



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
División Académica de Ciencias Biológicas



**“RELACIÓN FILOGENÉTICA DE POBLACIONES DE *CAPSICUM* SPP.
CON DIFERENTE ORIGEN GEOGRÁFICO”**

Trabajo recepcional, en la modalidad de:

Tesis de Doctorado

Para obtener el grado en:

Doctorado en Ciencias en Ecología y Manejo de
Sistemas Tropicales

Presenta:

Yasmín Araceli Gálvez Muños

Directores:

Dr. Guillermo Castañón Nájera
Dr. Luis Latournerie Moreno

Villahermosa, Tabasco, México

Junio, 2019



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN

JUNIO 05 DE 2019

**C. YASMÍN ARACELI GÁLVEZ MUÑOZ
PAS. DEL DOCTORADO EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA Y
MANEJO DE SISTEMAS TROPICALES
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis de Doctorado en Ciencias en Ecología y Manejo de Sistemas Tropicales titulado: **"RELACIÓN FILOGENÉTICA DE POBLACIONES DE *CAPSICUM* SPP. CON DIFERENTE ORIGEN GEOGRÁFICO"**, asesorado por el Dr. Guillermo Castañón Nájera, sobre el cual sustentará su Examen de Grado, cuyo jurado está integrado por la Dra. Julia María Leshner Gordillo, Dr. José Luis Martínez Sánchez, Dr. Guillermo Castañón Nájera, Dr. Eusebio Martínez Sánchez, Dr. Luis Latournerie Moreno, Dr. Ulises González de la Cruz y Dr. Nicolás González Cortes.

Por lo cual puede proceder a concluir con los trámites finales para fijar la fecha de examen.

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR

UJAT
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente del Alumno.
C.c.p.- Archivo

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de doctorado denominado: **“RELACIÓN FILOGENÉTICA DE POBLACIONES DE *CAPSICUM* SPP. CON DIFERENTE ORIGEN GEOGRÁFICO”**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco a los 05 Días del mes de junio de 2019

AUTORIZO



YASMÍN ARACELI GÁLVAN MUÑOZ

INDICE DE CONTENIDO

Agradecimientos	IV
Dedicatoria	V
Lista de cuadros	VI
Capítulo 1. Introducción	1
Capítulo 2. Antecedentes	3
2.1 Características Botánicas de <i>Capsicum</i>	3
2.1.1 Tipo de planta	3
2.1.2 Características de la flor	4
2.1.3 Características del fruto	4
2.1.4 Características de la hoja	7
2.1.5 Capsaicina	7
2.2 Clasificación Taxonómica	7
Capítulo 3. Justificación	9
Capítulo 4. Objetivo	12
4.1 Objetivo General	12
4.2 Objetivos Específicos	12
4.2.1 Hipótesis	12
Capítulo 5. Referencias	13
Capítulo 6. Artículos	20
6.1 Morphological diversity of wild and semi-wild chili populations of Tabasco and the north of Chiapas States, México	20
Resumen	20

	Introduction	21
	Materials and Methods	21
	Results	23
	Discussion	25
	Conclusions	26
	Acknowledgements	26
	References	26
6.2	Comparación morfológica y molecular de poblaciones de chile (<i>Capsicum spp</i>) de Tabasco y Chiapas	28
	Resumen	28
	Abstrac	29
	Introducción	30
	Materiales y Métodos	32
	Material vegetal	32
	Extracción de ADN y amplificación de Microsatelites	32
	Análisis Estadístico	33
	Caracterización Morfológica	33
	Caracterización Molecular	34
	Resultados y Discusión	34
	Caracterización Morfológica	34
	Caracterización Genética	36
	Conclusiones	40
	Referencias	40
	Lista de tablas	45

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca otorgada durante la estancia Doctoral en la División Académica de Ciencias Biológicas perteneciente de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT).

Agradezco de manera muy especial al Dr. Guillermo Castañón Nájera por la dirección y el financiamiento de este proyecto de tesis, que sin su participación esto no hubiera sido posible, expresando con gran sinceridad y respeto mi cariño porque usted Doctor es una gran persona y director de tesis.

Agradezco a mi Co-director de tesis el Doctor Luis Latournerie Moreno, por su participación en este trabajo de investigación.

Agradezco de manera muy especial a la Doctora Julia Lesher Gordillo por haberme permitido realizar el proyecto de investigación en el laboratorio de Genómica Molecular

Agradezco la participación del Doctor Eusebio Moreno Martínez por formar parte del comité tutorial.

Agradezco la participación del Doctor José Luis Martínez Sánchez Martínez por formar parte del comité tutorial..

Agradezco a la Doctora Ena Edith Mata Zaya por todo su apoyo durante el proceso de trámites para el examen de grado.

Agradezco al Doctor Nicolás González Cortés por ser parte del comité sinodal y todo el apoyo brindado para la revisión de la tesis.

Agradezco al Doctor Ulises González de la Cruz por formar parte del comité sinodal y todo el apoyo el brindado para la revisión de la tesis.

Agradeciendo a todos mis amigos y aquellas personas que de manera directa e indirecta me apoyaron y se convirtieron en mis amigos agradeciendo su amistad y cariño, gracias.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Jehová Dios por haberme permitido culminar esta etapa de mi vida.

A mi padre el señor **Derli Efraín Gálvez Roblero** que aunque físicamente no estas a mi lado vives en mis pensamientos, nunca terminare de agradecer todo lo que me diste y enseñaste.

A mi madre la Señora **Gloria Nelva Muñoz Pérez** gracias por todos tus consejos toda tu confianza, por guiarnos siempre, **Te amo mamita.**

A mis hermanos que han sido un pilar desde que faltó mi padre les agradezco su apoyo, comprensión y su cariño en todo momento gracias

Marco Antonio Gálvez Muñoz

Gabriela Elisa Gálvez Muñoz

Derli Josue Gálvez Muñoz

Antulio Alejandro Gálvez Muñoz

De manera muy especial a mi esposo **Santiago Ramírez Vera** gracias por tu amor y tu apoyo incondicional, gracias por ser parte de mi vida **Te amo.**

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Descripción morfológica de la flor de las especies domesticadas del género <i>Capsicum</i> spp.	5
Cuadro 2. Clasificación taxonómica de <i>Capsicum</i> spp.	8
Cuadro 3. Clasificación Taxonómica del género <i>Capsicum</i> .	10

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

A México se le considera el centro de origen, domesticación y diversificación de *Capsicum annuum* L., ello se sustenta por los vestigios de semillas y frutos carbonizados que se encontraron en la cueva de Ocampo, Tamaulipas (7000-5000 a.C.), en Coaxtlán en el Valle de Tehuacán (6000-4000 a.C), y, en Silvia y Guila Naquitz en Oaxaca (600-1521 d.C.). Según MacNeish (1964); Pickersgill (2007). Que coincidiendo con lo reportado recientemente por Aguilar-Meléndez *et al.* (2009); y Castellón-Martínez *et al.* (2014),

Capsicum pertenece a la familia de las Solanáceas, pero no hay acuerdo en el número de especies que forman a este importante género, Nuez *et al.* (1996), algunos investigadores mencionan que son alrededor de 35 especies que pertenecen a *Capsicum* Carrizo *et al.* (2013) mientras que Loaiza-Figueroa *et al.* (1989), señalan 27 especies; sin embargo Walsh y Hoot (2001). Indican que son entre 20 y 27 especies, y de ellas *C. annuum*, *C. Chinense*, *C. pubescens*, *C. frutescens* y *C. baccatum* R. & P. son las especies domesticadas (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999; Wang y Bosland, 2006). Pozo *et al.* (1991), señalan que las variedades de chile de cada especie, se identifican por el tamaño, forma, color y grado de picor del fruto, y los frutos pequeños por lo general son los más picantes, mientras que los frutos grandes son dulces. Según Aguirre-Mancilla *et al.* (2017), el chile es importante desde el punto de vista agronómico, nutricional y económico. México es considerado un país con gran riqueza y diversidad vegetal, y uno de los principales centros de domesticación de cultivos agrícolas que son parte de la alimentación del hombre (Hernández-Verdugo, 2014). El chile ha sido parte de la alimentación de la población Mesoamericana, lo anterior por que las culturas de esta área geográfica, principalmente la de México participaron en la domesticación, y selección basado en sus requerimientos y necesidades, las características de esta planta son forma, color, aroma, sabor y tamaño del fruto, contribuyendo con ello cultura y gastronomía mundial (CONABIO, 2006).

De acuerdo a la importancia que presenta el cultivo de chile tanto en México como a nivel mundial, es necesario realizar estudios sobre distribución geográfica, diversidad genética y conservación (Martínez-Sánchez *et al.*, 2010). Es necesario se realicen estudios conjuntos de caracterización morfológica y molecular para detectar caracteres de importancia agrícola biotecnológica e industrial.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPITULO 2. ANTECEDENTES

El género *Capsicum* se originó en América, mucho antes de la llegada de los primeros pobladores a estas tierras (Walsh y Hoot, 2001). La familia de las solanáceas está formada por 84 géneros, entre ellos se encuentra el tomate, *solanum lycopersicum* L., la papa, *Solanum tuberosum* L., el tabaco, *Nicotiana tabacum* L., la berenjena, *Solanum melongena* L., el lulo, *Solanum quitoense* Lam., uvilla *Physalis peruviana* L. y otras plantas medicinales. Hoy día el origen de *Capsicum* es incierto. Sin embargo, Bosland y Votava (2012), señalan que su centro de origen es la región árida de los Andes, de dónde se dispersó a las zonas tropicales y las tierras bajas de América.

Investigaciones previas citan se ha encontrado que el género *Capsicum* es una fuente rica en antioxidantes C y E, así como de provitaminas, éstas se pueden encontrar en altas concentraciones y son una fuente de carotenoides y xantofilas con alto contenido de vitamina P (Citrina), B (Tiamina), Riboflavina y B3 (Niacina),. Los pimientos (chiles) verdes presentan elevados contenidos de polifenoles y los de color rojo tienen altas concentraciones de vitaminas (Bosland y Votava, 2012; Quiipo-Muñoz, 2013).

2.1 Características Botánicas de *Capsicum*

El chile pertenece al género *Capsicum* spp, y junto con *Solanum*, *Lycopersicon* spp, *Cyphomandra*, *Physalis*, spp entre otros, que forman la familia de las Solanáceas (Yáñez *et al.*, 2015).

2.1.1 Tipo de planta

El chile es una planta monoica, semi-arbustiva perenne, que puede alcanzar entre 0.25 m a 85 m de altura, el tamaño varía de acuerdo a la variedad y el ambiente en que crece y se desarrolla IPGRI-AVRDC-CATIE, (1995). Se le considera una planta

autógama, aunque puede presentar alto porcentaje de alogamía, la que se da principalmente por el viento, insectos polinizadores (Raw, 2000)

2.1.2 Características de la flor

El color de la flor en *Capsicum* varía según la especie (**Cuadro 1**), pero se distinguen dos tipos de flores: blancas y púrpuras. En el grupo de flores blancas se encuentran las especies *C. baccatum*, *C. annuum*, *C. chinense* y *C. frutescens*. Mientras que la especie *C. pubescens* se caracteriza por presentar flores de color púrpura (Pickersgill, 1980).

2.1.3 Características del fruto

Las especies silvestres de *Capsicum annuum* muestran frutos pequeños, de color verde, pungentes, su forma puede ser cónica, esférica u oblonga, presentan un crecimiento erecto o decíduo. Las semillas son diseminadas por las aves que son atraídas por el color brillante de los frutos, en cambio las especies cultivadas presentan menor número de frutos por planta, mayor tamaño del fruto, diversidad de colores que puede ser amarillo, naranja, violeta, marrón y verde (García, 2006; Nuez *et al.* 1996), señalan que las especies cultivadas pueden presentar formas redondas, acorazonadas, largas cilíndricas, cónicas, y rectangulares. En los frutos de las especies cultivadas se observa el pericarpio y las semillas están adheridas a la placenta y son ricas en aceite, como es el caso del extracto de *Capsicum* que contiene Capsaicina y es utilizada para disminuir cansancio y es utilizado como analgésico algunas variedades presentan de 2 a 4 lóbulos bien diferenciados los frutos inmaduros pueden ser blancos verdes o cafés.

Cuadro 1. Descripción morfológica de la flor de las especies domesticadas del género *Capsicum* spp.

Características	<i>C.annuum</i>	<i>C. frutescens</i>	<i>C.chinense</i>	<i>C. baccatum</i>	<i>C. pubescens</i>
Flores	Solitarias	Solitarias	Dos o más por nudo	Solitarias	Solitarias e inclinadas
Pedicelo	Declinado Erecto	Erecto	Erecto declinado	Erecto o declinado	Erecto
Corola	Blanca ocasionalmente púrpura	Verdosa-blanca	Verdosa-blanca ocasionalmente blanca o morada	Blanca o Verdosa-blanca	Morada
Manchas	Sin manchas	Sin manchas	Sin manchas	Con manchas	Sin manchas
Cáliz	Sin constricción anular	Sin constricción anular	Con constricción anular	Tiene constricción anular	No tiene constricción anular
Venas	Prolongadas en dientes cortos	No están prolongadas en dientes	No están prolongadas en dientes	Prolongadas en dientes prominentes	Prolongadas en dientes
Pulpa	Blanda	Blanda	Firme	Firme	Firme
Semillas	Amarillas	Amarillas	Amarillas	Amarillas	Oscuras

Número. Cromosómico	2n=24 un par de cromosomas acrocéntricos	2n=24 un par de cromosomas acrocéntricos	2n=24 un par de cromosomas acrocéntricos	2n=24 un par de cromosomas acrocéntricos	2n=24 un par de cromosomas acrocéntricos
--------------------------------	--	--	--	--	--

Fuente: IBPGR (1983); Muñoz (2002).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

2.1.4 Características de la hoja

El color de las hojas es verde, sin embargo pueden presentar tonalidades como verde claro, verde oscuro, morado, jaspeado u otro; el margen de lámina foliar puede ser entera, ondulada o ciliada (IPGRI-AVRDC-CATIE, 1995).

2.1.5 Capsaicina

La capsaicina es sintetizada por las planta de chile y ésta actúa como un medio de defensa en el ambiente en que se encuentra creciendo. El grado de picor es detectado por los humanos por la sensación de ardor o dolor al tener contacto con la capsaicina, este permite la entrada de iones de calcio a las células, es captado por el cerebro como un mensaje, y el mensaje se interpreta como una sensación de quemazón (Cedrón, 2013). Los capsaicinoides en los frutos de chile se encuentran en la placenta y semillas (Stewart *et al.* 2007).

En las especies de *Capsicum* se encuentra el alcaloide capsaicina o capsicina, 8-metil-N-vanillil-6-nonenamida, ésta es una sustancia fenol etérica, la que se percibe en soluciones de 1:100000 y un grupo de amidas de ácidos aromáticos procedentes de la fenilalanina, en el cual se presenta la leucina y la valina (Blum *et al.*, 2002; Brack, 2003). El grado de pungencia de las especies de chile se determina en unidades Scoville (Cedrón, 2013).

2.2 Clasificación Taxonómica

La familia de las solanáceas está formada por 84 géneros, entre ellos además de *Capcisum*; se encuentran el tomate, *Solanum lycopersicum* la papa, *Solanum tuberosum*, el tabaco *Nicotiana tabacum*, la berenjena *Solanum melongena* y plantas medicinales (Jaramillo y Lobo, 1982). Este género agrupa entre 27 y 30 especies. Pero otros autores reportan 20 y 23 especies (Eshbaugh, 1983).

Por lo anterior la taxonomía de *Capsicum* spp es muy controvertida. *Capsicum* como género fue establecido en 1700 (Cuadro 2) por Tournefort (Bravo, 1934); y en 1737 Linnaeus clasificó a *C. annuum* y *C. frutescens*, y en 1767 se introdujeron las especies *C. baccatum* y *C. grossum*). Los criterios para clasificar a las especies fueron el tamaño, forma y color del fruto (Smith y Heiser, 1951).

La clasificación botánica del género *Capsicum*. El **Cuadro 3**, muestra la distribución geográfica y especies que se encuentran clasificadas en el género *Capsicum*.

Cuadro 2. Clasificación taxonómica de *Capsicum* Spp

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Solanales*

Familia: *Solanaceae*

Subfamilia: *Solanoideae*

Tribu: *Solaneae*

Subtribu: *Capsicinae*

Género: *Capsicum*

Bosland y Votava, 2012

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

Es importante mencionar que México es centro de origen y diversidad del género *Capsicum*, cuenta con una gran gama de variabilidad genética las especie *C. annuum*, mientras las especies *C. frutescens*, *C. pubescens* y *C. chinense*; se puede hallar en menor grado (Latournerie *et al.*, 2002).

Entre las hortalizas el chile es la más cultivada en todo el mundo, se utiliza como especia, como ingrediente en la preparación de alimentos y en la industria farmacéutica y cosmética (Andrews, 1995; Ruiz-Lau *et al.*, 2011). En México existe amplia variabilidad fenotípica dentro de la especie *C. annuum* como colores, olores, formas y aromas, además tiene alta demanda por su valor nutrimental y beneficios económicos (Contreras-Toledo *et al.* 2011).

Conocer la variación morfológica y los patrones de distribución geográfica de *Capsicum* es de gran interés para poder comprender los patrones evolutivos de las especies vegetales (Ruiz-Lau *et al.*, 2011). Entre los factores abióticos que determinan la distribución de las especies de *Capsicum* se deben considerar el clima, la latitud y altitud, al clima se le considera el factor principal en la distribución y variación de las especies vegetales, porque puede influir sobre la evolución, fisiología y reproducción, también puede provocar interacciones ecológicas que afectan a los recursos genéticos (Bran *et al.*, 2012).

Cuadro 3. Clasificación Taxonómica del género *Capsicum*.

Especie	Distribución geográfica	Fuente: Autor (Año)
<i>C. annuum</i> Linnaeus	Del norte de Colombia, hasta el sur de E.U.A	Linnaeus, 1753
<i>C. annuum var. annuum</i> Linnaeus	Argentina, Chile, Bolivia, Brasil, Paraguay, Perú y Ecuador.	Linnaeus, 1753
<i>C. baccatum</i> L Kuntze	Brasil	Kuntze, 1891
<i>C. campylopodium</i> Sendt,	Sur de Brasil	Sendtner, 1846
<i>C. cardenasii</i> Heiser & Smith,	Bolivia	Heiser & Smith, 1958
<i>C. chacoense</i> Hunziker,	Argentina, Bolivia y Paraguay	Hunziker, 1950
<i>C. chinense</i> Jacquin,	América del sur y Latina	Jacquin, 1776
<i>C. coccineum (Rusby)</i> Hunziker,	Bolivia y Perú	Hunziker, 1954
<i>C. cornutum</i> Hunziker,	Sur de Brasil	(Hiern) Hunziker, 1961
<i>C. dimorphum</i> (Miers) Kuntze	Colombia	(Miers) Kuntze, 1891
<i>C. dusenii</i> Bitter	Brasil	Bitter, 1920
<i>C. eximium</i> Hunziker,	Argentina y Bolivia	Hunziker, 1950
<i>C. frutescens</i> Linnaeus	Sur de EUA y Península de Yucatán (México).	Linnaeus, 1753
<i>C. galapagoense</i> Hunz	Ecuador	Hunziker, 1958
<i>C. geminifolium (Dammer) Hunz</i>	Colombia y Ecuador	(Dam) Hunziker , 1954
<i>C. hookerianum (Miers) Kuntze</i>	Ecuador	(Miers) Kuntze, 1891
<i>C. lanceolatum (Greenm) Morton & Standley</i>	México, Guatemala	Morton & Standley, 1940

<i>C. lectopodum</i> (Dunal) Kuntze	Brasil, Chile, Costa Rica, Alemania, Italia	Kuntze, 1891
<i>C. mirabile</i> Mart ex Sendt (sinónimo <i>C. buforum</i> Hunziker)	Sur de Brasil	Mart, 1846
<i>C. parvifolium</i> Sendtn	Colombia, Noreste de Brasil y Venezuela	Sendtn, 1846.
<i>C. praetermissum</i> Heiser & Smith	Sur de Brasil	Heiser & Smith 1958
<i>C. pubescens</i> Ruíz & Pavon	América del sur (Colombia, Perú, Ecuador, Bolivia, México)	Ruíz & Pavón, 1779
<i>C. schottianum</i> Sendt	Argentina y sur de Brasil	Sendt, 1846
<i>C. scolnikianum</i> Hunziker	Perú	Hunziker, 1961
<i>C. tovarii</i> Eshbaugh, Smith & Nickrent	Perú	Eshbaugh, Smith & Nickrent, 1983

Fuente: Pickersgill, 1983; Eshbaugh, 1993; Bosland y Votava, 2012.

CAPITULO 4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Identificar la diversidad genética de poblaciones de *Capsicum* spp con diferente origen geográfico y determinar la relación filogenética entre ellas.

4.1.1 Objetivos Específicos

- a) Caracterizar morfológicamente las poblaciones de *Capsicum* spp colectadas en los estados de Tabasco y Norte de Chiapas, México.

- b) Determinar mediante análisis de huellas genéticas Microsatélites (SSRs), la relación filogenética de variantes de *Capsicum* spp de Tabasco y Norte de Chiapas, México.

4.2. HIPOTESIS

1. Existe relación filogenética morfológica del germoplasma *Capsicum* spp colectado en los estados de Tabasco y Norte de Chiapas.

2. La técnica molecular de Microsatélites (SSRs) es efectiva para establecer las relaciones filogenéticas de las poblaciones analizadas.

REFERENCIAS

- Aguilar-Meléndez, A., Morrell, P. L., Roose, M. L., & Kim, S. C. (2009). Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae), from México. *American Journal of Botany*, 96(6), 1190-1202.
- Aguirre-Mancilla, C.L., Iturriaga de la Fuente, G., Ramírez-Pimentel, J.G., Covarrubias-Prieto, J., Chablé-Moreno, F., Raya, P. J.C. (2017). EL CHILE (*C. annuum L.*), Cultivo y Producción de Semilla. *Ciencia y Tecnol. Agrop.* 5 (1): 19-27.
- Andrews, J. (1995). *Peppers: the domesticated Capsicums*; New Edition Foreword by. Hardy Eshbaugh. University of Texas Press. 186. Pp.
- Bitter, G. (1920). *Capsicum Lycianthes* Abh. Naturwiss. Vereins Bremen. 24: 1-520.
- Blum, E., Liu, K., Mazourek, M., Yoo, EY, Jahn, M. y Paran, I. (2002). Mapeo molecular del locus C para presencia de pungencia en *Capsicum*. *Genoma*, 45 (4), 702-705.
- Bosland, P.W., Votava, E.J. (2012). *Pimientos: vegetales y especias pimientos* (Vol. 22). Cabi.
- Brack, E. (2003). Perú: 10 mil años de domesticación. Lima- Perú: Bruño. 160 pp.
- Bran, R. A. A., Castillo, B. Z., Madrigal, R. Q., Esquinca, Á. R., & Díaz, P. P. (2012). Caracterización morfológica y molecular de la variabilidad genética del timpinchile (*Capsicum annum L. var. glabriusculum sin. aviculare*) en Chiapas. *Quehacer Científico en Chiapas.* 1 (13), 4-18.
- Bravo, H. (1934). Estudio botánico acerca de las Solanáceas Mexicanas del género *Capsicum*. Instituto de Biología. UNAM 5:303-321.

- Carrizo, G. C., M. Sterpetti, P. Volpi, M. Ummarino and F. Saccardo (2013) Wild *Capsicums*: identification and in situ analysis of Brazilian species. In: Breakthroughs in the Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant. Proceedings of the XV Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant, Torino, Italy. 2-4 September 2013. S. Lanteri and G. L. Rotino (eds.). I Love Books. Delmar, New York. pp: 205-213.
- Castellón-Martínez, 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 (Buenos Aires)*, 83(2), 225-236.
- Cedron, J. C. (2013). La capsaicina. *Revista de Química*, 27(1-2), 7-8.
- CONABIO. (1996). Biodiversitas. El chile. Año 2. Número 8. pp. 8-14
<https://www.gob.mx/conabio>. Fecha de consulta 20 de enero 2018.
- Contreras-Toledo, A. R., López-Sánchez, H., Santacruz-Varela, A., Valadez-Moctezuma, E., Aguilar-Rincón, V. H., Corona-Torres, T., & Antonio-López, P. (2011). Diversidad Genética en México de variedades nativas de chile poblano mediante microsatélites. *Revista fitotecnia mexicana*, 34 (4), 225-232.
- Eshbaugh, W. H. (1993). Peppers: History and exploitation of a serendipitous new crop discovery. Pp. 132-139 in J. Janick and J.E. Simon (eds). *New. Crops*. John Wiley & Sons, New York.
- Eshbaugh, W.H. (1983). The genus *Capsicum* (*Solanaceae*) in Africa. *Bothalia* 14: 845-848.
- Eshbaugh, W.H., Smith, P.G., & Nickrent, D.L. (1983). *Capsicum tovarii* (*Solanaceae*), a new species of pepper from Peru Brittonia, 35(1), 55-60.

- García, M. A. (2006). Estudio de la diversidad genética de las accesiones de *Capsicum spp.* Del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia (Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis. Sede Palmira, Col. UNC. 102p.
- Heiser, C.B., & Smith, P.G. (1958). New species of *Capsicum* from South America *Brittonia*, 10(4), 194-201.
- Hernández-Verdugo, S (2014). Importancia del chile silvestre (*Capsicum annum*) como recurso genético de México. Eds. Butanda-Ochoa, A. *Mensaje Bioquímico*, 41. 289-304.
- Hernández-Verdugo, S., Aranda-Dávila, P., & Oyama, K. (1999). Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. Review of taxonomy, origin and domestication of the genus *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 64, 65-84.
- Hunziker, A. T. (1950). Estudios sobre *Solanaceae* I Sinopsis de las especies silvestres de *Capsicum*: de Argentina y Paraguay *Darwiniana*. 225-247.
- Hunziker, A. T. (1958). A synopsis of the genus *Capsicum* International Congress of Botany, Rapports et communications par venus avant la congress 18th *Congress: 73-74*.
- Hunziker, A. T. (1961). Noticia sobre el cultivo de *Capsicum baccatum* L (Solanaceae) en Argentina *Kurtziana* 1: 303.
- Hunziker, A.T. (1954). Synopsis of the genus *Capsicum* VIII Congrès International de Botanique, Paris, 73-74.
- IBPGR. (1983). Genetic resources of *Capsicum*. IBPGR Secretaria, Roma, 13p.

- IPGRI-AVRDC-CATIE. (1995). Descriptores para *Capsicum* (*Capsicum* spp.). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia; Centro Asiático para el Desarrollo y la Investigación Relativos a los Vegetales, Taipei, Taiwán y Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 48p
- Jacquin, N. J. (1776). Hortus Botanicus Vindobonensis *Plantarum Rariorum* 3: 38.
- Jaramillo, J., y Lobo, M. (1982). Pimentón. In: Manual de Asistencia Técnica de Hortalizas. Ministerio de Agricultura e Instituto Agropecuario. 121-144 p.
- Kuntze, O. (1891). Revision generum plantarum. 2:375-1011.
- Latournerie, L., Chávez, J. L., Pérez, M., Castañón, G., Rodríguez, S. A., Arias, L. M., & Ramírez, 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(1), 25-33.
- Linnaeus, C. (1753). *Species Plantarum*. Laurentii Salvij, Holmiae, 560 pp.
- Loaiza-Figueroa, F., Ritland, K., Cancino, J. A. L., & Tanksley, S. D. (1989). Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. *Plant Systematics and Evolution*, 165(3). 159-188.
- MacNeish R.S. (1964). Ancient Mesoamerican civilization. *Science*. 143: 531-537.
- Martínez-Sánchez, D., Pérez-Grajales, M., Rodríguez-Pérez, J. E., Pérez, M., & del Carmen, Oaxaca, México. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 16 (3). 169-176.
- Martius, C.F.P. (1846). Osmundaceae, en C F P von Martius, A W Eichler & I Urban (eds), Flora Brasiliensis, enumeratio plantarum in Brasilia hactenus detectarum: quas suis aliorumque botanicorum studiis descriptas et

méthodo naturali digestas partim icone illustratas Munich & Leipzig: F *Fleischer*
10: 2-33

Morton, V.C., & Standley, P.C. (1940). Studies of central plants – In: Publications of Field Museum of Natural History *Botanicals series 22: (4)*, 272-273.

Muñoz, M. (2002). Estudio de cruzabilidad entre las especies cultivadas y silvestres de *Capsicum annum* L. *Capsicum chinense* Jacq. y *C. frutescens* L. y propuesta de un protocolo para la observación de cromosomas en especies del género *Capsicum*. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 120 p.

Nuez, V.F., Ortega, R.G., Costa, J. (1996). El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Mundi-Prensa, Madrid. Pp. 607

Pickersgill, B. (1980). Some aspects of interspecific hybridation in *Capsicum*. IV Eucarpia meeting, *Capsicum Working group 1980*, Wageningen, 1-5 p.

Pickersgill, B. (2007). La domesticación de las plantas en las Américas: perspectivas de la genética mendeliana y molecular. *Anales de Botánica*. 100 (5), 925-940.

Pozo, O., Montes, S., y Redondo, E. (1991). Chile (*Capsicum* spp.). In: avances en el estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. Ortega, R.; Palomino, G.; Castillo, F.; González, V. A. y Livera, M. (Eds.). Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C., Chapingo, México. 217-238.

Quipo-Muñoz, F. E., Ramírez-Muñoz, Á. M., Rojas-Pérez, J. A., & Ordoñez-Santos, L. E. (2013). Cambios en la Vitamina C y el Color durante la Cocción del Pimentón Verde (*Capsicum Annum* L). *Tecno Lógicas*, (31). 141-150.

- Raw, A. (2000). Foraging Behaviour of Wild Bees at Hot Pepper Flowers (*Capsicum annuum*) and its Possible Influence on Cross Pollination *Annals of Botany* 85: 487-492.
- Ruiz, H., & Pavón, J. (1799). *Flora Peruviana, et Chilensis, sive, Descriptiones et icones plantarum Peruvianarum, et Chilensium, secundum systema Linnaeanum digestae, cum characteribus plurium generum vulgatorum reformatis auctoribus Gabrielis de Sancha, Madrid.*
- Ruiz-Lau, N., Medina-Lara, F., & Martínez-Estévez, M. (2011). El chile habanero: su origen y usos. *Revista Ciencias*. 70-77
- Sendtner, O. (1846). Solanaceae et Cestrineae, In C.F.P. Von Martius, Ed *Flora Brasiliensis Vol 10 Typographia Regia C Wolf et fil Et in offic Lithograp S Missinger, Munich; apud Frid Beck, Vienna, apud Frid Fleischer In comm , Leipzig. Pages. 1-228.*
- Smith, P.C. y Heiser, C.B. (1951). Taxonomic and genetic studies on the cultivated peppers, *C. annuum L.* and *C. frutescens L.* *American Journal of Botany* 38:362-368.
- Stewart, J.R.C., Mazourek, M., Stellari, G.M., O'connell, M., y Jahn, M. (2007). Control genético de la pungencia en *C. chinense* a través del locus Pun1. *Diario de Botánica Experimental*, 58 (5), 979-991.
- Walsh, B. M., & Hoot, S. B. (2001). Phylogenetic relationships of *Capsicum* (*Solanaceae*) using DNA sequences from two noncoding regions: the chloroplast atpB-rbcL spacer region and nuclear waxy introns. *International Journal of Plant Sciences*, 162(6), 1409-1418.

Wang, D., y Bosland, P. W. (2006). The genes of *Capsicum*. *HortScience*, 41(5), 1169-1187.

Yáñez, P., Rivadeneira, L., Balseca, D., & Larenas, C. (2015). Características morfológicas y de concentración de capsaicina en cinco especies nativas del género *Capsicum* cultivadas en Ecuador. *La Granja* 22(2), 12-32.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

CAPÍTULO 6.1. Morphological diversity of wild and semi-wild chili populations of Tabasco and the north of Chiapas States, Mexico.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Morphological diversity of wild and semi-wild chili populations of Tabasco and the north of Chiapas States, Mexico

Diversidad morfológica de poblaciones silvestres y semi-silvestres de chile de los estados de Tabasco y norte de Chiapas, México

Gálvez Muñoz YA¹, E Martínez Moreno², S Ramírez Vera², L Latournerie Moreno³, JM Lesher Gordillo¹, G Castañón Nájera^{1*}

Abstract. The research was conducted with the aim to identify the variability *in situ* of wild and semi-wild morphotypes of *Capsicum* spp. that were found growing in different places of Tabasco and the north of Chiapas States. Morphotypes included "Amashito" (five types), "Pico de paloma" (two types), "Garbanzo", "Ojo de sapo", "Ojo de cangrejo", "Colmillo de lagarto" and "Corazón de pollo". Such characterization is important because there is an extensive variability of forms cultivated in the country, resulting from a wide range of agroecological diversity as well as diverse forms, colours, flavors and sizes that constitute a valuable collection of genes and a valuable contribution to gastronomy. We measured qualitative traits like leaf colour, leaf shape, calyx margin, stem colour, stem shape, plant growth habit, branching habit, flower position, fruit colour and fruit shape. Quantitative variables such as plant height, stem diameter, number of flowers per axil, fruit length, fruit width and number of seeds per fruit were also registered. From the first Principal Component Analysis (PCA), nine variables were selected as the most discriminant. A second PCA was performed with these selected variables and a cluster analysis (CA) was also performed. The three first principal components explained 58.27% of the total variation. The cluster analysis ordered the population of chilies in contrasting groups. These were grouped by species, locality of identification and the superiority of any (or some) traits that were common in every group.

Keywords: Morphological characterization; Collection; Wild chilies; Plant genetic resources; Diversity.

Resumen. La investigación se realizó con el objetivo de identificar la variabilidad *in situ* de morfotipos de *Capsicum* spp. que se encontraban en estado silvestre y semi-silvestre en diferentes lugares de Tabasco y el norte de los estados de Chiapas. Se colectaron morfotipos de "Amashito" (cinco tipos), "Pico paloma" (dos tipos), "Garbanzo", "Ojo de sapo", "Ojo de cangrejo", "Colmillo de lagarto" y "Corazón de pollo". La caracterización es importante porque existe una gran variabilidad de formas cultivadas en el país, producto de una amplia gama de diversidad agroecológica, así como de diversas formas, colores, sabores y tamaños que constituyen una valiosa colección de genes y una valiosa contribución a la gastronomía. Se midieron los caracteres cualitativos color de la hoja, forma de la hoja, margen del cáliz, color del tallo, forma del tallo, hábito de crecimiento de la planta, hábito de ramificación, posición de la flor, color del fruto y forma de fruto. Las variables cuantitativas medidas fueron altura de planta, diámetro de tallo, número de flores por axila, longitud del fruto, ancho de fruto y número de semillas por fruto. Del primer análisis de componentes principales (ACP), se seleccionaron las nueve variables que resultaron significativas, con las cuales se realizó un segundo ACP, y un análisis de conglomerados (AC). Los primeros tres componentes principales del segundo (ACP) explicaron 58.27% de la variación total. El análisis de conglomerados (AC) ordenó las poblaciones de chile en grupos contrastantes; primero, las colectas se agruparon por especie, luego por localidad y finalmente por algunos caracteres que fueron comunes en los grupos.

Palabras clave: Caracterización morfológica; Chiles silvestres; Recursos fitogenéticos; Diversidad.

¹División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Carretera Villahermosa-Cárdenas, entronque Bosques de Saloya, kilómetro 0.5, Villahermosa, Tabasco, C.P. 86040, México. tel. 993-3-54-43-08.

²División Académica de Ciencias Agropecuarias. Carretera Villahermosa-Teapa. Kilómetro 25, Villahermosa, Tabasco, C.P. 86120, México.

³Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Conkal. Kilómetro 16.3 Antigua Carretera Mérida-Motul, Conkal, Yucatán, México.

*Address correspondence to: Guillermo Castañón Nájera, e-mail: guillermo_corazon_valiente@hotmail.com; Yasmín Araceli Gálvez Muñoz, e-mail: yasminaraceli-gm@hotmail.com Received 28.III.2017. Accepted 19.VIII.2017.

INTRODUCTION

Mexico is considered the origin and domestication center of a number of cultivated plants, including species belonging to the genus *Capsicum*, commonly known as chilies (Ortega, 1991; Eshbaugh, 1993). They were later introduced in Spain, and thereafter distributed to the rest of the world (Aguilar et al., 2006). The Mexican population has considered the *Capsicum* spp. as an important food in their diet. There are more than 100 morphotypes of wild and cultivated chili, which are distributed in the Mexican territory. They are highly consumed and requested in the market of urban and rural communities (Castellón-Martínez et al., 2014). The five domesticated species are *Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum pubescens* Ruiz & Pavon and *Capsicum baccatum* L. (Morán et al., 2004; Milla, 2006). In terms of the area sown and the high demand worldwide of these five species, *C. annuum* is the most important crop. This species presents the largest variation regarding shape, size, color of the fruit, flavor and pungency for the elaboration of diverse typical dishes (e.i., the different types of chili) (Hernández-Verdugo et al., 1998; Martínez-Sánchez et al., 2010). Many studies of morphological characterization of these types of chili have been reported (Latournerie et al., 2002; Martínez-Sánchez et al., 2010; Salinas et al., 2010; Moreno-Pérez et al.,

2011; Nsabiya et al., 2013; Occhiuto et al., 2014; Ramírez-Meraz et al., 2015; Toledo-Aguilar et al., 2016). In accordance with Bosland (1996), González & Pita (2001) and Bosland & Votava (2012), *C. annuum* is the species with the largest morphologic, genetic and plant architecture variability. Because of this, Gunn (2004) established that the *annuum* species has been the basis to generate the highest number of improved varieties of chili, in comparison to other species of the same genus. As a result, *Capsicum* is very important in the southeast of Mexico, specifically in the states of Tabasco and the north of Chiapas. The objective of this work was to identify the genotype that establish morphological relationships among wild and semi-wild chili variants collected during exploration trips across different localities from both states.

MATERIALS AND METHODS

The study area was established in the states of Tabasco and north of Chiapas, located between 17° 15' 00" - 18° 38' 45" N and 90° 58' 08" - 94° 07' 00" W and (INEGI 2011). The continental surface area of Tabasco is 24738 km²; 95% of it has warm, humid climate while 4.5% has warm, sub-humid climate. There are heavy rains in summer, and the average annual temperature is 27 °C (Ruíz-Alvarez et al., 2012). Chiapas State has 73311 km² of continental surface area (Hernández

Table 1. Main features of surface hydrology, soil and land use in the municipalities of Tabasco state and northern Chiapas.

Tabla 1. Principales características de hidrología superficial, edáficas y uso de suelo en los municipios del estado de Tabasco y norte de Chiapas.

Subregión	Municipality	Average annual precipitation (mm)	Soil type of wetland with respect to Tabasco states and north of Chiapas	Characteristic of soil and use
Sierra (Vicente Guerrero)	Teapa	3711	Lacustrine 0.37% Marsh 5.82% Riparian 0.74% Agriculture 12.25%	Gleysol and histosol inland lagoons; use livestock mainly agricultural and forest to a lesser extent.
Sierra (Ejido Cerro Blanco)	Tacotalpa	4014	Lacustrine 0.37% Marsh 5.82% Riparian 0.74% Agriculture 12.25%	Gleysol and histosol inland lagoons; use livestock mainly agricultural and forest to a lesser extent.
Chontalpa (Miahuatlan)	Cárdenas	1225	Coastal 7.70% Lacustrine 0.40% Marsh 12.38%	Flooded and fertile soil types histosol and gleysol, solonchack e histosol influence marina; agricultural use, forest to a lesser degree.
Pantanos y Ríos (Ejido Corralillo)	Macuspana	3186	Lacustrine 3.36% Marsh 4.480% Riparian 1.66%	Soils suitable for agriculture as well as grassland
Llanuras aluviales del norte (Chiapas)	Reforma	2000 a 3000	Litosol 4.38% Regosol 0.23% Cambisol 14.51% Gleysol 15.13%	Cultivated grassland and temporary agriculture
Llanuras aluviales del norte (Chiapas)	Macayo	2000 a 3000	Cambisol 14.51% Gleysol 15.13%	Land of crops

Barba-Macías et al. 2006, INEGI 2011 and INAFED 2017

Table 2. Sites and codes of the morphotypes collected during exploration of the species *Capsicum* spp.

Tabla 2. Localidad y códigos de los morfotipos colectados durante la exploración de la especie *Capsicum* spp.

ENTRADA	TIPO	Descripción
VICENTE GUERRERO		
1	Amashito	VGAM
2	Amashito Redondo	VGAR
EJIDO CERRO BLANCO		
3	Amashito	ECBA
4	Pico de Paloma	ECBPP
5	Ojo de sapo	ECBOS
RANCHERÍA EL PORVENIR		
6	Corazón de Pollo	RPVCP
7	Pico de paloma	RPVPP
MIAHUATLÁN		
8	Amashito Morado	MIAM
9	Amashito Redondo	MIAR
10	Amashito Blanco	MIAB
11	Pico de Paloma	MIPP
12	Ojo de Cangrejo	MIOC
REFORMA		
13	Pico de Paloma	REPP
14	Amashito	REA
15	Amashito Bolita	REABO
MACAYO		
16	Amashito Alargado	MAAA
17	Pico de Paloma	MAPP
18	Amashito Grande	MAAG
19	Amashito	MAA
20	Garbanzo	MAG
PORVENIR		
21	Garbanzo Blanco	PVGB
22	Colmillo de Lagarto	PVCL
23	Corazón de Pollo	PVCP
24	Amashito	PVA
25	Pico de Paloma	PVPP
26	Pico de Paloma Delgado	PVPPD
CORRALILLO		
27	Pico de Paloma	CMPP
28	Pico de Paloma Blanco	CMPPB
29	Colmillo de Lagarto	CMCL

et al., 2009); 54% of its territory has warm, humid climate, 40% is warm, sub-humid; 3% is temperate humid, and 3% has temperate sub-humid climate. Some soil features of both study localities are shown in Table 1.

Ten fruits and ten flowers were measured per plant on a total of 134 plants, surveyed at the field. Measurements were made from November 2015 and February 2016 from the localities of Vicente Guerrero (VG), Ejido Cerro Blanco

Table 3. Qualitative and quantitative descriptors in *Capsicum* at Tabasco and the north of Chiapas States.

Tabla 3. Descriptores cualitativos y cuantitativos en *Capsicum*, en los estados de Tabasco y Norte de Chiapas.

	Characteristics	Code	Scale of measurement
Plant	Plant height	PH	1= <25, 2= 25-45, 3= 46-65, 4= 66-85 and >85 centimeters
	Leaf colour	LC	1=Yellow, 2=Light green, 3=Green, 4=Dark green, 5=Light purple, 6=Purple, 7=Variegated, 8=Other
	Stem diameter	SD	Centimeters
	Leaf shape	LS	1=Deltoid, 2=Ovate, 3=Lanceolate
	Stem shape	SS	1=Cylindrical, 2=Angled, 3=Flattened
	Stem colour	SC	1=Green, 2=Green with purple stripes, 3=Purple, 4=Other
	Plant growth habit	PGH	3= Postrate, 5=Intermediate, 7=Erect, 9=Other
Flower	Branching habit	BH	3=Sparse, 5=Intermediate, 7=Dense
	Flower position	FP	3=Pendant, 5=Intermediate, 7=Erect
Fruit	Number of flowers per axil	NFA	1=One, 2=Two, 3=Three or more, 4=Many flowers in bunches but each in individual axil (fasciculated growth), 5=Other
	Number of seeds per fruit	NSF	Average of at least 10 fruits selected from the plants of each type.
	Fruit colour at intermediate stage	FC	1=White, 2=Yellow, 3=Green 3= Orange, 4=Purple, 5= Deep purple, 7=Other
	Fruit shape	FS	1=Elongated, 2=Almost round, 3=Triangular, 4=Campanulate, 5=Blocky, 6=Other
	Fruit length	FL	Measured 10 fruits in centimeters
	Fruit width	FW	Measured 10 fruits in centimeters
	Calyx Margin	CM	1=Entire, 2=Intermediate, 3=Dentate, 4=Other

Descriptors and scales of measurement according to IPGRI (1995).

(ECB), Miahuatlán (MI), El Porvenir (PV), Ranchería El Porvenir (RPV) and Corralillo Macupana (CM) in Tabasco State. Sampling was also made on the localities of Reforma (RE) and Macayo (MA) in the north of Chiapas State (see Table 2). For each collection, 16 variables were measured using the Morphologic Descriptors Manual for *Capsicum* (IP-GRI, 1995) shown in Table 3.

Statistical analysis. With the obtained data a Principal Component Analysis (PCA) and UPGMA (Unweighted pair Group Method with Arithmetic Mean) cluster analysis were effected standardizing the information to $\mu=0$ and $\sigma^2=1$, in such a way that the measured variables contribute more proportionally to the similarity estimation (Lévy & Varela, 2003). All the analysis were realized with SAS (Statistical Analysis System V9.0 2004). From the results obtained of this analysis, nine variables were selected according to Pla (1986). Five of them were qualitative (leaf colour LC, leaf shape LS, calyx margin CM, stem shape SS, fruit shape FS) and four were quantitative (fruit length FL, number of seeds per fruit NSF, plant height PH, stem diameter SD). With those nine variables, another PCA was performed standardizing the information to $\mu=0$ and $\sigma^2=1$. The significance of eigenvalues and eigenvectors obtained with the second PCA were determined following the indications of Kaiser (1960).

RESULTS

The Principal Component Analysis (PCA) (Table 4) showed that the total variance explained by the first three principal components (PC1, PC2 and PC3) was 58.27%; in accordance with Kaiser (1960), the eigenvalues of these components resulted significant. The principal component 1 (PC1), explained 22.5% of the total variance, and showed that the eigenvectors of the fruit shape and fruit length variables, as well as number of seeds per fruit and stem diameter resulted positive, significant results (and with greater weight); while the stem shape resulted significant but, with a negative sign.

The PC2 with a eigenvalue of 1.8654 and 20.73% of the variance explained, was only present high values for the leaf colour, fruit shape, fruit length and stem shape traits; and for values with a negative, while for FS and SS the significance resulted with a positive sign. The PC3 showed an eigenvalue of 1.3539 and contributed with 15.04% to the explanation of the total morphological variation. This principal component presenting relevant values related to the variables: leaf shape (negative sign), calyx margin and plant height; both positive sign.

Figure 1 shows the collections distribution according to the first two principal components (PC1 and PC2). Note that in the quadrant I, the highest values of plant height, stem diam-

Table 4. Eigenvalues and Eigenvectors, and explained variance for each principal component (PC) in nine qualitative and quantitative traits of the three principal components found in 29 *Capsicum* spp collections performed in Tabasco and the north of Chiapas states.

Tabla 4. Autovalores y Autovectores, y varianza explicada por cada componente principal en nueve caracteres cualitativos y cuantitativos de 29 colectas de *Capsicum* spp. de los estados de Tabasco y Norte de Chiapas.

	PC1	PC2	PC3
Eigenvalues	2.0245 *	1.8654*	1.3539 *
Proportion of variance	0.2250	0.20732073	0.1504
Cumulative variance (%)	22.50	43.22	58.27
Traits	Eigenvectors		
Leaf Colour	0.1361	-0.5456*	0.0887
Leaf shape	-0.0582	0.1352	-0.4813*
Calyx margin	-0.1689	-0.1961	0.6016*
Fruit shape	0.3491*	0.3924*	-0.0623
Fruit length (cm)	0.3441*	-0.4525*	-0.1360
Number of seeds per fruit (number)	0.4732*	0.1662	-0.1247
Stem shape	-0.3340*	0.4030*	0.0753
Plant height (cm)	0.2194	0.2932	0.5755*
Stem diameter (cm)	0.5707*	0.1040	0.1541

* Significant values (Kaiser, 1960).

eter and number of seeds per fruit were grouped, along with fruit shape. In the quadrant II we distinctively grouped the variants “Pico de paloma” (PP), “Corazón de pollo” (CP), and two types of “Amashito Blanco” (AB) and “Amashito Redondo” (AR); the variables with the highest incidence in this group were: leaf shape, calyx margin and fruit shape. The majority of the Amashito types were placed in quadrant III, the variables involved to group them here were: fruit length, calyx margin, stems shape and leaf shape. These traits make easy to identify the “Amashito” types from any other of types of chili collected.

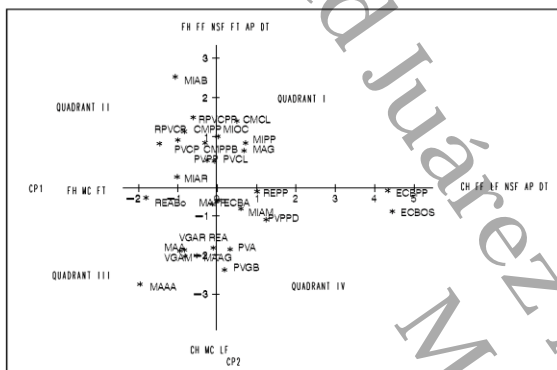


Fig. 1. Distribution of the 29 *Capsicum* spp. accessions in relation to the principal components 1 (CP1) and 2 (CP2) obtained from nine variables (qualitative and quantitative). The first initials indicate the place of collection followed by the initials of the accession. Quadrant I (Corralillo Macuspana Colmillo de Lagarto, Ranchería Porvenir, Corralillo, Pico paloma, Miahuatlan Ojo de cangrejo, Corralillo Macuspana, Pico paloma Blanco, Miahuatlan Pico Paloma, Macayo, Garbanzo and Porvenir Colmillo de lagarto. Quadrant II Miahuatlan Amashito Blanco, Ranchería porvenir Corazon de Pollo, Corralillo Macuspana Pico Paloma, Porvenir Corazon de pollo, Porvenir Pico Paloma and Miahuatlan Amashito Redondo. Quadrant III Reforma Amashito Bolita, Macayo Pico Paloma, Vicente Guerrero Amashito, Macayo Amashito Reforma Amashito, Macayo Amashito Grande and Macayo Amashito Alargado. Quadrant IV Reforma Pico Paloma, Ejido Cerro Blanco, Ejido Cerro Blanco Amashito, Ejido Cerro Blanco Ojo de Sapo, Porvenir Pico paloma Delgado, Porvenir Amashito and Porvenir Garbanzo Blanco).

Fig. 1. Distribución de 29 accesiones de *Capsicum* en relación de los componentes principales 1 (CP1) y 2 (CP2) obtenidos de nueve variables (cualitativas y cuantitativas). Aquí se explican las primeras iniciales que indican el lugar de recogida seguido de las iniciales de las accesiones. Cuadrante I (Corralillo Macuspana Colmillo de Lagarto, Ranchería Porvenir Corralillo, Pico paloma, Miahuatlan Ojo de cangrejo, Corralillo Macuspana, Pico paloma Blanco, Miahuatlan Pico Paloma, Macayo, Garbanzo y Porvenir Colmillo de lagarto. Cuadrante II Miahuatlan Amashito Blanco, Ranchería porvenir Corazon de Pollo, Corralillo Macuspana Pico Paloma, Porvenir Corazon de pollo, Porvenir Pico Paloma and Miahuatlan Amashito Redondo. Cuadrante III Reforma Amashito Bolita, Macayo Pico Paloma, Vicente Guerrero Amashito, Macayo Amashito Reforma Amashito, Macayo Amashito Grande y Macayo Amashito Alargado. Cuadrante IV Reforma Pico Paloma, Ejido Cerro Blanco, Ejido Cerro Blanco Amashito, Ejido Cerro Blanco Ojo de Sapo, Porvenir Pico paloma Delgado, Porvenir Amashito y Porvenir Garbanzo Blanco).

The collections that presented lower average frequency (data not showed) in terms of leaf colour, calyx margin and fruit length were grouped in quadrant IV; for these three variables the “Amashito” and “Garbanzo” can be observed. Whereas for plant height and number of seeds per fruit. “Ojo de sapo” (OS) and “Pico de paloma” (PP) can be observed (quadrant IV). Figure 2 shows the distribution of the collections according to the components 1 and 3 (PC1 and PC3). Note that there is certain similarity in the distribution of collections as observed in Figure 1. However, there was a change in the distribution and placement of some accessions. For instance, the accessions “Ojo de sapo” ECB-OS collected at Ejido Cerro Blanco changed from quadrant IV to quadrant I, the MI-OC (Miahuatlan Ojo de cangrejo), collection showed an opposite change than the ECB-OS (from quadrant I to quadrant IV), while the MI-AB (Miahuatlan Amashito Blanco) collection is placed in quadrant II in Figure 1, and in Figure 2 can be seen in quadrant III. Figure 3 (dendrogram) shows that the 29 populations found formed 10 well defined groups. Group 1 at a distance of 0.70, includes the collection Colmillo de lagarto (CL), Pico de paloma (*Capsicum frutescens*), Pico de paloma blanco (PPB) and Amashito (A). Studies have been carried out new forms and found, new variants this according to the reciprocity between farmers as well the intra o interspecific breeding. The first three accessions “Colmillo de lagarto”, (CL) “Pico de paloma” (PP) and “Pico de paloma blanco” (PPB), (*C. frutescens*) were found in the Corralillo locality and the “Amashito” was found in the Ejido Cerro Blanco (ECB). The G1 collections correspond to higher values than average in terms of leaf colour, calyx margin and stem diameter. The group 2 (G2) at a distance of 0.63, includes six collections: two of “Amashito grande” (AG) and amashito spotted (AM) and four of “Pico de paloma”; the variables that presented a higher value than the average in this group (G2) were: leaf colour, leaf shape, calyx margin, plant height and stem diameter. The collections “Amashito round” (AR), “Ojo de cangrejo” (OC) and “Amashito Bolita” (ABo) formed the Group 3 (G3). They joined at a distance of 0.68; the variables that exceeded the general average were: leaf colour (LC), leaf shape (LS), calyx margin (CM) and stem diameter (SD). In group 4 (G4) two accessions of “Corazon de pollo” (CP) and one of “Pico de paloma” (PP) joined at a distance of 0.59; six variables defined this group (G4): leaf colour (LC), leaf shape (LS), calyx margin (CM), number of seeds per fruit (NSF), plant height (PH) and stem diameter (SD). The group 5 was formed with the highest number of accessions (7), this group was characterized by clustering two types of variants: Amashito (A) and Garbanzo (G); the variables that differentiated this group from the rest were: leaf colour (LC), leaf shape (LS), calyx margin (CM) and stem diameter (SD). The groups from 6 to 10 (except for group 9 that was formed by two accessions were clustered in just one collection, and are characterized by the variables: plant height (PH), stem diameter (SD), stems shape (SS) and number of seeds per fruit (NSF).

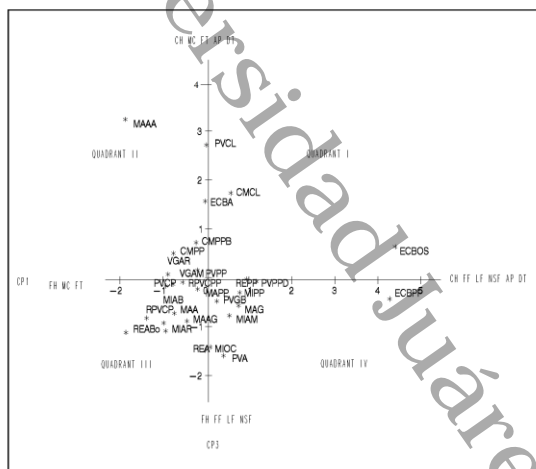


Fig. 2. Distribution from 29 *Capsicum* spp. accessions in relation to the principal components 1 (CP1) and 3 (CP3) obtained from nine variables (qualitative and quantitative). The fact that the genotypes are close to the zero or to the axes means that they share characteristics with that component. The scale has no measure. The first initials indicate the place of collection followed by the initials of the accession (Quadrant I Porvenir Colmillo of Lagarto, Corralillo Macuspana Colmillo of Lagarto, Ejido Cerro Blanco Amashito, Corralillo Macuspana Pico Paloma Blanco, Ejido Cerro Blanco Ojo de Sapo, Porvenir Pico Paloma and Reforma Pico Paloma. Quadrant II Macayo Amashito Alargado, Corralillo Macuspana Pico Paloma, Vicente Guerrero Amashito Redondo, Vicente Guerrero Amashito, Porvenir Corazón de Pollo. Quadrant III Miahuatlan Amashito, Bolita, Ranchería Porvenir Corazón de Pollo, Macayo Amashito, Reforma Amashito Bolita, Macayo Amashito, Miahuatlan Amashito Redondo and Reforma Amashito. Quadrant IV Reforma Pico Paloma, Porvenir Pico Paloma Delgado, Mcayo Pico Paloma, Miahuatlan Pico Paloma, Ejido Cerro Blanco Pico Paloma, Porvenir Garbanzo Blanco, Macayo Garbanzo, Miahuatlan Ojo of Cangrejo Porvenir Amashito)

Fig. 2. Distribución de 29 accesiones s colecta de *Capsicum* spp en relación en los componentes principales 1 (CP1) y 3 (CP3) obtenidos de nueve variables (cualitativas y cuantitativas). El hecho de que los genotipos se encuentran cerca del cero o de los ejes significa que con este componente comparte características en común. La escala no tiene medida. Las primeras iniciales indican el lugar de colección, seguido por las iniciales de la accesión (cuadrante I. Porvenir Colmillo of Lagarto, Corralillo Macuspana Colmillo of Lagarto, Ejido Cerro Blanco Amashito, Corralillo Macuspana Pico Paloma Blanco, Ejido Cerro Blanco Ojo de Sapo, Porvenir Pico Paloma and Reforma Pico Paloma. Cuadrante II Macayo Amashito Alargado, Corralillo Macuspana Pico Paloma, Vicente Guerrero Amashito Redondo, Vicente Guerrero Amashito, Porvenir Corazón de Pollo. Cuadrante III Miahuatlan Amashito, Bolita, Ranchería Porvenir Corazón of Pollo, Macayo Amashito, Reforma Amashito Bolita, Macayo Amashito, Miahuatlan Amashito Redondo and Reforma Amashito. Cuadrante IV Reforma Pico Paloma, Porvenir Pico Paloma Delgado, Mcayo Pico Paloma, Miahuatlan Pico Paloma, Ejido Cerro Blanco Pico Paloma, Porvenir Garbanzo Blanco, Macayo Garbanzo, Miahuatlan Ojo of Cangrejo and Porvenir Amashito).

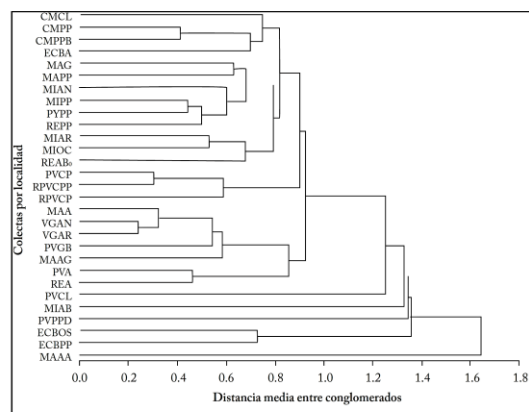


Fig. 3. Dendrogram of grouping of 29 *Capsicum* spp. accessions collections based on nine variables (qualitative and quantitative).
Fig. 3. Dendrograma de agrupamiento de 29 accesiones de *Capsicum* spp., en base a nueve variables (cualitativas y cuantitativas).

DISCUSSION

When the variables that contributed little or nothing to the first and second principal components stem colour (SC), growth habit plant (GHP), branching habit (BH), flower position (FP), fruit colour (FC), and fruit shape (FS) and number of flowers per axil (NFA). The Principal Component Analysis (PCA) explanation improved; However, it did not reach the 80% suggested by Pla (1986) as a preset limit for the PCA to better explain the variability of the germplasm evaluated. A possible explanation about why only 58.7% of the variation was explained by the first three principal components in our research can be that the morphotypes collected, some of them could be natural crossbreeds in the localities of collection the different plants could have grown close by or even, studies have been carried out new forms and found, new variants, this according to the reciprocity between farmers as well the intra or interspecific breeding Pérez-Castañeda et al. (2015). Too, in this regard, Onus & Pickersgill (2004) mention that there is a unilateral incompatibility among some *Capsicum* species, meaning that there is a one direction crossbreeding but not in the opposite direction, as it has been observed with the "Pico de paloma" (Azurdia, 2014). Working with Pico de paloma *Capsicum frutescens*, De la Cruz et al. (2017) reported that the first three principal components explained 37.43% of its variability. On the other hand, working with tippin Chile *Capsicum annum* Alonso et al. (2012) found explained 52.1% of the total morphological variation in the germplasm evaluated. Other examples are Moreno-Pérez et al. (2011) working with guajillo chili and found that 58.0% of the variation was explained by the first three principal components, Barbosa et al. (2010) worked with four chili fruit traits and found that

firsts two components explained 94.36% from total variation. While Pardey et al. (2006) studied *Capsicum* and found that the first four principal components explained 73.0% of the total variation; Martínez-Sánchez et al. (2010) studied chili the explained an 85% of the variation total; Toledo-Aguilar et al. (2016) in chili poblano with four components only explained 56 % of the total variation. However, the validity of our study is based on the proposals by Trejos (2007), who indicates that if the data is standardized, then all the principal components associated to eigenvalues equal or greater than 1.0, should be taken into consideration to explain the variation, and that was done in our research. Then, when using the principal components, the species studied have to be taken into consideration, to define the amount of principal components and better explain the variation of the measured traits in collections or the morphotypes evaluated. The collections distribution based on the principal component analysis agrees with the reporting by Latournerie et al. (2002), who found that the measured variable of *Capsicum* spp. that mostly contributed in each principal component was the leaf shape (LS), just as what was found in our research. As well, Barbosa et al. (2010); Villota et al. (2012) found that the fruit length (FL) in chili were the most important traits that explained the morphological variation of their collections evaluated, similar results was obtained in our research. The collections grouped in Figure 3 correspond to the type that these correspond as well as the variables that are similar among them. Similar results were reported by Hernández-Verdugo et al. (2006), Castañón-Nájera et al. (2008), Moreno-Pérez et al. (2011) and Hernández-Verdugo et al. (2012); who indicated that the wild species of their collections were grouped due to stem diameter (SD), plant height (PH), fruit weight (FW) and number of seeds per fruit (NSF) variables, similar to our research. Martínez-Sánchez et al. (2010) performed greenhouse chili collections and found that the main variables used to group them were: plant height (PH) and fruit length (FL), with higher averages of each variable than those in our work.

CONCLUSIONS

Of the 29 collections of chili collected in the study regions one of them is a new variant of Amashito, while the variants locality known as "Ojo de sapo" (OS) and Colmillo de lagarto (CL) were found for the first time in the region of Tabasco. In the north of Chiapas, only two variables of Amashito (normal the morphological characteristics of this type of variant are ripe fruits lightly oval red-orange colour and bolita is a ripe fruit of a red colour of a very round shape) were collected. The principal component analysis and cluster analysis showed that the grouping tendency of the collections was according to the type of species, and secondarily according to the collection site. Although we only considered nine morphological traits, the percentage of the total variation explained by the three

principal component selected to nine variables, five qualitative (leaf colour LC, leaf shape LS, calyx margin CM, stem shape SS, fruit shape FS) and four quantitative (fruit length FL, number of seeds per fruit NSF, plant height PH, stem diameter SD). One of the reasons of great importance for the conservation of wild and semi-wild plant genetic resources is because they have an agglomeration of genes.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Universidad Juárez Autónoma (UJAT) and CONACyT financing the project for the realization of the doctoral program of Yasmín Araceli Gálvez Muñoz.

REFERENCES

- Aguilar, R.V.H., T. Corona T. & S.H. Morán B. (2006). Chiles criollos (*Capsicum* spp., *Solanaceae*) de los estados de Puebla y Morelos. En: P. López L. y S. Montes H. (eds.), pp. 28-58. Avances de investigación de la red de hortalizas del SINAREFI. Libro Científico Núm. 1. Campo Experimental Bajío INIFAP. Celaya, Guanajuato, México.
- Alonso, B.R.A., B.C. Zambrano, R.M. Quiroga, M. de los A.E. Rosales & P.D. Ponce (2012). Caracterización morfológica y molecular de la variabilidad genética del timpinchile (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum* sin. *aviculare*) en Chiapas. *Quehacer Científico en Chiapas* 13: 4-18.
- Azurdia, C. (2014). Cultivos nativos de Guatemala y Bioseguridad del uso de organismos vivos modificados. Chile (*Capsicum* spp.). Documento técnico No. 7-2014. Publicación patrocinada gracias al apoyo de GEF-UNEP, 54 p. Fecha de consulta 12/8/2016.
- Barba-Macias, E., J. Rangel-Mendoza & R. Ramos-Reyes (2006). Clasificación de los humedales de Tabasco mediante sistemas de información geográfica. *Universidad y Ciencia* 22: 101-110.
- Barbosa, R.I., M. Mourão J. & F.J.F. Luz (2010). Morphometric patterns and preferential uses of *Capsicum* peppers in the State of Roraima, Brazilian, Amazonia. *Horticultura Brasileira* 28: 477-482.
- Bosland, P.W. (1996). *Capsicums*: Innovative uses of an Ancient Crop. In: J. Janick (ed.), pp. 479- 489. Progress in New crops. ASHS Press, Arlington, VA.
- Bosland, P.W. & E.J. Votava (2012). Peppers: vegetable and spice capsicums. 2nd ed. Cabi publishing. London UK. 243 p.
- Castañón-Nájera G., L. Latournerie-Moreno, M. Mendoza-Elos, A. Vargas-López & H. Cárdenas-Morales (2008). Colección y caracterización de Chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. *Phyton International Journal of Experimental Botany* 77: 189-202.
- Castellón-Martínez E., J.C. Carrillo-Rodríguez, J.L. Chávez-Servia & A.M. Vera-Guzmán. (2014). Variación fenotípica de morfotipos de Chile (*Capsicum annum* L.) nativo de Oaxaca, México. *Phyton International Journal of Experimental Botany* 83: 225-236.
- De la Cruz L., E., C. Márquez-Quiroz, R. Osorio-Osorio, P. Preciado-Rangel & C. Márquez-Hernández. (2017). Caracterización morfológica *in situ* de Chile silvestre Pico de paloma (*Capsicum frutescens*) en Tabasco, México. *Acta Universitaria* 27: 10-16.
- Eshbaugh, W.H. (1993). History and exploitation of a serendipitous new crop discovery. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), pp. 132-139. New crops. Wiley, New York.

- González, A.F. & J.M. Pita V (2001). Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 279 p.
- Gunn, S. (2004). Why genetic diversity matters? International Board for Plant Genetic Resources. Marchesi Grafiche Editoriali Spa. Roma, Italia. 22 p.
- Hernández-Verdugo, S., R.G.G. Guevara, R.F. B. Rivera, C.Y. Vázquez & K. Oyama. (1998). Los parientes silvestres del Chile (*Capsicum* spp.) como recursos genéticos. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 62: 171-181.
- Hernández-Verdugo, S., A. González R., P. Sánchez P., A. Casas & K. Oyama. (2006). Estructura y diferenciación genética de poblaciones silvestres y domesticadas de Chile del noreste de México analizadas con isoenzimas y RAPDs. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 25-29.
- Hernández, V. S.J.R., M. Bollo M., A.P. Méndez L. & E.J.M. Figueroa M. (2009). Formación y morfogénesis del relieve del extremo noroccidental del estado de Chiapas, México. *Investigaciones Geográficas, Boletín* 68: 25-40.
- Hernández-Verdugo, S., F. Porras, A.O. Pacheco, R.G.E. López, M.R. Villareal, S.T. Parra & E. Osuna (2012). Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de Chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del Noroeste de México. *Polibotánica* 33: 175-191.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) (2011). Disponible en <http://siget.tabasco.gob.mx/estadistica/anuarios/anuario2005/index.php>. Fecha de consulta: [10/07/2017].
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED) (2008). Disponible en <http://www.inafed.gob.mx>. Fecha de consulta: [11/07/2017].
- IPGRI-AVRDC-CATIE (1995). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Centro Asiático para el Desarrollo y la Investigación relativos a los Vegetales (AVRDC), Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Descriptores para (*Capsicum* spp), 110 p.
- Kaiser, H.F. (1960). The application of electronic computers to factor analysis. *Educational and Psychological Measurement* 20: 141-151.
- Latournerie, M.L., J.L. Chávez S., M. Pérez P., G. Castañón N., S.A. Rodríguez H, L.M. Arias R. & P. Ramírez V. (2002). Valoración *in situ* de la Diversidad Morfológica de chiles (*Capsicum annuum* L. and *Capsicum chinense* Jacq.) en Yaxcabá, Yucatán. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25: 25-33.
- Lévy, M. J. P. & M.M.J. Varela (2003). Análisis multivariable para las ciencias sociales. Pearson Educación, S. A., Madrid. 896 p.
- Martínez-Sánchez, D., M. Pérez-Grajales, J.E. Rodríguez-Pérez & E.C. Moreno-Pérez. (2010). Colecta y caracterización morfológica de 'chile de agua' (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16: 169-176.
- Milla, A. (2006). *Capsicum* de capsula, cápsula el pimiento. Pimientos, Compendios de Horticultura. <http://www.horticom.com/tematicas/>. Revisado 30-04-2016.
- Morán, B.S.H., M. Ribero, F.B.Y. García & P. Ramírez V. (2004). Patrones isoenzimáticos de chiles criollos (*Capsicum annuum* L.) de Yucatán, México. En: Chávez-Servia, J.L., J. Tuxill y D.I. Jarvis (eds.), pp. 83-89. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. Cali, Colombia.
- Moreno-Pérez, E.C., C. H. Avendaño-Arrazate, R. Mora-Aguilar, J. Cadena-Iníiguez, V. H. Aguilar-Rincón & J.F. Aguirre-Medina (2011). Diversidad morfológica en colectas de Chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) del centro-norte de México. *Revista Chapingo serie Horticultura* 17: 23-30.
- Nsabiya, V., M. Logose, M. Ochow-Ssemakula, P. Sseruwagi, P. Gibson & C. Ojiewo. (2013). Morphological characterization of local and exotic hot pepper (*Capsicum annuum*) collections in Uganda. *Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability* 7: 22-32.
- Occhiuto, P.N., I.E. Peralta, P.O. Asprelli & C.R. Galmarini (2014). Characterization of *Capsicum* germplasm collected in Northwestern Argentina based on morphological and quality traits. *Agriscientia* 31: 63-73.
- Onus, A. N., & B. Pickersgill (2004). Unilateral incompatibility in *Capsicum* (Solanaceae): Occurrence and taxonomic distribution. *Annals of Botany* 94: 289-295.
- Ortega, P.R. (1991). Chile (*Capsicum* spp.). En: Avances de los Recursos Fitogenéticos de México. Sociedad Mexicana de Fito-genética. México, D.F. pp. 217-237.
- Pardey, R. C., M. A. García D, F. A. Vallejo C. (2006). Caracterización morfológica de cien introducciones de *Capsicum* del Banco de Germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. *Acta Agronómica* 55: 1-10.
- Pla, E. (1986). Análisis Multivariado: Método de Componentes Principales. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Washington D.C., 94 p.
- Pérez-Castañeda, L. M; G.N. Castañón, M. M. Ramírez & N. P. Mayek. (2015). Avances y perspectivas sobre el estudio del origen y la diversidad genética de *Capsicum* spp. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 2: 117-128.
- Ramírez-Meraz, M., H. Villalón-Mendoza, V.H. Aguilar-Rincón, T. Corona-Torres & L. Latournerie-Moreno (2015). Caracterización morfológica de chiles silvestres y semidomesticados de la Región Huasteca de México. *Agroproductividad* 8: 11-16.
- Ruiz-Álvarez, O., R. Arteaga-Ramírez, M.A. Vázquez-Peña, R.E. Ontiveros-Capurata & R. López-López. (2012). Balance hídrico y clasificación climática del estado de Tabasco, México. *Universidad y Ciencia* 28: 1-14.
- Salinas, H.R.M., E.A. L. Liévano, F.M. Ulín, J.N. Mercado & J.D. Petit (2010). Caracterización morfológica y cambios durante la vida postcosecha de cuatro tipos de Chile amashito (*Capsicum annuum* L.) Variedad *glabriusculum*. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 11: 92-100.
- SAS Institute (2004). SAS User's Guide: Statistics. Version 9.4. Statistic Analysis System Institute. Cary, North Carolina, USA. 1032 p.
- Toledo-Aguilar, R., H. López-Sánchez, P. Antonio L, J.D. Guerrero-Rodríguez, A. Santacruz-Varela & A. Huerta-de la Peña (2016). Diversidad morfológica de poblaciones nativas de Chile poblano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7: 1005-1015
- Trejos, Z.J. (2007). Análisis multivariado de datos. <https://correo.emate.ucr.ac.cr/~jtrejos/Libros/NotasAD.pdf>. Libro en línea bajado el 17/04/2017.
- Villota, C.D., M.L.B. Bonilla, H.C. Carmen, J.V. Jaramillo & M.A.D. García (2012). Caracterización morfológica de introducciones de *Capsicum* spp. existentes en el Banco de Germoplasma activo de Corpoica C.I. Palmira, Colombia. *Acta Agronómica* 61: 16-26.

Diferencias morfológicas y moleculares de chiles

CAPITULO 6.2 Comparación morfológica y molecular de poblaciones de chile (*Capsicum* spp.) de Tabasco y Chiapas, México

Morphological and molecular comparison of pepper populations (*Capsicum* spp.)
From Tabasco and Chiapas, Mexico

Yasmín Araceli Gálvez-Muñoz¹, María Esther Cea-Migenes², Julia María Leshergordillo³, Luis Latournerie-Moreno⁴, Eusebio Martínez-Moreno⁵, José Luis Martínez-Sánchez⁶ Guillermo Castañón-Nájera⁷.

División Académica de Ciencias Biológicas-Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Kilómetro 0.5 Carretera Villahermosa-Cárdenas, Entronque Bosques de Saloya, Villahermosa, Tabasco, México^{1,3,6,7}, ²Universidad Agraria de la Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez" Carretera Tapaste y Autopista Nacional Km 23 1/2, San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba, ⁴Instituto Tecnológico de México, Antigua Carretera Mérida-Motul, Conkal Yucatán, México, ⁵División Académica de Ciencias Agropecuarias- Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. La Huasteca 2ª Sección. Kilómetro 25,0, Carretera Villahermosa-Teapa. Autor de Correspondencia: guillermo_corazon_valiente@hotmail.com.

Resumen

Con la aparición de las técnicas moleculares, en años recientes se está usando poco la caracterización morfológica de especies vegetales importantes para la humanidad. El objetivo del presente trabajo fue la caracterización morfológica y molecular de 21 poblaciones silvestres y criollas de *C. annuum* L. y *C. frutescens* L. de los estados de Tabasco y Chiapas. A las poblaciones se les midió *in situ* los caracteres: forma y diámetro del tallo (FT y DT), Altura de planta (AP), color y forma de la hoja (CH y FH), forma y longitud del Fruto (FF y LF) y número de semillas por fruto (NSF). Asimismo, se determinó la diversidad genética utilizando marcadores Microsatélites o Secuencias simples repetidas (SSRs). La extracción del ADN se realizó en tres

32 muestras de 0.5 g cada una de tejido de hojas frescas de 10 plantas. Al comparar los
33 clusters (morfológico y molecular), sólo las poblaciones ACB (Amashito Cerro
34 Blanco), PPBCR (Pico de Paloma Blanco Corralillo) y AMA (Amashito Macayo); AVG
35 (Amashito Vicente Guerrero) y AMI (Amashito Miahuatlán), presentaron similar
36 agrupamiento. Se determinaron 229 alelos, 66 de ellos fueron polimórficos. El
37 análisis molecular de varianza (AMOVA) explicó 13.0% de la variabilidad entre
38 poblaciones, y alelos dentro de individuos dentro de poblaciones el 87.0% restante.
39 Los valores de los estadísticos estimados fueron: $F_{ST} = 0.176$, $F_{IS} = -0.448$ y $F_{IT} = -$
40 0.193.

41 **Palabras clave:** Análisis Molecular, Diversidad genética, Marcadores moleculares,
42 Caracterización Morfológica, Poblaciones silvestres.

44 ABSTRAC

45 With the advent of molecular techniques, in recent years being used little
46 morphological characterization of plant species important for humanity. The objective
47 of this work was the morphological and molecular characterization of 21 wild and
48 native populations of *C. annuum* L. and *C. frutescens* L. in the States of Tabasco and
49 Chiapas. Populations was them measured in-situ characters: shape and diameter of
50 the stem (FT and DT), height of plant (AP), color and shape of the leaf (CH and FH),
51 form and length of the fruit (FF, and LF) and number of seeds per fruit (NSF). In
52 addition, genetic diversity was determined using markers microsatellite or simple
53 repeated sequences (SSRs). The DNA extraction was performed in three samples of
54 0.5 g of tissue of fresh leaves of 10 plants. To compare the clusters (morphological

55 and molecular), only the populations ACB (Amashito Cerro Blanco), PPBCR (Pico of
56 Paloma Blanco Corralillo) and AMA (Amashito Macayo); AVG (Amashito Vicente
57 Guerrero) and AMI (Amashito Miahuatlán), presented similar grouping. 229 alleles
58 were determined, 66 of them were polymorphic.

59 The molecular analysis of variance (AMOVA) explained 13.0% of the variability
60 between populations, and alleles within individuals within populations the remaining
61 87.0%. The values of the estimated statistics were: $F_{ST} = 0.176$, $F_{IS} = -0.448$ and
62 $F_{IT} = -0.193$.

63 **Key words:** Molecular analysis, genetic diversity, molecular markers, morphological
64 characterization, wild populations.

65

66

67 **INTRODUCCION**

68

69 Entre las hortalizas de mayor consumo a nivel mundial se encuentra *Capsicum*, está
70 clasificada dentro de las solanáceas (González *et al.*, 2011). A *Capsicum* se le
71 considera la hortaliza de mayor impacto económico y social. En México el chile tiene
72 importancia cultural, social y económica, ello, por ser un producto de exportación,
73 poseer amplia distribución y porque su consumo per cápita es de 8 a 9 kg, del cual
74 75% es en fresco (Castellón-Martínez *et al.*, 2012).

75 Según Latournerie *et al.* (2002); y Martínez-Sánchez *et al.* (2010), México es uno de
76 los centros de domesticación de diversas especies vegetales, y entre ellas está el
77 género *Capsicum*, de acuerdo con MacNeish (1964), fue de las primeras plantas
78 domesticadas en América, y la que se usa como especia, condimento, verdura,

79 ornamental, medicinal, en factores culturales y biológicos, por su alto valor
80 nutrimental en la dieta humana, en la industria cosmetológica y farmacéutica, como
81 artefacto de guerra y en rituales religiosos (Stavêlíková *et al.*, 2010; Sudré *et al.*,
82 2010; Tan *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2016; Massot y Barbieri, 2016b; Haralayya y
83 Asha, 2017).

84 Los métodos para analizar la diversidad genética han evolucionado de manera
85 gradual, anteriormente los estudios se basaban en caracteres morfológicos, y en
86 *Capsicum* esta metodología se ha usado para identificar poblaciones silvestres,
87 criollas o comerciales, pasando por las evaluaciones electroforéticas de variantes
88 bioquímicas y, más recientemente, mediante el análisis molecular en las secuencias
89 de ADN. La caracterización morfológica en los últimos años ha sido cuestionada por
90 el hecho de que algunos caracteres morfológicos son afectados por el ambiente, por
91 considerarla ineficiente, costosa y por requerir de más tiempo en su medición.
92 Asimismo la caracterización morfológica en ocasiones no es capaz de detectar
93 diferencias entre variedades con comportamiento agronómico diferente. Ejemplo de
94 ello, es lo reportado por Kwon *et al.* (2005), quienes al estudiar 40 descriptores
95 morfológicos en diferentes variedades de chile en Corea del Sur, que son
96 morfológicamente semejantes pero agronómicamente distintas en su
97 comportamiento, no presentaron desigualdades entre ellas desde el punto de vista
98 morfológico. Varias investigaciones son reportadas en las que se estudió la
99 divergencia genética entre marcadores morfológicos y moleculares en *Capsicum* spp.
100 Por ejemplo, Baba *et al.* (2015), caracterizó chile habanero con datos morfológicos
101 de fruto y moleculares con marcadores AFLP. Carvalho *et al.* (2017) estimaron la

102 variabilidad genética de colecciones de germoplasma Brasileño de *Capsicum*
103 *frutescens*, con caracteres morfológicos y marcadores moleculares SSRs. Thul *et al.*
104 (2012) realizaron un análisis de la diversidad genética de *Capsicum* spp. en
105 características florales y con marcadores RAPDs e ISSR. En base a lo anterior, los
106 objetivos de esta investigación fueron estimar la estructura y el polimorfismo
107 microsatelites o SSRs de 21 poblaciones silvestres y criollas de *C. annuum* L. y *C.*
108 *frutescens* L. colectadas en los estados de Tabasco y Chiapas.

109

110

111

MATERIALES Y MÉTODOS

112 **Material vegetal.**

113 Se evaluaron *in situ* 21 poblaciones de *C. annuum* L. y *C. frutescens* L., para la
114 cuantificación de las variables medidas en el material colectado (Cuadro 1), se usó el
115 manual de descriptores para *Capsicum* del IPGRI-AVRDC-CATIE (1995). El nombre
116 con el que los lugareños identifican a cada población, el sitio de colecta, especie a la
117 que pertenece cada una de ellas, y la escala en que se midió cada característica se
118 dan en el Cuadro 2.

119 **Extracción de ADN y amplificación de Microsatélites o SSRs.**

120 Se seleccionaron 10 plántulas por población a los 40 días de edad y de ellas se
121 escogieron 18 hojas jóvenes, de las que se tomó tres repeticiones de 0.5 g de tejido,
122 cada muestra se trituró con nitrógeno líquido con un pistilo en un mortero de
123 porcelana. Para la extracción del ADN se utilizó el kit comercial Wizard Genomic
124 DNA Purification® (Promega), y el método de Dellaporta *et al.* (1983).

125 Los marcadores microstélites o SSRs usados en esta investigación fueron
126 seleccionados de los probados por Contreras-Toledo *et al.* (2011). Los
127 oligonucleótidos se marcaron con las etiquetas fluorescentes 6-FAM y HEX (Applied
128 Biosystems, Foster City, California, USA) en el extremo 5' (Cuadro 3) para su
129 detección en un secuenciador de fragmentos por electroforesis capilar. Según
130 Cadima *et al.* (2013) entre las ventajas que presentan los marcadores microsatelites
131 o SSRs es que estos utilizan poca cantidad de ADN en la amplificación. Los
132 iniciadores fueron amplificados de forma individual. La amplificación en PCR múltiple
133 se realizó en mezclas de reacción con el kit que contenía 16.375 μL de H_2O libre de
134 Nucleasas, 0.5 μL primer's Delante, 0.5 μL primer's Reversa, PCR nucleótidos 0.5
135 μL , 5XGreen or Colorless (GoTaq Reaction Buffer) 5 μL , 0.125 μL Taq polimerasa y 2
136 μL de ADN. La amplificación se realizó con una desnaturalización inicial de 4 min a
137 94 °C, 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 65 °C, 2 min a 72 °C y una extensión final
138 de 12 min a 72 °C. La cantidad y calidad del ADN obtenido se evaluó en geles de
139 agarosa al 1.2 %, para ello se utilizó una solución amortiguadora de ácido bórico de
140 sodio 1X o solución SB como medio conductor para electroforesis de ADN (Brody y
141 Scott, 2004).

142 Los productos de PCR se corrieron en gel de agarosa al 1.2 % y 160 voltios con
143 intensidad de 50 miliamperes (mA) durante 100 min. Cada gel fue teñido con
144 Bromuro de etidio (Sambrook *et al.*, 1989). Los geles se visualizaron en un
145 transiluminador con luz UV. El peso molecular de los fragmentos de ADN obtenidos
146 se visualizó con la ayuda de un marcador de 100-1000 pares de bases ADN Ladder

147 (PROMEGA. La cuantificación de las bandas se realizó con la escala binaria de
148 presencia (1) y ausencia (0).

149 **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

150 **Caracterización morfológica.**

151 Se estimó las medias de las ocho variables evaluadas y se realizó un análisis cluster
152 con las 21 poblaciones de *Capsicum* spp., para ello se usó la matriz de distancias por
153 el Método de Agrupamiento de Pares no Ponderados con Medias Aritméticas
154 (UPGMA), la altura de corte para formar los clusters o grupos se determinó mediante
155 el criterio cúbico de agrupamiento (CCC), la pseudo estadística T cuadrada de
156 Hotelling (PST^2) y la pseudo F (Johnson, 2000). Los datos se estandarizaron con $\mu=0$
157 y $\sigma^2=1$. El análisis de medias y cluster se realizaron con el paquete estadístico SAS
158 versión 9.0 (2004).

160 **Caracterización molecular.**

161 Las distancias genéticas entre poblaciones se estimaron en base a una matriz de
162 presencia (1) y ausencia (0) de un alelo en un locus. La similitud genética se
163 determinó con el coeficiente de Dice (Nei y Li, 1979), y con ella se generó un
164 dendograma con el método UPGMA (Método de Agrupamiento de Pares no
165 Ponderados con Medias Aritméticas) y 5000 permutaciones mediante los programas
166 FreeTree y TreeView (Page, 1996). Con el propósito de determinar la estructura
167 genética de las poblaciones evaluadas, se realizó un Análisis Molecular de Varianza
168 (AMOVA), para ello se usó el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012).

169

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

171 **Caracterización morfológica.**

172 Los promedios de los ocho caracteres medidos en las poblaciones de *Caspicum*
173 spp., se muestran en el Cuadro 4. Obsérvese, que excepto para la variable forma del
174 Tallo (FT), en las otras siete características se encontraron diferencias entre el
175 germoplasma evaluado, por lo que las poblaciones de *C. annuum* y *C. frutescens*, se
176 pueden identificar sin dificultad. Lo encontrado en nuestra investigación presentan
177 cierta similitud a lo reportado por Pardey *et al.* (2006); y Massot *et al.* (2016a),
178 quienes concluyeron de los resultados obtenidos en sus estudios, que la variabilidad
179 del género *Capsicum* se da primero por las características de fruto, seguido por las
180 de la arquitectura de la planta.

181 Resultados similares a esta investigación, pero en poblaciones de *C. frutescens* para
182 diámetro de tallo (DT) y longitud de fruto (LF) con promedios de 1.51 cm y 1.50 cm,
183 los reportaron Carvalho *et al.* (2017); y Jarret *et al.* (2007). De su estudio, Carvalho *et*
184 *al.* (2017), concluyeron que ambas evaluaciones (morfológica y molecular),
185 proporcionaron una visión más amplia de la variabilidad existente en las poblaciones
186 probadas de *C. frutescens*.

187 El dendograma de las poblaciones con datos morfológicos se muestra en la Figura 1.

188 Los parámetros para formar los ocho clusters o grupos fueron a 0.96 de distancia, el
189 criterio cúbico de agrupamiento (CCC) de 3.19, la pseudoestadística T cuadrada de
190 Hotelling (PST²) (Johnson, 2000) fue 10.8 y la pseudo F (PSF) de 21.3. En el cluster
191 1, se agruparon las poblaciones ABMI y CPRPV por los caracteres FT, AP y FH. El
192 clusters 2 fue formado por las poblaciones criollas Colmillo de Lagarto (CLCR y

193 CLPV) que comparten promedios similares en las variables AP, DT, CH, FH y FF, y
194 Amashito Cerro Blanco (ACB) se unió a ellas por mostrar similitud en los promedios
195 de las tres últimas características. El cluster 3 se caracterizó por agrupar a las
196 poblaciones Pico de Paloma (PPBCR, PPPV, PPCR) y Corazón de Pollo (CPPV). El
197 mayor número de poblaciones (siete), se agruparon en el cluster 4 y las
198 características FT, DT, CH, FH, FF y NSF fueron las que determinaron la agrupación
199 de este cluster. Las poblaciones GPMA, ARE y OSCB formaron clusters separados
200 (cluster 5, 7 y 8), ello se debió posiblemente a que estas poblaciones mostraron
201 promedios diferentes entre ellas y con el resto del germoplasma evaluado en las
202 características FT, AP, CH, FF y LF. En el cluster 6 se encuentran agrupadas las
203 poblaciones APV y PPCB, y las variables que influyeron para que así se agruparán
204 estas poblaciones fueron FT, DT, CH y FH. Datta y Das (2013) evaluaron 23
205 caracteres en 53 colectas de *Capsicum*, de su estudio reportan alta variabilidad
206 morfológica, resultados que presentan cierta similitud con los obtenidos en nuestra
207 investigación, ya que en ambos trabajos se evaluaron los descriptores CH, FH y FF.
208 Pero diferente lo obtenido en nuestra investigación a la agrupación reportada por
209 Carvalho *et al.* (2014), quienes en su estudio encontraron que la caracterización
210 morfológica permitió la separación de las formas silvestres y las accesiones
211 domesticadas de *C. chinense*, *C. annuum* y *C. baccatum*.

212 Resultados similares a esta investigación, pero en poblaciones de *C. frutescens* para
213 diámetro de tallo (DT) y longitud de fruto (LF) con promedios de 1.51 cm y 1.50 cm,
214 los reportaron Carvalho *et al.* (2017); y Jarret *et al.* (2007). De su estudio, Carvalho *et*
215 *al.* (2017), concluyeron que ambas evaluaciones (morfológica y molecular),

216 proporcionaron una visión más amplia de la variabilidad existente en las poblaciones
217 probadas de *C. frutescens*.

218 **Caracterización genética.**

219 Los oligonucleótidos HpmsCaSIG19, Hpms1-106, Hpms1-143 y Hpms1-274, usados
220 en el presente estudio detectaron en promedio 2.7 alelos en cada población,
221 resultado similar a lo reportado por Minamiyama *et al.* (2006); Patel *et al.* (2011);
222 Dhaliwal *et al.* (2014); y Sharmin *et al.* (2018). Pero menor al promedio de alelos
223 encontrados por Nicolai *et al.* (2013), quienes con 28 primer's microsátelites
224 detectaron 6.64 alelos promedio para los cultivares de *C. frutescens* y .8 alelos para
225 las variedades de *C. annuum* evaluadas.

226 Los primer's Hpms1-106, Hpms1-143 y Hpms1-274 que se evaluaron en nuestra
227 investigación, también los usaron Kwon *et al.* (2005); Contreras-Toledo *et al.* (2011);
228 Toledo-Aguilar (2016); y Stavêlíková *et al.* (2010), el primer's Hpms1-274, los dos
229 primeros autores reportan un menor número de alelos, a comparación con los alelos
230 en la presente investigación. La discrepancia en la cantidad de alelos detectados en
231 las investigaciones indicadas no obstante que se usaron los mismos primer's,
232 pudiera deberse a que en esta investigación se caracterizaron poblaciones silvestres
233 y criollas, mientras que en las investigaciones de Kwon *et al.* (2005); Contreras-
234 Toledo *et al.* (2011); y Toledo-Aguilar (2016); se evaluaron variedades mejoradas y
235 un híbrido. Con respecto al polimorfismo observado, los cuatro primer's usados en
236 nuestra investigación detectaron resultados similares al reportado por Ulhoa *et al.*
237 (2014), aunque ellos evaluaron 63 iniciadores en líneas S4 de Chile Jalapeño amarillo
238 y sólo el 23.8% (15 iniciadores) fueron polimórficos. Del mismo modo, Dhaliwal *et al.*

239 (2014) de los 50 primer's evaluados en su trabajo, 27 de ellos fueron polimórficos.
240 Patel *et al.* (2011) indican que tres de los seis primer's SSRs que usaron en su
241 investigación identificaron polimorfismo. Huan-huan *et al.* (2011) reportan 60.48 % de
242 polimorfismo detectado por los primer's que se evaluaron en su investigación. Por lo
243 anterior, se puede establecer que el polimorfismo que se logre encontrar en
244 *Capsicum*, dependerá en gran medida de los iniciadores y de las poblaciones con las
245 que se esté trabajando. Lo anterior se sustenta al comparar nuestros resultados con
246 lo reportado por Hernández-Verdugo (2006), quien en su trabajo con poblaciones
247 silvestres de Chile encontró poco polimorfismo (25 bandas polimórficas de 126
248 bandas totales), lo anterior porque en nuestra investigación se encontró 66 bandas
249 polimórficas de 229 bandas observadas. Islam *et al.* (2016) con tres marcadores TE-
250 AFLP que probaron en 177 accesiones de Chile criollo encontraron 61% de bandas
251 polimórficas. El promedio de alelos por locus en las poblaciones evaluadas en
252 nuestro trabajo fue de 2.0, que es inferior al 4.03 alelos por locus reportado por
253 González-Pérez (2016).

254 Los resultados del AMOVA se muestran en el Cuadro 5, obsérvese que la varianza
255 entre poblaciones fue de 13.0%, la que comparada con el 19.75% reportada por
256 Pacheco-Olvera (2012) en poblaciones silvestres de Chile del Noroeste de México, es
257 un valor de varianza de poblaciones bajo. Mientras que Islam *et al.* (2016) en
258 poblaciones criollas de la India la diversidad encontrada fue de 48.14%.

259 El valor de F_{ST} encontrado en esta investigación fue de 0.176, el que se debe
260 considerar como grande e interpretarse como un alto grado de diferenciación entre
261 las poblaciones evaluadas en función de las frecuencias génicas de cada una de

262 ellas. Contreras-Toledo *et al.* (2011); Toledo-Aguilar (2016); y Hernández-Verdugo *et*
263 *al.* (2001); reportaron valores para F_{ST} de 0.108, y 0.079 y 0.036, los que se deben
264 interpretar como de moderada y baja magnitud de diferenciación de las poblaciones.

265 La discrepancia en la proporción de cada valor de F_{ST} , puede deberse a la naturaleza
266 de las poblaciones de ambos trabajos, en el nuestro fueron poblaciones de Chile
267 silvestre y criollo, en tanto que en el de los investigadores citados se usaron
268 cultivares mejorados. Pacheco-Olvera (2012) reportó un valor de F_{ST} de 0.297 para
269 poblaciones silvestres de Chile del Noreste de México, el cuál es un valor que se
270 debe considerar como muy grande. El valor de $F_{IS} = -0.448$, hace pensar que las
271 poblaciones evaluadas poseen alto número de heterocigotos dentro de cada una de
272 ellas, en tanto el valor del $F_{IT} = -0.193$, de que hay poca diferenciación (menor
273 endogamia) en las poblaciones evaluadas, similares resultados los reportó Toledo-
274 Aguilar (2016).

275 El dendograma (Figura 2) de las relaciones genéticas entre las poblaciones está
276 definido por cuatro clusters. El primer cluster se formó por 10 poblaciones entre ellas
277 sobresalen CPRPV (Corazón de Pollo Ranchería Provenir), OSCB (Ojo de Sapo
278 Cerro Blanco) y CPPV (Corazón de Pollo El Provenir). El segundo cluster se
279 conformó por nueve poblaciones del tipo Amashito (A) y Pico de Paloma (PP). Las
280 poblaciones Colmillo de Lagarto (CLCR Colmillo de Lagarto Corralillo y CLPV
281 Colmillo de Lagarto El Provenir), formaron clusters separados de las poblaciones
282 silvestres. González-Jara *et al.* (2011) en poblaciones de Chilpetín encontró que las
283 poblaciones silvestres se separaron de las criollas, similar a lo que ocurrió en nuestra
284 investigación. La poca similitud en el agrupamiento de las poblaciones con datos

285 morfológicos y moleculares es posible que se deba a que la edad de las plantas de
286 cada población era muy diferente, lo que influyó en las variables medidas,
287 principalmente en Altura de planta (AP), Forma del tallo (FT), Color de la hoja (CH) y
288 diámetro del tallo (DT). Lo anterior se sustenta en lo establecido por Kwon *et al.*
289 (2007); y Stavéliková *et al.* (2010), de que las características morfológicas al ser
290 evaluadas detectarán solo un grado de polimorfismo y pueden ser sensibles a las
291 condiciones ambientales. Por lo que las plantas de las poblaciones tienen
292 limitaciones de interacción con el entorno en el que crecen.

293

294 **CONCLUSIONES**

295 La caracterización morfológica y molecular de las 21 poblaciones evaluadas en la
296 presente investigación, mostraron cierta similitud en el agrupamiento de ellas. Esto
297 se debió posiblemente a que fueron sólo ocho variables morfológicas las medidas *in*
298 *situ*. Además de que las condiciones edáficas y climáticas, y edad de las plantas en
299 cada población pudo incidir para que las poblaciones evaluadas presentaran alto
300 nivel de diferenciación morfológica.

301 Los cuatro marcadores moleculares detectaron polimorfismo en los alelos de las
302 poblaciones. Un 13.0% de la variabilidad correspondió a poblaciones, y 87% a alelos
303 dentro de individuos dentro de poblaciones. Los estadísticos de Wright (F_{ST} , F_{IS} y F_{IT})
304 presentaron valores de 0.176, -0.448 y -0.193.

305 Las poblaciones de Chile evaluadas presentaron efecto moderado de apareamiento
306 no aleatorio de los individuos de cada población, esto es debido a que muchas de las
307 poblaciones que se colectaron, se encontraron creciendo relativamente cerca unas
308 de otras, lo que puede provocar cierto entrecruzamiento entre ellas.

309

310

REFERENCIAS

311 Brody JR, Kern SE (2004) Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium
312 for DNA electrophoresis. *Biotechniques* 36: 214-216.

313 Cadima X, Gabriel J, Veramendi S (2013) Uso de marcadores moleculares
314 microsatélite para el análisis de la diversidad genética de papa nativa de
315 Bolivia. *Journal of the Selva Andina Research Society* 4: 18-30.

316

317 Carvalho SIC, Bianchetti LB, Ragassi CF, Ribeiro CSC, Reifschneider FJB, Buso
318 GSC, Faleiro FG (2017) Genetic variability of a Brazilian *Capsicum frutescens*
319 germplasm collection using morphological characteristics and SSR
320 markers. *Genetics Molecular Research*. 16: 1-18.

321 Carvalho SIC, Ragassi CF, Bianchetti LB, Reifschneider, FJB, Buso GSC, Faleiro FG
322 (2014) Morphological and genetic relationships between wild and domesticated
323 forms of peppers (*Capsicum frutescens* L. and *C. chinense* Jacquin). *Genetics*
324 *Molecular Research* 13: 7447-7464.

325 Castellón-Martínez E, Chávez-Servia JL, Carrillo-Rodríguez JC, Vera-Guzmán AM
326 (2012) Preferencias de consumo de chiles (*Capsicum annum* L.) nativos en los
327 valles centrales de Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35: 27-35.

328 Contreras-Toledo AR, López-Sánchez H, Santacruz-Varela A, Valadez-Moctezuma
329 E, Aguilar-Rincón VH, Corona-Torres T, Antonio-López P (2011) Diversidad
330 Genética en México de variedades nativas de chile'poblano'mediante
331 microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34: 225-232.

332 Datta S, Das L (2013) Characterization and genetic variability analysis in *Capsicum*
333 *annuum* L. germplasm. *SAARC Journal of Agriculture* 11: 91-103.

334 Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) Una minipreparación de ADN vegetal:
335 versión II. *Reportero de biología molecular de plantas* 1: 19-21.

336 Dhaliwal MS, Yadav A, Jindal SK (2014) Molecular characterization and diversity
337 analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. *African*
338 *Journal of Biotechnology* 13:3137-3143.

339 González I, Arias Y, Quiñones M, Miranda I, Rodríguez Y, Peteira B (2011)
340 Variabilidad molecular de genotipos de pimiento (*Capsicum annum* L.) del
341 programa de mejoramiento genético para la resistencia a Pvy. *Revista de*
342 *Protección Vegetal* 26: 69-73.

343 González-Jara P, Moreno-Letelier A, Fraile A, Piñero D, García-Arenal F
344 (2011) Impacto del manejo humano en la variación genética del pimiento
345 silvestre, *Capsicum annum* var. *glabriusculum*. *PLoS One* 6: 1-11.

346 González-Pérez S, Garcés-Claver A, Mallor C, Sáenz de Miera LE, Fayos O, Pomar
347 Merino F, Silvar C (2014) New insights into *Capsicum* spp relatedness and the
348 diversification process of *Capsicum annum* in Spain. *PloS one* 9: 1-23.

- 349 Haralayya B, Asha IS (2017) Molecular Marker Application in Capsicum spp: A
350 Supplement to Conventional Plant Breeding. International Journal of Current
351 Microbiology and Applied Sciences 6: 3840-3855.
- 352 Hernández-Verdugo S, González-Rodríguez A, Sánchez-Peña P, Casas A, Oyama K
353 (2006) Estructura y diferenciación genética de poblaciones silvestres y
354 domesticadas de Chile del Noroeste de México analizada con isoenzimas y
355 RAPDs. Revista Fitotecnia Mexicana 29: 25-29
- 356 Hernández-Verdugo S, Luna-Reyes R, Oyama K (2001) Genetic structure and
357 differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum*
358 (*Solanaceae*) from Mexico. Plant Systematics and evolution 226: 129-142.
- 359 Huan-huan H, Zhang-hua Z, Zheng-hai Z, Sheng-li M, Li-hao W, Bao-xi Z (2011)
360 Analysis of SSRs information in *Capsicum* spp. from EST Database. Agricultural
361 Sciences in China 10: 1532-1536.
- 362 IPGRI-AVRDC-CATIE (1995) Descriptores para *Capsicum* (*Capsicum* spp.). Instituto
363 Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia; Centro Asiático para el
364 Desarrollo y la Investigación Relativos a los Vegetales, Taipei, Taiwán y Centro
365 Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica. 48p.
- 366 Islam MA, Sinha P, Sharma SS, Negi, MS, Neog B, Tripathi SB (2016) Analysis of
367 genetic diversity and population structure in Capsicum landraces from North
368 Eastern India using TE-AFLP markers. Plant molecular biology reporter 34: 869-
369 875.
- 370 Jarret RL, Baldwin E, Perkins B, Bushway R, Guthrie K (2007) Diversity of fruit quality
371 characteristics in *Capsicum frutescens*. HortScience 42: 16-19.
- 372 Johnson DE (2000) Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. 7ª edición.
373 International Thomson Editores. México. 566p
- 374 Kwon YS, Moo JY, Yi, SI, Bae KM, Soh EH, Cho IH, Kim BD (2007) Comparative
375 analysis of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties using morphological
376 characters, AFLP and SSR markers. Korean Journal of Genetics 29: 11-20
- 377 Kwon YS, Lee JM, Yi G B, Yi S I, Kim KM, Soh EH, Bae KM, Park EK, Song E K, Kim
378 BD (2005) Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness,
379 uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties.
380 Molecules and Cells 19: 428-435.
- 381 Latournerie L, Chávez JL, Pérez M, Castañón G, Rodríguez SA, Arias LM, Ramírez P
382 (2002) Valoración in situ de la diversidad morfológica de chiles (*Capsicum*
383 *annuum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.) en Yaxcabá, Yucatán. Revista
384 Fitotecnia Mexicana 25: 25-33.
- 385 MacNeish RS (1964) Ancient mesoamerican civilization. Science 143: 531-537.
386
- 387 Martínez-Sánchez D, Pérez-Grajales M, Rodríguez-Pérez JE, Moreno-Pérez E. del C
388 (2010) Colecta y caracterización morfológica de Chile de agua (*Capsicum*
389 *annuum* L.) en Oaxaca, México. Revista Chapingo. Serie horticultura. 16: 169-
390 176.

- 391 Massot PHK, Vasconcelos SC, Branco VJC, Valgas RA, Barbieri RL (2016a)
392 Agronomic evaluation and morphological characterization of chili peppers
393 (*Capsicum annuum*, Solanaceae) from Brazil. Australian Journal of Basic and
394 Applied Sciences 10: 63-70.
- 395 Massot PHK, Barbieri RL (2016b) Plant breeding of chili peppers (*Capsicum*,
396 Solanaceae) – A review. Australian Journal of Basic and Applied Sciences
397 10:148-154
- 398 Minamiyama Y, Tsuru M, Hirai M (2006) An SSR-based linkage map of *Capsicum*
399 *annuum*. Molecular Breeding 18: 157-169.
- 400 Nei M, Li WH (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of
401 restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of
402 Sciences 76: 5269-5273.
- 403 Nicolai M, Cantet M, Lefebvre V, Sage-Palloix AM, Palloix A (2013) Genotyping a
404 large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence
405 for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity
406 by human selection of cultivar types. Genetic resources and crop evolution.60:
407 2375-2390.
- 408 Pacheco-Olvera A, Hernández-Verdugo S, Rocha-Ramirez V, González-Rodríguez
409 A, Oyama K (2012) Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum*
410 *annuum* L.) from Northwestern Mexico analyzed by microsatellite markers. Crop
411 Science 52: 231-241.
- 412 Page RDM (1996) TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on
413 personal computers. Computer Applications in Biosciences 12: 357-358.
- 414 Pardey C, Garcia M, Cabrera FAV (2006) Caracterización morfológica de cien
415 introducciones de *Capsicum* del Banco de Germoplasma de la Universidad
416 Nacional de Colombia Sede Palmira. Acta Agronómica 55: 1-10.
- 417 Patel AS, Sasidharan N, Vala AG (2011) Research article genetic relation in
418 *Capsicum annuum* L. cultivars through microsatellite markers: SSR and
419 ISSR. Electronic Journal of Plant Breeding 2: 67-76.
- 420 Peakall R, Smouse PE (2012) GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population
421 genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics 28:
422 2537-2539.
- 423 Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T (1989). Molecular cloning: a laboratory manual.
424 2ed. Laboratory Press Cold Spring Harbor, New York. 1546 pp.
- 425 SAS Institute (2004). SAS User's Guide: Statistics. Version 9.4. Statistical Analysis
426 System Institute. Cary, North Carolina, USA. 1032 pp.
- 427 Sharmin A, Hoque ME, Haque MM, Khatun F (2018) Molecular Diversity Analysis of
428 Some Chilli (*Capsicum* spp.) Genotypes Using SSR Markers. American Journal
429 of Plant Sciences 9: 368-379.
- 430 stavělková hp, hanáček t, vyhnánek (2010) the morphological description and dna
431 tools analysis: for detection of duplicitions in the czech germplasm collection of

- 432 pepper (*capsicum annum l.*). Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae
433 Mendeliana Brunensis Sborník Mendelovy Univerzity v Brně LVIII: 191–198.
- 434 Sudré CP, Gonçalves LSA, Rodrigues R, Amaral-Júnior AD, Riva-Souza EM, Bento
435 CDS (2010) Genetic variability in domesticated *Capsicum* spp as assessed by
436 morphological and agronomic data in mixed statistical analysis. Genetics and
437 Molecular Research 9: 283-294
- 438 Tan S, Cheng JW, Zang L, Qin C, Nong, DG, Li WP, Tang X, Wu ZM, Hu KL (2015)
439 Construction of an Interspecific Genetic Map Based on InDel and SSR for
440 Mapping the QTLs Affecting the Initiation of Flower Primordia in Pepper
441 (*Capsicum* spp.). PLoS ONE 10: 1-15
- 442 Thul ST, Darokar MP, Shasany AK, Khanuja SP (2012) Molecular profiling for genetic
443 variability in *Capsicum* species based on ISSR and RAPD markers. Molecular
444 Biotechnology 51: 137-147.
- 445 Toledo-Aguilar R, López-Sánchez H, Santacruz-Varela A, Valadez-Moctezuma E,
446 Antonio-López P, Aguilar-Rincón VH, González-Hernández VA, Vaquera-Huerta
447 H (2016) Characterization of genetic diversity of native 'Ancho' chili populations of
448 Mexico using microsatellite markers. Chilean Journal of Agricultural
449 Research 76: 18-26.
- 450 Ulhoa, AB, Pereira TN, Silva RN, Ragassi CF, Rodrigues R, Pereira MG,
451 Reifschneider FJ (2014) Caracterização molecular de linhagens de pimenta do
452 tipo Jalapeño amarelo. Horticultura Brasileira 32: 35-40.
- 453 Zhang XM, Zhang ZH, Gu XZ, Mao SL, Li X X, Chadœuf J, Palloix A, Li-hao W, &
454 Zhang BX (2016) Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasm
455 resources in China reflects selection for cultivar types and spatial
456 distribution. Journal of Integrative Agricultura 15: 1991-2001.
457

458

459 **Cuadro 1.** Descriptores cualitativos y cuantitativos usados en la caracterización
 460 morfológica de las poblaciones de *Capsicum* spp. Colectadas en los estados de
 461 Tabasco y Chiapas, México.

Variable	Acrónimo	Escala de medición
Forma del tallo	FT	1=Cilíndrico, 2=Angular, 3=Aplanado
Altura de planta	AP	1= <25, 2= 25-45, 3= 46-65, 4= 66-85 y >85 medido en centímetros
Diámetro del tallo	DT	Medido en centímetros
Color de la hoja	CH	1=Amarillo, 2=Verde claro, 3=Verde, 4=Verde oscuro, 5=Ligeramente púrpura, 6=Púrpura, 7=Variegado, 8=Otro
Forma de la hoja	FH	1=Triangular, 2=Ovalada, 3=Lanceolada
Forma del Fruto	FF	1=Elongado, 2=Casi redondo, 3=Triangular, 4=Campanulado, 5=Bloque, 6=Otro
Longitud del Fruto	LF	Medido en centímetros
Número de semillas por fruto	NSF	Promedio de semillas de 10 frutos seleccionados en las plantas de cada población

462 Fuente: IPGRI-AVRDC-CATIE (1995).

463

464 **Cuadro 2.** Nombre común, origen de cada población, acrónimo y especie a que pertenece cada población de
 465 *Capsicum* spp. Colectadas en los estados de Tabasco y Chiapas, México.

466

Nombre local	Lugar de colecta	Acrónimo	Especie
Amashito	Vicente Guerrero, Teapa, Tabasco	AVG	<i>C.annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>
Amashito	Ejido Cerro Blanco, Tacotalpa, Tabasco	ACB	<i>C.annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>
Pico de Paloma	Ejido Cerro Blanco, Tacotalpa, Tabasco	PPCB	<i>C. frutescens</i>
Ojo de Sapo	Ejido Cerro Blanco, Tacotalpa, Tabasco	OSCB	<i>C. annum</i>
Amashito Redondo	Miahuatlán, Cárdenas, Tabasco	ARMI	<i>C.annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>
Amashito	Miahuatlán, Cárdenas, Tabasco	AMI	<i>C.annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>
Pico de Paloma	Miahuatlán, Cárdenas, Tabasco	PPMI	<i>C. frutescens</i>
Amashito Blanco	Miahuatlán, Cárdenas, Tabasco	ABMI	<i>C.annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>
Amashito	El Macayo, Reforma, Chiapas	AMA	<i>C.annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>
Garbanzo-Pico de Paloma	El Macayo, Reforma, Chiapas	GPMA	<i>C. annum</i> - <i>C. frutescens</i>
Amashito Gordo	El Macayo, Reforma, Chiapas	AGMA	<i>C.annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>
Pico de Paloma	El Macayo, Reforma, Chiapas	PPMA	<i>C. frutescens</i>
Amashito	Reforma, Chiapas	ARE	<i>C.annuum</i> var. <i>glabrisculum</i>
Pico de Paloma Blanco	Ejido Corralillo, Macuspana, Tabasco	PPBCR	<i>C. frutescens</i>
Pico de Paloma	Ejido Corralillo, Macuspana,	PPCR	<i>C. frutescens</i>

	Tabasco		
Colmillo de Lagarto	Ejido Corralillo, Macuspana, Tabasco	CLCR	<i>C. annuum</i>
Amashito	El Porvenir, Macuspana, Tabasco	APV	<i>C.annuum var. glabrisculum</i>
Corazón de Pollo	Ranchería El Porvenir, Macuspana, Tabasco	CPRPV	<i>C. annuum</i>
Colmillo de Lagarto	El Porvenir, Macuspana, Tabasco	CLPV	<i>C. annuum</i>
Corazón de Pollo	El Porvenir, Macuspana, Tabasco	CPPV	<i>C. annuum</i>
Pico de Paloma	El Porvenir, Macuspana, Tabasco	PPPV	<i>C. frutescens</i>

467 **Cuadro 3.** Descripción de los cuatro loci usados, motivo que se repite, iniciador y
 468 tamaño de cada primer usados para caracterización molecular de poblaciones de
 469 *Capsicum* spp. De los estados de Tabasco y Chiapas, México.

Locus	Unidad repetitiva	Iniciadores	Tamaño (Pb)
HpmsCaSIG19	(CT)6 (AT)8 (GTAT)5	D-HEXcatgaatttcgtcttgaagggtccc R-aagggtgtatcgtacgcagcctta	216-223
Hpms1-106	(AAAAAT) 4	D-HEXtccaaactacaagcctgcctaacc R-ttttgcattattgagtcccacagc	158-164
Hpms1-143	(AG)12	D- 6FAMaatgctgagctggcaaggaaa g R-tgaaggcagtaggtggggagtg	220-232
Hpms1-274	(GTT)7	D-HEX-tcccagaccctcgtgatag R-tcctgctcctccacaactg	162-180

470 D= Delante, R= Reversa

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481

482

483 **Cuadro 4.** Promedios de las características medias en las poblaciones de *Capsicum*
 484 spp. Colectadas en los estados de Tabasco y Chiapas, México.
 485

Acrónimo	Características medidas							
	FT	AP	DT	CH	FH	FF	LF	NSF
AVG	1	108.00	1.36	4	2	3	0.84	10.62
ARMI	1	87.00	1.80	2	3	3	0.78	8.04
AMI	1	89.33	2.03	3	2	3	0.77	8.20
PPMI	1	116.67	1.82	2	2	3	1.62	14.91
ABMI	1	135.0	1.60	1	3	3	1.69	13.0
ACB	1	56.7	1.53	3	2	3	2.84	9.07
PPCB	1	51.67	1.03	3	3	1	1.17	13.67
OSCB	1	160.00	2.67	3	2	2	2.07	27.53
AMA	1	107.50	2.60	3	2	2	0.46	10.30
GPMA	2	131.67	3.00	2	2	3	1.21	26.73
AGMA	2	107.50	2.38	4	3	2	0.92	9.85
PPMA	2	111.88	2.28	3	2	2	1.46	17.63
ARE	1	122.50	1.10	4	3	3	0.77	10.20
PPBCR	2	105.00	1.30	2	1	3	2.05	13.07
PPCR	2	102.86	1.27	2	2	3	2.02	15.46
CLCR	1	100.00	1.20	3	2	3	3.30	15.20
APV	1	45.00	1.10	4	3	2	0.63	24.60
CPRPV	1	128.67	1.97	3	3	5	1.04	27.73
CLPV	2	110.00	1.48	3	3	3	3.23	15.70
CPPV	2	74.17	0.72	3	2	5	1.05	29.67
PPPV	2	80.33	1.40	3	2	3	1.53	20.73

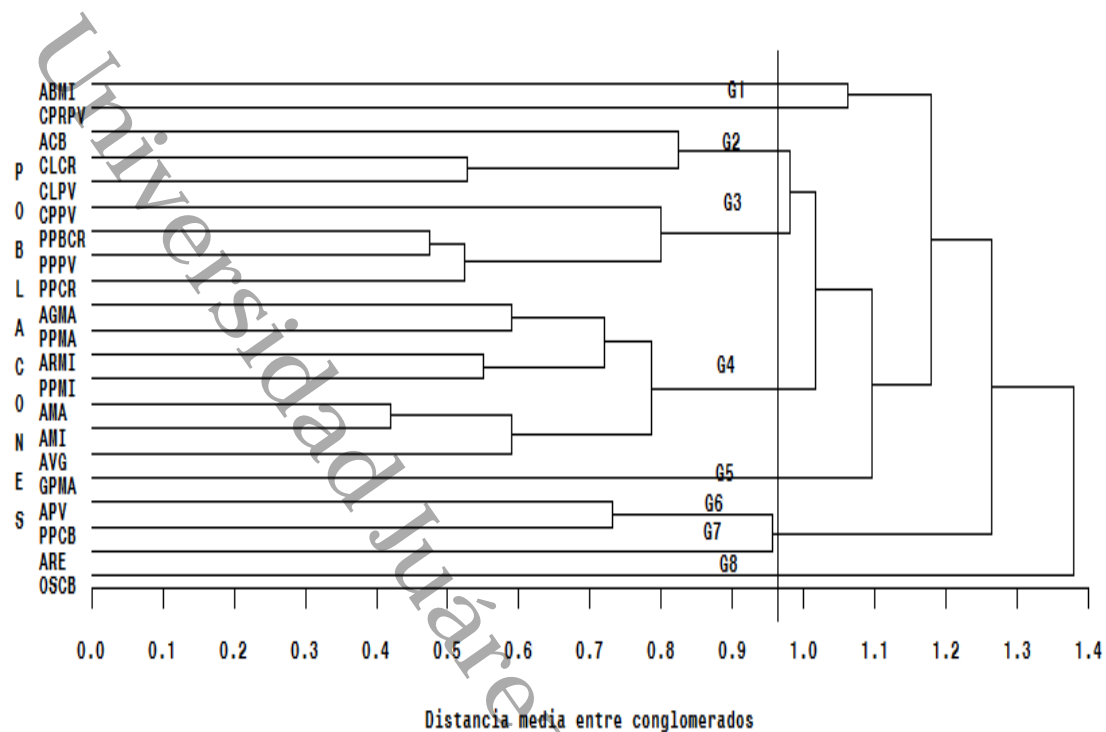
487 A= Amashito, AR= Amashito Redondo, PP= Pico de Paloma, AB= Amashito Bola,
 488 OS= Ojo de Sapo, GP= Garbanzo-Pico de paloma, AG= Amashito Gordo, PPB= Pico

489 de Paloma Blanco, CL= Colmillo de Lagarto, CP= Corazon de Pollo. VG= Vicente
490 Guerrero, MI= Miahuatlán, CB= Cerro Blanco, MA= Macayo, RE= Reforma, CR=
491 Corralillo, PV= El Porvenir, RPV= Rancheria El Porvenir.

492

493

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.



494

495 **Figura 1.** Dendrograma de 21 poblaciones silvestres y criollas de *Capsicum annum* L.
 496 y *Capsicum frutescens* L., de los estados de Tabasco y Chiapas, México.

497

498

499

500

501

502

503

504

505

506

507

508

509 **Cuadro 5.** Análisis Molecular de Varianza de las poblaciones de *C. annuum* y *C.*
 510 *frutescens* colectadas en los estados de Tabasco y Chiapas, y evaluadas con cuatro
 511 marcadores moleculares SSRs.

FV	GI	SC	CM	VarEst	%VarEst
Poblaciones	20	29.540	1.477	0.172	13%
Individuos/Poblaciones	42	18.667	0.444	0.000	0%
Alelos/Individuos/Poblaciones	63	73.500	1.167	1.167	87%
Total	125	121.706		1.339	100%

512 FV =Fuente de variación, GI= Grados de libertad, SC=Suma de cuadrados,
 513 CM=Cuadrados medios, VarEst= Varianza estimada, %Var.Est= Porcentaje de
 514 varianza estimada, $F_{ST}=0.176^*$, $F_{IS}=-0.448$ NS, $F_{IT}=-0.193$ NS.

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524

525

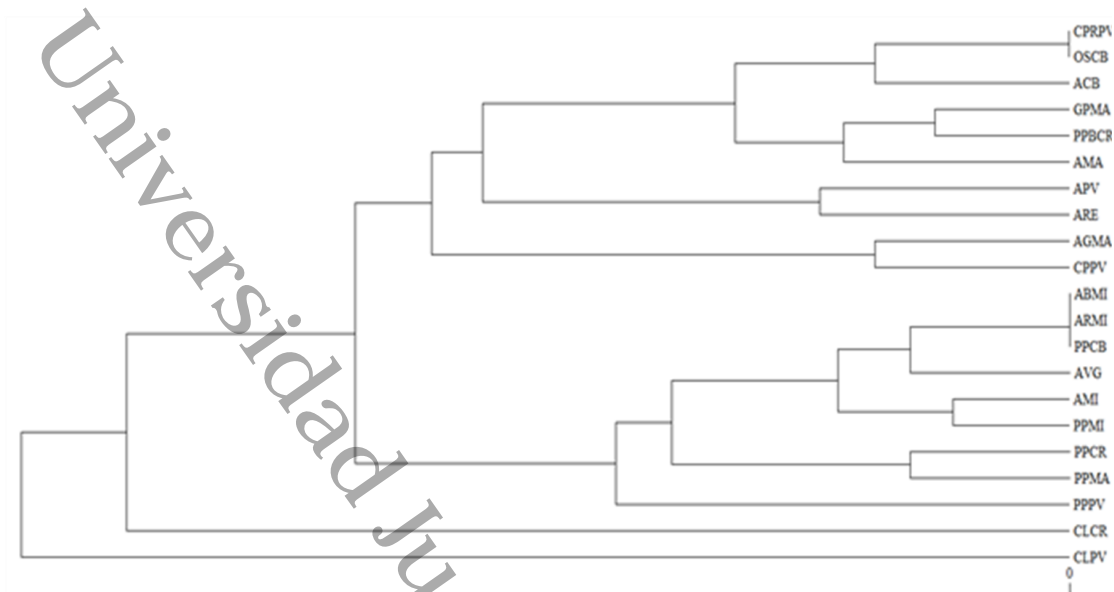
526

527

528

529

530



531

532 Figura 2. Dendrograma de la relación genética de 21 poblaciones silvestres y criollas
 533 de *Capsicum annuum* L. y *Capsicum frutescens* de los estados de Tabasco y Chiapas,
 534 México.