetal, que incluye a un grupo de individuos con características similares que se considera estable y homogénea, objeto de la protección.



1.3. Evaluación

El solicitante realizará la descripción varietal, siguiendo los lineamientos establecidos en la presente guía.

En caso de duda o controversia, la Secretaría evaluará la variedad vegetal y los componentes hereditarios que la identifican. Así mismo decidirá el lugar y el momento en que se realizará dicha evaluación, adicional a este proceso solicitará la entrega mínima de 50 g de semilla para pruebas adicionales.

La semilla no debe haber sido sometida a ningún tratamiento, a menos que lo supervise o indique el personal técnico designado por la Secretaría. Si la semilla ha sido tratada, deberá declararse a detalle el procedimiento.

Se deberá indicar si la descripción de la variedad se realizó a campo abierto o en invernadero.

1.4. Conducción de las pruebas

La evaluación debe realizarse al menos en dos ciclos de cultivo. Si alguna característica importante de la variedad no puede ser observada en el lugar de evaluación, deberá conducirse una prueba adicional.

Las evaluaciones deben ser realizadas en condiciones que aseguren el crecimiento normal del cultivo. El tamaño de las parcelas debe ser tal que las plantas o partes de las plantas puedan ser removidas para medirlas y contarlas, sin perjuicio de las demás observaciones que se harán al final del periodo de crecimiento.



1.5. Métodos y observaciones

Se debe indicar si la descripción de la variedad se realizó a campo abierto o invernadero.

Cada evaluación debe incluir al menos 45 plantas cuando son establecidas en campo abierto, o 30 plantas cuando son establecidas en invernadero, las cuales serán divididas en al menos tres repeticiones. En el caso de materiales altamente homogéneos, la evaluación debe considerar al menos 18 plantas.

La evaluación de distinción, uniformidad y estabilidad, así como las características y las etapas en que se deben observar se indican en la “Sección dos: Cuadro de Características”.

Nota: Se utilizó como variedad de referencia, el genotipo más representativo de Chile Miahuatenco, es decir, que posee los caracteres que se consideran deben estar presentes en cada una de las posibles variedades de este tipo de chile, cultivado en el “Valle de Tecajete”, La Magdalena Cuayucatepec, Puebla.

En la “Sección tres: Caracteres complementarios”, Incluye 6 caracteres no considerados en otras guías; sin embargo, son necesarias para lograr mayor precisión en la descripción de chile Miahuatenco.

En la “Sección Cuatro: Explicaciones y métodos”, se describe el procedimiento que debe seguirse, para la evaluación correspondiente de las características de planta, flor y fruto.



1.5.1. Tipos de observaciones

MU: Medición única de plantas o partes de plantas.

MV: Medición en varias ocasiones de plantas o partes de plantas.

VU: Evaluación visual única de plantas o partes de plantas.

VV: Evaluación visual en varias ocasiones de plantas o partes de plantas.

1.6. Símbolos y notas

Las notas (1 al 9) utilizadas para representar el nivel de la característica evaluada, se utilizan para el procesamiento electrónico de los datos. Indicar en cada descriptor el nivel que presente la variedad vegetal correspondiente.

(*) Características que deben ser evaluadas en cada periodo de crecimiento, en el proceso de la descripción de la variedad vegetal, excepto cuando las condiciones ambientales no lo permitan.

(+) Remite a la sección tres: Explicaciones y métodos, relaciona la característica con las figuras y/o especificaciones correspondientes, que permiten distinguir una variedad respecto a otra similar.



1.6.1. Tipos de características utilizadas

Características cualitativas (QL): Son las que expresan en niveles discontinuos una gama de características en forma, tipo, tamaño y color, asignando un valor a cada cualidad, por ejemplo el sexo de la planta: dioico femenino (1), dioico masculino (2), monoico unisexual (3) o monoico hermafrodita (4); forma de hoja: oval (1), elíptica (2), redonda (3) u oval (4). Estos niveles de expresión se explican por sí mismos y tienen un significado independiente. El orden de los niveles no es importante ya que solo indican categorías; generalmente estas características no son influenciadas por el medio ambiente.

Características ordinales (OR): Son las que expresan una gama de características, las cuales se identifican en una escala numérica continua. La expresión de características cuantitativas es acorde a la finalidad de la descripción, por ejemplo longitud del tallo: muy corto (1), corto (3), medio (5), largo (7) o muy largo (9); la finalidad de estas escalas es proporcionar, en la medida en que resulte práctica, una distribución equilibrada de las evaluaciones. En contraste con las características cualitativas, los valores de los caracteres ordinales pueden ser ordenados, de mayor a menor o viceversa, de acuerdo con la escala.



Sección dos: Cuadro de Características

Número	Etapas Fenológicas	Característica	Nivel	Nota	Referencia
1. QL VU	a	Planta: Hábito de crecimiento	Erecta	3	Don Miguel*
			Semierecta	5	
			Rastrera	7	
2. OR MU	a	Planta: Longitud del tallo a primera bifurcación	Corto	3	Don Miguel
			Medio	5	
			Largo	7	
3. (+) OR MU	a	Planta: Ramas en la primera bifurcación	predominante dos	1	Don Miguel
			predominante tres	3	
4. QL VU	a	Tallo: Pubescencia	Ausente	3	Don Miguel
			Media	5	
			Densa	7	
5. (+) QL VU	a	Tallo: Pigmentación antociánica de nudos	Débil	1	Don Miguel
			Media	3	
			Intensa	5	
6. (+) QL VU	b	Hoja: Forma	Deltoide	1	Don Miguel
			Oval	3	
			Lanceolada	5	
7. (+) QL VU	b	Hoja: Rugosidad	Ausente	1	Don Miguel
			Presente	5	
8. (*) OR MV	b	Hoja: Longitud	Corta	3	Don Miguel
			Media	5	
			Larga	7	
9. (*) OR MV	b	Hoja: Anchura	Estrecha	3	Don Miguel
			Media	5	
			Ancha	7	
10. QL VV	b	Hoja: Color	Verde claro	3	Don Miguel
			Verde obscuro	5	
11. QL VV	a	Hoja: Pubescencia	Ausente	3	Don Miguel
			Media	5	
			Densa	7	
12. OR MV	b	Hoja: Longitud de Pecíolo	Corto	3	Don Miguel
			Medio	5	
			Largo	7	
13. (+) QL VU	c	Flor: Posición	Erguida	3	Don Miguel
			Intermedia	5	
			Colgante	7	
14. QL VU	c	Flor: Color de anteras	Blancas	1	Don Miguel
			Amarillas	3	
			Moradas	5	

*: La ubicación de la variedad de referencia "Don Miguel", corresponde al valor del carácter, genotipo proveniente del Valle de Tecajete, La Magdalena Cuayucatepec, Puebla (18° 57' 78" LN, 97° 48' 68" LO).



Número	Etapas Fenológicas	Característica	Nivel	Nota	Referencia
15. QL VU	c	Flor: Color del filamento	Blanco	1	Don Miguel
			Amarillo	3	
			Morado	5	
16. QL VU	d	Fruto: Posición	Erecta	1	Don Miguel
			Intermedia	3	
			Colgante	5	
17. (*) OR MU	d	Fruto: Longitud	Corto	1	Don Miguel
			Medio	3	
			Largo	5	
			Muy largo	7	
18. (*) OR MU	d	Fruto: Ancho	Reducido	1	Don Miguel
			Medio	3	
			Ancho	5	
			Muy ancho	7	
19. QL VU	d	Fruto: Forma de la sección longitudinal	Rectangular	3	Don Miguel
			Trapezoidal	5	
			Triangular	7	
			De cuerno	9	
20. (+) QL VU	d	Fruto: Forma de la sección transversal	Circular	1	Don Miguel
			Rectangular	3	
			Elíptica	5	
			Triangular	7	
21. (+) QL VU	d	Fruto: Forma	Rectangular	1	Don Miguel
			Triangular	3	
			De cuerno	5	
			Trapezoidal	7	
			De corazón	9	
22. (+) QL VU	e	Fruto: Color a la madurez	Marrón	1	Don Miguel
			Rojo	3	
			Negro	5	
23. QL VU	e	Fruto: Intensidad del color en madurez	Claro	3	Don Miguel
			Medio	5	
			Intenso	7	
24. QL VU	e	Fruto: Brillantez	Débil	3	Don Miguel
			Media	5	
			Fuerte	7	
25. (+) QL VU	e	Fruto: Cavidad peduncular	Usente	1	Don Miguel
			Presente	3	
26. (+) QL VU	e	Fruto: Profundidad de la Cavidad peduncular	Nula	1	Don Miguel
			Escasa	3	
			Media	5	
			Profunda	7	
27. (+) QL VU	e	Fruto: Forma del ápice	Agudo	1	Don Miguel
			Triangular	3	
			Redondeado	5	
			Hundido	7	
28. QL VU	e	Fruto: Textura	Liso	1	Don Miguel
			Corchoso	3	
			Rugoso	5	



Número	Etapas Fenológicas	Característica	Nivel	Nota	Referencia
29.	e	Fruto: Número predominante de lóculos	Dos	1	Don Miguel
(+)			Tres	3	
OR			Cuatro	5	
MV					
30.	e	Fruto: Grosor del pericarpio	Delgado	3	Don Miguel
OR			Mediano	5	
MV			Grueso	7	
31.	e	Fruto: Sabor	Dulce	1	Don Miguel
(*)			Pungente	3	
QL			Dulce y pungente	5	
MV					
32.	e	Fruto: Capsaicina en la placenta	Presente	1	Don Miguel
QL			Ausente	3	
MU					
33.	e	Fruto: Longitud de placenta	Corto	3	Don Miguel
(*)			Medio	5	
OR			Largo	7	
MV					
34.	e	Fruto: Longitud del pedúnculo	Corto	3	Don Miguel
OR			Medio	5	
MV			Largo	7	
35.	e	Fruto: Grosor del pedúnculo	Delgado	3	Don Miguel
OR			Medio	5	
MV			Grueso	7	
36.	e	Fruto: Forma del pedúnculo	Largo y erguido	1	Don Miguel
(+)			Ligeramente curvo	3	
QL			Curvo	5	
VV			Corto y curvo	7	
37.	e	Fruto: Aspecto del cáliz	Desarrollado	1	Don Miguel
QL			No desarrollado	3	
VU					
38.	e	Fruto: Margen del cáliz	Escaso	1	Don Miguel
(+)			Intermedio	3	
QL			Desarrollado	5	
VU					



Sección tres: Caracteres complementarios

Número	Etapas Fenológica	Característica	Nivel	Nota	Referencia
39. OR MU	f	Planta: Altura de planta	Baja	3	Don Miguel
			Media	5	
			Alta	7	
40. OR MU	f	Tallo: Diámetro	Delgado	3	Don Miguel
			Medio	5	
			Grueso	7	
41. (+) OR MU	c	Flor: Número predominantemente de pétalos	5	1	Don Miguel
			6	3	
			7	5	
			Más de 7	7	
42. QL VU	c	Flor: Color de pétalos	Blanco	1	Don Miguel
			Crema	3	
			Morado	5	
43. OR MU	c	Flor: Número de flores por bifurcación	Uno	1	Don Miguel
			Dos	3	
			Tres o más	5	
44. QL VU	g	Fruto: Color de semilla	Blanco	1	Don Miguel
			Crema	3	
			Negro	5	



Sección Cuatro: Especificaciones y Métodos

3.1. Especificaciones y figuras

3.1.1. Especificaciones relativas a varios caracteres

Los caracteres que presenten la siguiente letra en la columna Etapa Fenológica de la Sección dos: Características, deberán evaluarse como se indica a continuación:

- a) Planta con 8 a 10 bifurcaciones
- b) Hoja madura de la sexta bifurcación
- c) Flor en antesis de la quinta bifurcación
- d) Fruto de la sexta bifurcación y que ha alcanzado 100 % de su color final
- e) Fruto en madurez comercial de la sexta bifurcación
- f) Frutos en madurez comercial
- g) Después de 25 días de deshidratación natural a la sombra de frutos comerciales



3.1.2. Evaluación de caracteres descriptivos (Sección dos: Cuadro de características).

3. Planta: Ramas en la primera bifurcación

OR MU

El sistema de ramificación de chile Miahuateco, es el típico de *Capsicum annuum* L. que consiste en que el tallo principal presenta una bifurcación primaria derivando en 2 y hasta 3 tallos, de los cuales desarrollaran ramas dicotómicas de hasta 12 nudos (bifurcaciones), de los nudos se desarrollan ramas secundarias con hasta más de 5 bifurcaciones, y en cada nudo se desarrollan una o dos flores.



1
Predominantemente
dos



3
Predominantemente
tres



5. Tallo: Pigmentación antociánica de nudos

QL VU

Observación visual de característica



1
Débil



3
Media



5
Intensa

6. Hoja: Forma

QL VU

Observación visual de característica



1
Deltoide



3
Oval



5
Lanceolada



7. Hoja: Rugosidad

QL VU
Observación visual de característica



1
Ausente



5
Presente

13. Flor: Posición

QL VU
Observación visual de característica



3
Erguida



5
Intermedia



7
Colgante



21. Fruto: Forma

QL VU

Observación visual de característica



1
Rectangular



3
Triangular



5
De Cuerno



7
Trapezoidal



9
De Corazón



20. Fruto: Forma de la sección transversal

QL VU

Observación visual de característica



1
Circular



3
Rectangular



5
Elíptica



7
Triangular

22. Fruto: Color a la madurez

QL VU

Observación visual de característica



1
Marrón



3
Rojo



5
Negro



25. Fruto: Cavidad peduncular

QL VU

Observación visual de característica



1

Ausente



3

Presente

26. Fruto: Profundidad de la cavidad peduncular

QL VU

Observación visual de característica



1

Nula



3

Escasa



5

Media



7

Profunda



27. Fruto: Forma del ápice

QL VU

Observación visual de característica



1
Agudo



3
Triangular



5
Redondeado

29. Fruto: Número predominante de lóculos

OR MV

Observación visual de característica



1
Predominantemente
dos



3
Predominantemente
tres



5
Predominantemente
cuatro



36. Fruto: Forma del pedúnculo

QL VV

Observación visual de característica



1
Largo
y
ergido



3
Ligeramente
curvo



5
Curvo



7
Corto y curvo

38. Fruto: Margen del cáliz

QL VU

Observación visual de característica



1
Escaso



3
Intermedio



41. Flor: Número predominantemente de pétalos

OR MU

Observación visual de característica



1

Predominantemente
cinco



3

Predominantemente
seis



5

Predominantemente
siete



7

Más de siete



Bibliografía

IPGRI, AVRDC & CATIE. (1995). Descriptors for Capsicum (*Capsicum* spp.) International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy; the Asian Vegetable Research and Development Center. Taipei, Taiwan, and the Centro Agronómico Tropical de investigación y enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 345 p.

https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Descriptors_for_capsicum__Capsicum_spp.___345.pdf

Ley Federal de Producción, Comercialización y Certificación de Semillas. Diario Oficial de la Federación. 15 de junio del 2007. Capítulo 1. Artículo 3. pp. 2-3.

Ley Federal de Variedades Vegetales. Diario Oficial de la Federación. 25 de octubre de 1996. Capítulo único. Artículo 2. pp. 1-2.

SAGARPA- SNICS. (2014). Guía Técnica para la descripción varietal de Chile *Capsicum annuum* L. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo, Pesca y Alimentación. 25 p.



UPOV. (2002). Introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. Documento TG/1/3. Ginebra, Suiza. pp. 28. http://www.upov.int/es/publications/tg-rom/tg001/tg_1_3.pdf.

UPOV. (2010). Documento conexo a la introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. Documento TGP/14. Glosario de términos utilizados en los documentos de la UPOV. Ginebra, Suiza. pp. 104.

UPOV. (2011). Documento conexo a la introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. Documento TGP/7. Elaboración de las directrices de Examen. Ginebra, Suiza. pp. 98.

4.3. CONCLUSIONES

Las guías de caracterización morfológica de recursos vegetales, son un instrumento pertinente y eficaz para distinguir a una población de plantas que constituyen una variedad vegetal, a través de una serie de descriptores útiles de importancia agronómica o expresiones fenotípicas propias, que permiten su identificación, descripción, distinción, y con ello buscar la protección y resguardo de la misma, dada su importancia como recurso fitogenético en beneficio de la sociedad.

4.4. LITERATURA CITADA

- Abu, N. E., Udoh, O. E., & Uguru, M. I. (2019). Evaluation of the parental and hybrid lines- Heterosis and other genetic parameters among *Capsicum annuum* genotypes and their hybrids. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 11(1), 11-16. doi: 10.5897/JPBCS2018.0739
- Carvalho, S. I., Agassi, C. F., Ribeiro, C. S., Reifschneider, F. J., Buso, G. S., & Faleiro, F. G. (2017). Genetic variability of a Brazilian *Capsicum frutescens* germplasm collection using morphological characteristics and SSR markers. *Genetics and Molecular Research*, 16(3), 1-18. <https://doi.org/10.4238/gmr16039689>.
- Castañón-Nájera, G., Latournerie-Moreno, L., Leshner-Gordillo, J. M., de la Cruz-Lázaro, E., & Mendoza-Elos, M. (2010). Identificación de variables para caracterizar morfológicamente colectas de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, 26, 225-234.

- Castellón, M. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., & Vera-Guzmán, A. M. (2014). Variación fenotípica de morfotipos de chile (*Capsicum annuum* L.) nativo de Oaxaca, México. *Phyton International Journal of Experimental Botany*, 83, 225-236.
- Florido, M., Álvarez, M., Lara, R., Plana, D., Varela, M., Shagarodsky, T. & Moya, C. (2008). Análisis de la variabilidad morfo-agronómica en la colección de tomate (*Solanum* L. sección *Lycopersicon* subsección *lycopersicon*) conservada ex situ en Cuba. *Revista Cultivos Tropicales, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas Cuba*, 29(2), 43-48.
- González-Cortés, N., Jiménez, R., Guerra, E. C., Silos, H., & Payro, E. (2015). Germinación del chile amashito (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) en el sureste mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(11), 2211-2218.
- Hinthum, T. J., y Van, L. (1995). Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants. En Hodking, T., A.H.D. Brown, T.J.L. Van Hintum y E. A.V. Morales (eds.), *Core collections of plant genetic resources* (págs. 23-34). John Wiley and Sons, New York.
- IPGRI, AVRDC and CATIE. (1995). Descriptors for Capsicum (*Capsicum* spp.) International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy; the Asian Vegetable Research and Development Center. Taipei, Taiwan, and the Centro Agronómico Tropical de investigación y enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 345 p.
- Khoury, C. K., Carver, D., Barchenger, D. W., Barboza, G. E., Van, Z. M., & Jarret, R. (2020). Modelled distributions and conservation status of the wild relatives of chile peppers (*Capsicum* L.). *Biodiversity Research*. 26(2), 209-225. <https://doi.org/10.1111/ddi.13008>

- Ley Federal de Producción, Comercialización y Certificación de Semillas. Diario Oficial de la Federación. 15 de junio del 2007. Cap.1. Artículo 3. pp. 2-3.
- Ley Federal de Variedades Vegetales. Diario Oficial de la Federación. 25 de octubre de 1996. Cap. único. Artículo 2. pp. 1-2.
- Orton, T., & Ayeni, A. (2022). Specialty crop germplasm and public breeding efforts in the United States. *Agronomy*, 12(2). 239. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020239>
- Parry, C., Wang, Y. W., Lin, S. W., & Barchenger, D. W. (2021). Reproductive compatibility in *Capsicum* is not necessarily reflected in genetic or phenotypic similarity between species complexes. *PLoS ONE*, 16(3), Artículo e0243689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243689>
- SAGARPA- SNICS. (2014). Guía Técnica para la descripción varietal de Chile *Capsicum annuum* L. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo, Pesca y Alimentación. 25 p.
- UPOV. (2002). Introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. Documento TG/1/3. Ginebra, Suiza. pp. 28.
- UPOV. (2010). Documento conexo a la introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. Documento TGP/14. Glosario de términos utilizados en los documentos de la UPOV. Ginebra, Suiza. pp. 104.
- UPOV. (2011). Documento conexo a la introducción general al examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad y a la elaboración de descripciones armonizadas de las obtenciones vegetales. Documento TGP/7. Elaboración de las directrices de Examen. Ginebra, Suiza. pp. 98.

V. DISCUSIÓN GENERAL

Caracterización Morfológica

La diversidad genética contribuye a la productividad, sostenibilidad y estabilidad de los sistemas agrícolas, su pérdida acelerada interfiere con la satisfacción de la creciente demanda de productos agroalimentarios, con la conservación de la variabilidad genética, y con el bienestar de la humanidad (Khoury, 2020), aquí las especies silvestres de las plantas cultivadas y no cultivadas son fuente importante de genes primarios frente a la pérdida de diversidad, lo cual puede ayudar a resolver problemas de la agricultura actual tales como tolerancia o resistencia a sequía, plagas, enfermedades, salinidad, acame, temperaturas extremas, vida de anaquel, entre otros, lo cual es posible a través del mejoramiento vegetal (FAO, 2010; Hernández-Verdugo et al., 2015; Ramírez et al., 2018; Vijeth et al., 2019; Lusha et al., 2020); es importante considerar que esta diversidad puede incluso no ser aparente u observable en el fenotipo por lo que es necesario recurrir a métodos moleculares que permitan identificar y utilizar esta variación cuyas fuentes principales son la mutación, hibridación y la migración (Manzila et al., 2020; Moreno-Peris et al., 2020; Yu et al., 2021).

La domesticación de *Capsicum* ocurrida en México, generó una amplia diversidad fenotípica (Hill et al., 2013; Kraft et al., 2014; Xiao min et al., 2016), como resultado de dicha domesticación, los frutos de esta especie muestran mucha variabilidad en tamaños, formas, e intensidades y tonalidades de color tanto en estado inmaduro como en la madurez, heterogeneidad fenotípica que se observa a través de sus morfotipos que cumplen múltiples satisfactores antropocéntricos (Camacho et al., 2005; Parry et al., 2021), de allí, que los parientes silvestres de *Capsicum* representan una diversidad genética que los vuelve candidatos para futuros programas de mejoramiento genético (Parry et al., 2021).

En México la documentación de la diversidad genética de *Capsicum annuum* L. se ha venido realizando por la caracterización isoenzimática, fitoquímica, morfológica y la reciente incorporación de técnicas con marcadores moleculares, que a pesar de la rapidez y efectividad de éstas últimas, no ha logrado desplazar el uso de la caracterización morfológica, ya que a pesar de ser cuestionada por su influencia del medio ambiente, considerarla una metodología costosa y por requerir de más tiempo en su medición, (Corona et al., 2000; Haralayya & Asha, 2017), su vigencia se sustenta en que permite observar, describir, cuantificar y clasificar la diversidad fenotípica de las poblaciones mediante el uso de descriptores definidos y, su interacción de estos con el medio en que se desarrollan (Hernández, 2013).

Los bancos de germoplasma, son de gran importancia para la seguridad alimentaria de la humanidad, por lo que en ellos se debe resguardar germoplasma vegetal con la mayor diversidad genética posible previamente caracterizado, identificado y clasificado, donde la caracterización morfológica y molecular juegan un papel muy importante (Orton et al., 2022).

La caracterización morfológica y molecular realizada en esta investigación en 94 colectas de chile miahuateco, permitió identificar, describir, conocer la diversidad genética y, seleccionar genotipos con base en caracteres de interés agronómico, útiles en un programa de mejoramiento genético de esta especie.

En la caracterización morfológica, se evaluaron 58 caracteres, que al ser sometidos al análisis de covarianzas sucesivas, la matriz de datos morfológicos quedó reducida a 18 caracteres, mismos que permitieron diferenciar los grupos, lo que de acuerdo con Brilhante et al, (2021) es la evidencia sobre la existencia de diversidad genética en las poblaciones de estudio.

Las colectas presentaron valores mínimos y máximos respectivamente de altura de planta (92.67-136 cm); cavidad peduncular (presente, ausente); longitud de fruto (96.57-159.30 cm), diámetro de tallo (11.7-19.5 mm), peso fresco de fruto

(1,054-2,253 g), frutos comerciales (39-74), frutos totales (45-94), formas de fruto (triangular, trapezoidal, rectangular, de cuerno, corazón), así como tres tonalidades de color en fruto maduro (marrón, rojo y negro). El rendimiento es una característica que presenta mucha variabilidad según el genotipo, las condiciones ambientales, la presencia de plagas, enfermedades, la densidad de siembra y el manejo sin embargo se puede utilizar para identificar accesiones en término de esta variable. Los estadísticos empleados para determinar el número de grupos sugirieron la presencia de seis grupos, los cuales se conformaron de 15, 30, 21, 18, 5 y 5 genotipos respectivamente, mismos que de acuerdo con Brilhante et al., 2021 expresan la diversidad genética de las colectas evaluadas.

El análisis discriminante corroboró que las agrupaciones obtenidas mediante agrupamiento jerárquico fueron correctas, además, este procedimiento determinó las variables de mayor expresión de la variabilidad morfológica, las cuales explicaron el 90.1 % de la variación presente en las colectas evaluadas, así como los caracteres que permitieron la discriminación de los grupos. La cavidad peduncular, número de frutos totales, forma de la sección longitudinal de fruto, forma de fruto, color, número de flores y número de frutos por bifurcación, son los caracteres a partir de los cuales es posible describir los seis grupos identificados. Estos resultados coinciden con Toledo-Aguilar et al., 2011; Castellón et al., 2014 y Pertuze et al., 2016, quienes al evaluar variedades nativas de chile poblano, colectas de chiles nativos de Oaxaca, y 49 accesiones para mejoramiento genético respectivamente, debido a que las diferencias que encontraron entre las poblaciones de chile caracterizadas, están expresadas principalmente en caracteres de fruto (color, forma, tamaño, número de semillas, frutos totales, frutos por planta), esto también coincide con las estrategias del Sistema Nacional de Germoplasma del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, que en su amplia colección de germoplasma de chile (307 accesiones) traídas de 48 regiones del mundo, están siendo caracterizadas por caracteres de hoja, flor y fruto como su principal criterio morfológico y conocer la diversidad de

las accesiones, para su mejoramiento genético e implementar programas de conservación *in situ* y *ex situ* (Tripodi et al., 2018).

Uno de los principales atributos en Chile que ha favorecido el incremento en el consumo per cápita de 12.3 a 17.2 kg en los últimos 6 años (SIAP, 2021), es el grado de picor, aroma y sabor característico de cada tipo de Chile como es el caso de Chile miahuateco, sin embargo existe el descontento de una porción de mercado porque ha detectado en algunos Chiles la pérdida de características de calidad como sabor, aroma y picor, debido a que la selección de nuevos genotipos ha privilegiado características como rendimiento, vida de anaquel, apariencia externa y tolerancia a enfermedades (Causse et al., 2003). Por otro lado, existen grupos de investigación que están enfatizando en que la calidad final del Chile está definida por su riqueza como fuente de vitamina A, C, extracción de pigmentos como oleorresinas para la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria, e incluso se ha sugerido que la ingesta regular de capsaicinoides es benéfica para la salud debido a sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antitumorales, y antiespasmódicas, por lo que el Chile en sus diversas variantes es considerado alimento funcional (Xiao min et al., 2016; Varhese et al., 2017), y es el caso del Chile miahuateco que se caracteriza por su sabor, picor y color característico.

La vida de anaquel siempre es un criterio a considerar en la generación de nuevas variedades, sin embargo el Chile miahuateco tiene tal versatilidad de uso tanto en fresco en una gran cantidad de platillos de la gastronomía mexicana especialmente poblana como Chiles rellenos, en nogada, rajas, y salsas, o en su caso al madurar se somete a un proceso de deshidratado para ser comercializado como Chile seco, forma en la cual alcanza su mayor precio (\$220 kg) que lo convierte en la materia prima principal para elaborar el Mole poblano.

Caracterización molecular

Los diferentes tipos de marcadores moleculares se distinguen por su capacidad para detectar polimorfismo en loci único o múltiples y, son de tipo dominante o codominante, además reducen el tiempo de identificación de genotipos sin necesidad de esperar su madurez y prueba en ambientes diferentes, por lo que actualmente se consideran una herramienta complementaria de gran alcance en los programas de mejoramiento genético (Valadez & Kahal, 2005, Naresh et al., 2018; Escoto-Sandoval et al., 2021).

En esta investigación, los 24 iniciadores ISSR utilizados en la caracterización molecular, generaron 241 bandas, de las cuales 154 fueron polimórficas, lo que representa un polimorfismo de 64 % suficiente para distinguir las diferentes colectas evaluadas y su agrupación en ocho grupos. Los iniciadores que generaron el mayor número de bandas polimórficas fueron ISSR6, LOL12, PIO1, ISSR1, LOL2 e ISSR8, estos iniciadores se caracterizan porque su base es la secuencia CA, AC y GTG, lo que de acuerdo con Medina et al., 2015, los iniciadores con repeticiones de base CA son los más informativos en estudios moleculares.

La variación genética encontrada en chile miahuateco de acuerdo a la heterocigosidad esperada (H_e) fue de 0.344, lo cual coincide con Contreras et al., 2011, quien al evaluar la diversidad genética en México de variedades nativas de chile Poblano con 24 microsatélites, encontraron 220 alelos con 80 % de polimorfismo, donde dos poblaciones incluídas de chile miahuateco mostraron una H_e de 0.477; por su parte, López-Espinoza et al, (2018) encontraron 98 % de polimorfismo en 60 poblaciones de chile habanero con tres iniciadores ISSR con una H_e de 0.40; resultados similares fueron los de Gálvez-Muñoz et al., 2021, quienes encontraron 229 alelos de ellos 70 fueron polimórficos al utilizar cuatro marcadores microsatélites para estimar la diversidad genética de chiles silvestres de Tabasco y Chiapas, México; mientras que Dhaliwal et al., 2014 al utilizar 27 microsatélites en 64 accesiones de tres especies de *Capsicum* de la India (C.

Annuum, *C. chinense* ,y *C. frutescens*) obtuvieron 75 alelos en total con 2.78 alelos por locus; Tsonev et al., 2017 reportaron valores promedios de diversidad genética de 0.214 en genotipos criollos de *Capsicum* de Bulgaria, mientras que Shiferaw et al., 2017 observaron rangos de variación genética de 0.03 a 0.19 en chiles criollos de Etiopía, lo anterior indica que las poblaciones de México tienen mayor variación genética que podría ser utilizada en la mejora genética de esta especie y, por lo cual, México es considerado centro de domesticación y diversificación de del chile (Pickersgill, 2007; Kraft et al., 2014).

Estudios recientes muestran un uso más detallado y profundo de técnicas moleculares para conocer la diversidad genética en chile, como el realizado por Lee et al., 2016, quienes a partir de 3,821 accesiones de *Capsicum*, seleccionaron un total de 240 accesiones basado en el uso de 48 marcadores SNP, y de acuerdo a los grupos identificados, concluyeron que las colecciones de germoplasma deben ser mínimo acorde a los grupos identificados, rescatando la máxima diversidad genética de sus parientes silvestres lo cual facilita el acceso a material genético de interés incluso con diversidad genética oculta.

Lo anterior enfatiza en la importancia de usar marcadores moleculares que permitan identificar el mayor polimorfismo y con ello la diversidad genética en las poblaciones de estudio, por lo que en la última década, el uso de marcadores moleculares para estudios de diversidad genética, ya es rutinario, incrementando el desarrollo de técnicas de mayor precisión, especificidad, rapidez y bajo costo (Naresh et al., 2018; Parry, 2021).

El análisis conjunto de dos tipos de caracterizaciones permite diseñar estrategias de mejoramiento genético y conservación de genotipos, elegir dentro de cada grupo aquellos genotipos con mejores caracteres para el cultivo, y en este caso que conserven las características distintivas de fruto del chile miahuateco, por lo que ambas caracterizaciones son estudios complementarios que permiten definir de mejor manera la diversidad (Marin-Montes et al., 2019), lo que coincide con Brilhante et al., 2021, quien describió el uso de descriptores cualitativos y

cuantitativos y el uso de marcadores ISSR para caracterizar 69 accesiones de especies de *Capsicum* de diferentes regiones de Brazil encontrando que el uso de ambas caracterizaciones son complementarias y muestran la diversidad genética de las poblaciones acorde al número de grupos generados.

Respecto a la estrategia de conservación, la variabilidad genética identificada en chile miahuateco, es de gran importancia para la selección de genotipos acorde a caracteres de interés agronómico, por lo que es necesario el resguardo en un banco de germoplasma para garantizar la protección de la mayor diversidad genética posible. En el presente estudio se propone conservar como mínimo las 50 colectas más representativas que definen al fruto de chile miahuateco (ausencia de cavidad peduncular, tamaño, forma, color y número de frutos totales), así como su polimorfismo molecular, lo que representa el resguardo de un 53 % de este germoplasma, lo cual concuerda con Biasutti et al., 2007, quienes refieren que no hay un patrón universal para definir el tamaño de muestra de una población para su resguardo en un banco de germoplasma, si no que esto estará en función del germoplasma disponible, su rol de uso en la sociedad, y las características agronómicas que lo identifican y que hacen de interés su conservación.

LITERATURA CITADA

Biasutti, C. A., Peretti, N., Perez, A., & Durand, G. (2007). Banco de germoplasma en Argentina. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Brilhante, G. D. B., Santos, T. de O., Araujo, D. S. P. H., Kamphorst, S. H., Souza, N. J. D., Rangel, L. H., Vargas, V. F., Nunes, de A. R., Rodríguez, R., Santos J. A. C.; & Moreira, M. M. (2021). Phenotypic and molecular characterization of Brazilian *Capsicum* germplasm. *Agronomy*, 11(5), 854. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050854>

- Camacho, V., Maxted, T. C. N., Scholten, M., & Ford-Lloyd, B. (2005). Defining and identifying crop landraces. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 3, 373-384.
- Castellón, M. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., & Vera-Guzmán, A. M. (2014). Variación fenotípica de morfotipos de chile (*Capsicum annuum* L.) nativo de Oaxaca, México. *Phyton International Journal of Experimental Botany*, 83, 225-236.
- Causse, M., Buret, M., Robin, K., & Verschave, P. (2003). Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences. *Journal of Food Science*, 68(7), 2342-2350.
- Contreras, T. A. R., López, S. H., Santacruz, V. A., Valadez, M. E., Aguilar, R. V. H., Corona, T. T., & López P. A. (2011). Diversidad genética en México de variedades nativas de chile 'Poblano' mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34, 225-232.
- Corona-Torres, T., García-Velázquez, A., Castillo-González, F., Montero-Tavera, V., & Azpiroz-Rivero, H. S. (2000). Caracterización isoenzimática de la diversidad genética de colectas de chile (*Capsicum annuum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 6, 5-17. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.1999.04.033>
- Dhaliwal, M. S., Yadav, A., & Jindal, S. K. (2014). Molecular characterization and diversity analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology*, 13, Artículo 3137-3143. doi: 10.5897/ajb2014.13695.
- Escoto-Sandoval, C., Ochoa-Alejo, N., & Martínez, O. (2021). Inheritance of gene expression throughout fruit development in chili pepper. *Nature*, 11-22. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02151-z>

- FAO. (2010). Segundo Informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura en el mundo. Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura. *Food and Agricultural Organization of the United Nations*. Rome, Italy. 372 p.
- Gálvez-Muñoz, Y. A., Cea, M. M. E., Leshner, G. J. M., Latournerie-Moreno, L., Martínez-Moreno, E., Martínez, S. J. L., & Castañón-Nájera, G. (2021). Comparación Molecular de poblaciones de chile (*Capsicum* spp.) de Tabasco y Chiapas, México. *Bioagro*, 33(1), 3-12. <http://www.doi.org/10.51375/biogro331.1>
- Haralayya, B., & Asha, I. S. (2017). Molecular Marker Application in *Capsicum* spp.: A supplement to Conventional Plant Breeding. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11), 3840-3855
- Hernández, V. A. E. (2013). Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Revista BioCiencias*, 2(3), 113-118.
- Hernández-Verdugo, S., González-Sánchez, R. A., Porras, F., Parra-Terraza, S., Valdéz-Ortíz, A., Pacheco-Olvera, A., & López-España, R. G. (2015). Plasticidad fenotípica de poblaciones de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) en respuesta a disponibilidad de luz. *Botanical Science*, 93(2), 231-240. doi: 10.17129/botsoci.237
- Hill, T. A., Ashrafi, H., Reyes-Chin-Wo, S., Yao, J., Stoffel, K., Truco, M. J., Kozik, A., Michelmore, R. W., & Van, D. A. (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

- Khoury, C. K., Carver, D., Barchenger, D. W., Barboza, G. E., Van, Zonneveld, M., & Jarret, R. (2020). Modelled distributions and conservation status of the wild relatives of chile peppers (*Capsicum* L.). *Biodiversity Research*, 26(2), 209-225. <https://doi.org/10.1111/ddi.13008>
- Kraft, K., Brown, C. H., Nabhan, G. P., Luedeling, E., Luna-Ruiz, J. de J., Coppens d'Eeckenbrugge, G., Hijmans, R. J., & Geps, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), 6165-6170. doi: 10.1073/pnas.1308933111
- Lee, H., Na, Young, R., Hee-Jin, J., Kwon, J., Ha, Y.; Jung, A., Han, J., Venkatesh, J., & Byoung-Cheorl, K. (2016). Genetic diversity and population structure analysis to construct a core collection from a large *Capsicum* germplasm. *BMC Genetic*. 17(142).
- López-Espinosa, S. T., Latournerie-Moreno, L., Castañón-Nájera, G., Ruiz-Sánchez, E., Gómez-Leyva, J., Andueza-Noh, R. H., & Mijangos-Cortés, J. O. (2018). Genetic diversity of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) using ISSR. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 41(3), 227-236.
- Lusha, J. Pan, L., Zhenhua, S., Meifang, L., & Shangjing, G. (2020). Cold-tolerant introgression line construction and low-temperature stress response analysis for bell pepper. *Plant Signaling & Behavior*, 15 (7). <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1773097>
- Manzila, I., Priyatno, T. P., Nugroho, K., Terryana, R. T., Lestari, P., & Hidayat, S. H. (2020). Molecular and morphological characterization of EMS-induced chili pepper mutants resistant to Chili veinal mottle virus. *Biodiversitas*, 21(4), 1448-1457. doi: 10.13057/biodiv/d210424

- Marin-Montes, M., Lobato-Ortiz, R., Carrillo-Castañeda, G., Rodríguez-Pérez, J. E., García-Zavala, J. G., & Velasco-García, A. M. (2019). Allelic richness of native tomato populations (*Solanum lycopersicum* L.) for plant breeding. *Agrociencia*, 53, 355-370.
- Medina, C. H. C., Gutiérrez, S. P. A., & Marin, M. M. (2015). Detección del potato virus y (PVY) en tubérculos de papa mediante TAS-ELISA y QRT-PCR en Antioquía (Colombia). *Bioagro*, 27(2), 83-92.
- Moreno-Peris, E., Cortés-Olmos, C., Díez-Díaz, M., González-Mas, M. C., Luis-Margarit, A., Fita, A., & Rodríguez-Burruezo, A. (2020). Hybridization in peppers (*Capsicum* spp.) to improve the volatile composition in fully ripe fruits: The effects of parent combinations and fruit tissues. *Agronomy*, 10, 751. doi: 10.3390/agronomy10050751
- Naresh, P., Lin, S. W., Lin, C. Y., Wang, Y. W., Schafleitner, R., Kilian, A., & Kumar, S. (2018). Molecular markers associated to two non-allelic genic male sterility genes in peppers (*Capsicum annuum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 9, 1343. doi: 10.3389/fpls.2018.01343
- Orton, T., & Ayeni, A. (2022). Specialty crop germplasm and public breeding efforts in the United States. *Agronomy*, 12(2), 239. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020239>
- Parry, C., Wang, Y. W., Lin S. W., & Barchenger, D. W. (2021). Reproductive compatibility in *Capsicum* is not necessarily reflected in genetic or phenotypic similarity between species complexes. *PLoS ONE*, 16(3), Artículo e0243689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243689>
- Pertuze, R., Matteo, M., Contreras, S., Pino, M. T., Blanco, C., & Saavedra, G. (2016). Morphoagronomic characterization of 49 *Capsicum* sp. Accessions for breeding selection purposes. *Acta Horticulturae*, 1127, 467-470. doi: 10.17660/ActaHortic.2016.1127.73

- Pickersgill, B. (2007). Domestication of plants in the Americas: Insights from Mendelian and molecular genetics. *Annals of Botany*, 100, 925-940. doi: 10.1093/aob/mcm193
- Ramírez, N. U. I., Cervantes, O. F., Montes, H. S., Raya, P. J. C., Cibrian, J. A., & Andrio, E. E. (2018). Diversidad morfológica del chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) de Querétaro y Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(6). <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i6.1581>
- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021). Anuario estadístico de la producción agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, *SADER*.
- Shiferaw, A. A., Destaw, M. A., & Samuel, G. A. (2017). Genetic diversity study of Ethiopian hot pepper cultivars (*Capsicum* spp.) using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). *Journal of Plant Molecular Breeding*, 5(2), 27-37. doi: 10.22058/JPMB.2019.91684.1169
- Toledo-Aguilar, R., López-Sánchez, H., López, P. A., Guerrero-Rodríguez, J. D., Santacruz-Varela, A., & Huerta de la Peña, A. (2011). Características vegetativas, reproductivas y de rendimiento de fruto de variedades nativas de chile "Poblano". *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17, 139-150.
- Tripodi, P., & Greco, B. (2018). Large scale phenotyping provides insight into the diversity of vegetative and reproductive organs in a wide collection of wild and domesticated peppers (*Capsicum* spp.). *Plans*, 7(103).
- Tsonev, S., Todorova, V., Groseva, S., Popova, T., & Todorovska, E.G. (2017). Evaluation of diversity in Bulgarian pepper cultivars by agronomical traits and ISSR markers. *Genetika*, 49(2), 647-662. <https://doi.org/10.2298/GENSR1702647T>

- Valadéz, E. & Kahl, G. (2000). Huellas de ADN en genomas de plantas. Texcoco, México. Mundi-Prensa, México, S. A. de C. V. Universidad Autónoma Chapingo. 147p.
- Varghese, S., Kubatka, P., Rodrigo, L., Gazdikova, K., Caprnda, M., & Fedotova, J. (2017). Chili pepper as a body weight-loss food. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68, 392-401. doi: 10.1080/09637486.2016.1258044
- Vijeth, S., Sreelathakumary, I., Rafeekher, M., & Kaushik, P. (2019). Appraisal of genetics and heterosis of important traits in chili pepper cultivated under the influence of chili leaf curl virus disease. *Preprints*. doi: 10.20944/preprints2019.0415.v1
- Xiao-min, Z., Zheng-hai, Z., Xiao-zhen, G., Sheng-li, L., Chadoeuf, J., Palloix, A., Li-hao, W., & Bao-xi, Z. (2016). Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(9), 1991-2001.
- Yu, D., Gu, X., Zhang, S., Dong, S., Miao, H., Gebretsadik, K., & Bo, K. (2021). Molecular basis of heterosis and related breeding strategies reveal its importance in vegetable breeding. *Horticulture Research*, 8,120. doi.org/10.1038/s41438-021-00552-9

VI. CONCLUSIONES GENERALES

Dada la diversidad genética presente en el género *Capsicum*, es indispensable que previo a iniciar un programa de mejoramiento genético se debe conocer la variabilidad genética que se conserva *in situ*; y para ello surge la necesidad de caracterizar morfológica y molecularmente las colectas de germoplasma de interés como en este caso lo fue en Chile miahuateco, proceso que permita obtener información robusta y confiable sobre genotipos y caracteres de interés para el fitomejorador y para los agricultores, con la consecuente conservación de este germoplasma.

La caracterización morfológica y molecular (64 % de polimorfismo) realizadas en esta investigación, evidencian la existencia de variabilidad genética (H_e 0.344) en las poblaciones nativas de Chile miahuateco estudiadas, con la formación de seis y ocho grupos respectivamente y, donde los caracteres de fruto fueron determinantes para diferenciar los grupos, se sugiere el resguardo de 53 % de las colectas evaluadas.

Los caracteres de fruto: cavidad peduncular, número de frutos totales, forma de la sección longitudinal de fruto, forma de fruto, color de fruto, número de flores y número de frutos por bifurcación, son los caracteres a partir de los cuales es posible describir los seis grupos de colectas identificados.

Las guías de caracterización morfológica de recursos vegetales, son un instrumento oportuno y eficaz para distinguir a una población de plantas que constituyen una variedad vegetal, a través de una serie de descriptores útiles de importancia agronómica o expresiones fenotípicas propias, que permiten su identificación, descripción, distinción, y con ello buscar la protección y resguardo de la misma, dada su importancia como recurso fitogenético.