



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA**

Caracterización de colectas de chile de Árbol y Soledad con microsatélites y análisis de la heterosis de sus cruzas

DIANA GARFIAS SÁNCHEZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

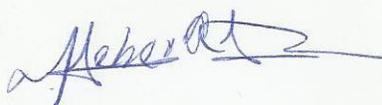
JULIO DE 2015

La presente tesis titulada: **Caracterización de colectas de chile de Árbol y Soledad con microsatélites y análisis de la heterosis de sus cruza**s, realizada por la alumna: **Diana Garfias Sánchez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENETICA

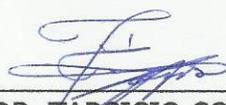
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



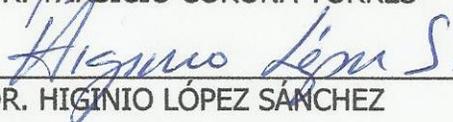
DR. VÍCTOR HEBER AGUILAR RINCÓN

ASESOR



DR. TARSICIO CORONA TORRES

ASESOR



DR. HIGINIO LÓPEZ SÁNCHEZ

ASESOR

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2015

Caracterización de colectas de Chile de *Árbol* y *Soledad* con microsatélites y análisis de la heterosis de sus cruzas

Diana Garfias Sánchez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2015

RESUMEN

Para el mejoramiento genético del Chile se requiere información sobre la diversidad y estructura de las poblaciones, así como la relación que guardan entre ellas, para aportar información que permita la conservación de este recurso y para identificar genotipos que puedan aprovecharse en un programa de mejoramiento genético. Por ello, el objetivo de la presente investigación fue analizar la variabilidad genética de poblaciones de Chile de *Árbol*, “*Cola de Rata*” y *Soledad* y explorar la expresión heterótica en caracteres agronómicos y bioquímicos en las cruzas de dichas poblaciones. En primer lugar se hizo el análisis de la diversidad genética de 24 poblaciones de Chile de *Árbol* y 16 poblaciones de Chile *Soledad*, de diferentes regiones, con 19 loci de microsatélites, se determinaron parámetros de diversidad genética, la estructura genética de las poblaciones, la relación entre las poblaciones mediante un ACP y un análisis de conglomerados y se determinó mediante un análisis discriminante las diferencias entre las poblaciones de Chile de *Árbol* y *Soledad* de las distintas regiones. Posteriormente se hicieron cruzas entre poblaciones de Chile de *Árbol*, *Cola de Rata* y *Soledad* y se obtuvieron 12 cruzas, las cuales fueron evaluadas en condiciones de campo abierto en dos experimentos mediante el diseño experimental de bloques completos al azar. Se evaluó la heterosis en rendimiento, caracteres de fruto y planta. En la última parte se cuantificó la concentración de carotenoides, flavonoides y capsaicinoides totales y la medición del color de frutos, tanto en las 12 cruzas intervarietales como en los seis progenitores de los tipos de Chile de *Árbol*, *Cola de Rata* y *Soledad*. Los resultados obtenidos del análisis con microsatélites mostraron que las poblaciones de Chile de *Árbol* y *Soledad* tienen un alto nivel de diversidad genética, debido a su distribución y adaptación a diferentes regiones, que la mayor variación está dentro de las poblaciones y que existen diferencias suficientes tanto entre las poblaciones de Chile de *Árbol* como en las de *Soledad*, tales que diferenciaron a las poblaciones por la región de origen. En cuanto al análisis de la heterosis las cruzas de la combinación *Cola de Rata* x *Soledad* y *Árbol* x *Soledad* presentaron un incremento en el rendimiento; algunas de sus cruzas mostraron un rendimiento alto tanto en fruto verde como en seco, debido al uso de dos tipos de Chile como progenitores, el tipo *Árbol* y el *Soledad*. En el análisis bioquímico las cruzas que presentaron valores significativos de heterosis en la acumulación de capsaicinoides fueron las de Chile de *Árbol* x *Soledad* y *Cola de Rata* x *Soledad*; en algunas de las cruzas de *Cola de Rata* x *Árbol* se identificaron cruzas que presentaron un incremento de capsaicinoides en fruto seco.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., diversidad genética, microsatélites, heterosis, fitoquímicos

Characterization of chile de Arbol and Soledad collections and analysis of heterosis of crossbreds

Diana Garfias Sánchez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2015

ABSTRACT

For Chili breeding information on diversity and structure of populations and their relationship to each other to provide information that allows the conservation of this resource and to identify genotypes that can be exploited in a program of genetic improvement is required. Therefore the aim of this research was to analyze the genetic variability of chile de Arbol, Cola de rata and Soledad populations and explore the heterotic expression in agronomic and biochemical characters in crosses of these populations. First analysis of the genetic diversity of 24 populations of chile de Arbol and 16 Soledad populations, from different regions, with 19 microsatellite loci was made, genetic diversity parameters were determined the genetic structure of populations, relationship between the PCA and populations by cluster analysis and discriminant analysis determined by the differences between chile de Arbol and Soledad populations from different regions. Later crosses between populations chile de Arbol, Cola de Rara and Soledad 12 crosses were obtained, were evaluated under field conditions in two experiments on the experimental design of randomized complete block, heterosis was evaluated in performance, characters fruit and plant. In the last part the concentration of carotenoids, flavonoids and total capsaicinoids and fruit color measurement in 12 intervarietal cross and six parents of the types of chile de Arbol, Soledad and Cola de rata were quantified. The results of microsatellite analysis showed that populations of chile de Arbol and Soledad had a high level of genetic diversity, this due to its distribution and adaptation to different regions, which is the highest variation within populations and that there are enough differences between the towns of chile de Arbol as in Soledad such that populations differed by region of origin. For analysis of heterosis in population inter cross crosses the combination of Cola de rata x Soledad and Árbol x Soledad showed an increase in performance, some of its crosses showed high performance in both green fruit and dry, this due the use of two types of chili as parents, the Arbol and Soledad type. Finally in the biochemical analysis crosses that had significant values of heterosis in the accumulation of capsaicinoids they were the chile de Arbol x Soledad and Cola de Rata x Soledad and finally some of the crosses Cola de Rata x Arbol and identified you cross that they presented an increase of capsaicinoids in dry fruit.

Key words: *Capsicum annum* L., genetic diversity, microsatellites, heterosis, phytochemicals

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados, en especial al programa de Genética.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por los recursos económicos que me permitieron realizar mis estudios de posgrado.

Al Dr. Víctor Heber Aguilar Rincón por su voto de confianza, apoyo y orientación para realizar la presente investigación, por su buen humor y buenos consejos.

Al Dr. Tarsicio Corona Torres por su apoyo y orientación para realizar la presente investigación, por su paciencia y amabilidad en todo momento.

Al Dr. Higinio López Sánchez por sus sugerencias, comentarios y apoyo en esta investigación.

Al Dr. Amalio Santacruz Varela por las facilidades otorgadas en el laboratorio y sugerencias para la realización de la investigación.

Al Dr. Marcos Soto Hernández y a su equipo M.C Rubén San Miguel Chávez y Sr. Domingo González Meraz por el apoyo, la disposición y paciencia para realizar esta investigación.

Al M.C. Iván Ramírez Ramírez y Dr. Nicacio Cruz Huerta por su apoyo y orientación en el desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Moisés Ramírez Meraz por su disposición, apoyo y participación en la fase de campo, sin la cual no habría sido posible concluir satisfactoriamente la presente investigación.

A la ing. Irma Sánchez Cabrera por su disposición para apoyarme en todo momento y por su grata compañía.

A Laura Carrillo y Cinthia K. Guzmán por todo lo que me enseñaron, su apoyo que en todo momento me brindaron y por su amistad.

A Mariana por su amistad incondicional y apoyo incondicional en todo momento, por sus aportaciones en la presente investigación, a Manuel por la amistad de tantos años y por hacer agradable mi estancia en este lugar.

A Yolis por su amistad, cariño, apoyo y por todos los buenos momentos que compartimos.

A Verito por su amistad, cariño, el buen equipo que hicimos para realizar nuestra investigación y por la buena compañía y apoyo en los largos días de trabajo.

A Mayrita por su confianza, amistad y disposición para ayudarme en todo momento.

A mi querido Muñe y familia por la bella amistad que nos une desde hace tantos años y por hacernos parte de su familia.

A la familia Ayala Torres por su cariño y apoyo en todo momento y porque seguimos unidos a pesar de la distancia.

A la familia Aguilar Marmolejo, por la bella amistad que hemos formado, el cariño a mi familia, por su apoyo incondicional y los buenos momentos.

A la familia Castillo Matus por su amistad, el apoyo y todos los momentos que hemos compartido.

DEDICATORIA

A mi amado esposo Alfredo, por su amor, comprensión y apoyo en todo momento, gracias por estos 10 increíbles años que llevamos juntos.

A mi hermoso y amado Elías Abdiel, mi pequeño hijo has llegado a tiempo a nuestras vidas.

A mi mamá Mercedes y mi hermano Armando por estas presentes en cada etapa de mi vida.

CONTENIDO

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
OBJETIVOS	3
Objetivo general	3
Objetivos particulares	4
HIPOTESIS	4
LITERATURA CITADA	4
CAPITULO II. ANALISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA CON MICROSATÉLITES EN POBLACIONES DE CHILE DE ÁRBOL Y CHILE SOLEDAD	7
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	8
MATERIALES Y MÉTODOS	10
Extracción de ADN y Amplificación por PCR múltiple	10
Análisis de fragmentos y análisis de datos	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
Diversidad genética	12
Estructura genética	15
Relación entre las poblaciones	16
CONCLUSIONES	20
LITERATURA CITADA	21
CAPITULO III. HETEROSIS EN CARACTERES AGRONOMICOS EN CRUZAS DE CHILE DE ÁRBOL, COLA DE RATA Y SOLEDAD	24
RESUMEN	24
INTRODUCCIÓN	25
MATERIALES Y MÉTODOS	27
Progenitores y Cruzas	27
Evaluación de materiales	28
Variables evaluadas	28
Análisis estadístico	29
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
CONCLUSIONES	38

LITERATURA CITADA	38
CAPITULO IV. CAROTENOIDES, FLAVONOIDES Y CAPSAICIONOIDES EN CRUZAS INTEREPOBLACIONALES DE CHILE	40
RESUMEN	40
INTRODUCCIÓN	41
MATERIALES Y MÉTODOS	43
Material vegetal	43
Medición del color de fruto	44
Determinación de capsaicinoides	45
Determinación de carotenoides totales	46
Determinación de flavonoides totales	46
Análisis estadístico	47
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
Color de fruto	47
Capsaicinoides	50
Carotenoides y flavonoides totales	53
CONCLUSIONES	55
LITERATURA CITADA	56
CAPITULO V. CONCLUSIONES GENERALES	59

LISTA DE CUADOS

CAPÍTULO II

Cuadro 1 Loci de microsatélites, etiqueta y temperatura, utilizados para el análisis de poblaciones de chile de Árbol y Soledad	11
Cuadro 2 Parámetros de diversidad genética	13
Cuadro 3 Estadísticos de F calculados a partir de 19 loci de microsatélites par siete tipos de chile (<i>Capsicum annumm</i> L.)	15
Cuadro 4 Valores propios, proporción de varianza explicada y acumulada por los primeros 10 componentes principales a partir de los 150 alelos detectados por 19 loci de microsatélites en 44 accesiones de chile (<i>Capsicum annumm</i> L.)	17

CAPÍTULO III

Cuadro. 1 Progenitores y cruza evaluados	28
Cuadro. 2 Análisis de varianza para catorce caracteres medidos en cruza y progenitores de Chile (<i>Capsicum annuum</i> L.)	30
Cuadro. 3 Comparación de medias en rendimiento, heterosis y heterobeltiosis	31
Cuadro. 4 Comparación de medias en características de fruto, heterosis y heterobeltiosis	34
Cuadro. 5 Comparación de medias en características de planta, heterosis y heterobeltiosis	37

CAPÍTULO IV

Cuadro. 1 Progenitores y cruce evaluados	44
Cuadro. 2 Color en tres estados de madurez en frutos de cruza intervarietales de Chile	49
Cuadro. 3 Cuadrados medios del análisis de varianza del contenido de capsaicinoides en cruza y progenitores	50
Cuadro. 4 Contenido de capsaicinoides (SHU) y heterosis	52
Cuadro. 5 Análisis de varianza de las variables flavonoides y carotenoides totales en cruza y progenitores de Chile (<i>Capsicum annuum</i> L.)	53
Cuadro. 6 Comparación de medias de la cuantificación de carotenoides y flavonoides totales	54

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1 Dispersión de 44 poblaciones de Chile con base en los dos primeros componentes principales, derivados de 150 alelos de 19 loci de SSR	18
Figura 2 Dendrograma obtenido por el método UPGMA con base en la distancia genética modificada de Rogers a partir de 150 alelos de SSRs de 44 accesiones de Chile (<i>Capsicum annuum</i> L.)	19
Figura 3 Distribución de las poblaciones de Chile de Árbol y Soledad por región	20

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Entre los cultivos más importantes de nuestro país se encuentra el chile (*Capsicum* spp.), una de las primeras especies domesticadas en América que fue utilizada como alimento, medicina y tributo entre las culturas precolombinas (Bosland, 1999; Sun *et al.*, 2014). El género *Capsicum* se compone por 32 especies (Barboza, 2011), de las cuales cinco son cultivadas, y de éstas, la de mayor importancia es *C. annuum* debido a la diversidad de tipos que la conforman (Pickersgill, 1971), además de la amplia dispersión que se ha realizado a diversas partes del mundo debido a su adaptabilidad, importancia económica, su valor nutricional y por ser utilizada como materia prima para la industria alimenticia, farmacéutica y cosmética (Kothari *et al.*, 2010; Aza *et al.*, 2011).

Nuestro país es considerado centro de domesticación de *C. annuum* puesto que presenta la mayor variabilidad genética en el mundo, con una amplia diversidad de formas cultivadas que se distribuyen ampliamente en el territorio (Pickersgill, 1971; SNICS-SINAREFI, 2010). La variabilidad de los diferentes tipos de chile de *C. annuum* es identificada por las características de sus frutos tales como la forma, color, aroma, sabor y nivel de pungencia. Dichas características son de importancia para productores, mejoradores y la industria (Bosland y Votaba 2000). Por otra parte, los frutos de *C. annuum* también exhiben una gran diversidad en su composición química, la cual se ha registrado en diferentes estudios que han demostrado sus importantes contenidos de fitoquímicos (Howard y Wildman, 2006). Una de las principales características del chile es el picor, el cual se debe a la presencia de capsaicinoides, compuestos de naturaleza alcaloide exclusivos del género *Capsicum*, que se sintetizan y acumulan en la placenta del fruto (Pruthi, 2003; Naresh *et al.*, 2012). Otra característica de los frutos de chile es la variedad de colores que presenta debido al contenido de pigmentos tales como clorofila,

carotenoides, y antocianinas (Guzmán *et al.*, 2011). Los frutos de chile contienen nutrientes, antioxidantes y compuestos fitoquímicos, cuya concentración está influenciada por el genotipo, condiciones ambientales, etapa de maduración y técnicas de cultivo (Giuffrida *et al.*, 2013; Iqbal *et al.*, 2013).

En México el chile es el octavo cultivo con mayor valor generado en la agricultura nacional, con un volumen de producción promedio de 2.2 millones de toneladas, del cual se exportan cerca de 900 mil toneladas de chiles frescos, secos y en distintas preparaciones (FND, 2014). Entre los tipos de chile más importantes se encuentran el Jalapeño, Ancho, Guajillo, Serrano, Pasilla y de Árbol (Laborde y Pozo, 1982) y su consumo puede ser en verde como en el caso de los Serranos, Jalapeños y Soledad o tanto en fresco como en seco como son los casos de los chiles de Árbol, Jalapeños y Ancho.

El chile de Árbol es originario de la región de los Altos de Jalisco y su cultivo se ha extendido a la costa de Nayarit y sur de Sinaloa; en estos dos últimos estados se le conoce como “Cola de Rata”. En menor escala se cultiva en Zacatecas y Aguascalientes (Laborde y Pozo, 1982; INIFAP, 2006). Por otro lado el chile Soledad fue cultivado inicialmente en el estado de Veracruz y se extendió a regiones como la del Papaloapan en Oaxaca (Aguilar *et al.*, 2010), la Sierra Norte de Puebla y la región de la Huasteca en Tamaulipas y San Luis Potosí. El chile de Árbol y Soledad comparten la característica de presentar frutos alargados y puntiagudos, pero difieren en cuanto al grosor del pericarpio y forma de consumo, dado que el primero presenta un pericarpio más delgado y se consume mayormente en seco, en tanto que en el segundo el pericarpio es más grueso y se consume exclusivamente en verde.

El principal objetivo en el mejoramiento genético del cultivo de chile es el incremento del rendimiento. Otros objetivos son el mejoramiento de características como: color, sabor, aroma, forma, tamaño, grosor de la pulpa y pungencia del fruto (Rodrigues *et al.*, 2012).

Las cruzas interraciales son una estrategia en el mejoramiento genético al aprovechar la variabilidad genética y ampliar la expresión fenotípica. En Chile no hay suficiente información sobre cruzas interraciales como en las que hay en el maíz, en el cual, con dicho tipo de cruzas se ha mejorado sustancialmente el rendimiento entre otros caracteres (Martínez *et al.*, 2005).

Por las características que comparten el Chile de Árbol y Soledad, es posible utilizar estos dos tipos de Chile a través de un programa de cruzas interpoblacionales para aprovechar la heterosis resultante en las distintas características de interés, sin que exista mucho problema en cuanto a conservar o recuperar la forma de fruto.

Por otro lado el Chile de Árbol y Cola de Rata, si bien son del mismo tipo de Chile, éstos se han cultivado en regiones muy distintas, por lo tanto existe la posibilidad de que haya suficiente divergencia genética entre ellos debido a las condiciones ambientales a las que se han adaptado, y ya que la divergencia genética en una población contribuye a la selección de progenitores adecuados para su utilización en programas de mejoramiento (Krishnamurthy *et al.*, 2013), es posible realizar mejoramiento genético utilizando estos tipos de Chile mediante sus cruzas.

OBJETIVOS

Objetivo general

Generar información sobre la variabilidad genética presente en poblaciones de Chile de Árbol, Cola de Rata y Soledad y explorar la heterosis que se pueda generar en distintos caracteres a través de sus cruzas.

Objetivos particulares

Analizar la variabilidad genética presente en poblaciones de Chile de Árbol, Cola de Rata y Soledad utilizando microsatélites.

Determinar la heterosis en distintos caracteres de fruto y planta, en las cruzas entre los tipos de Chile Árbol, Soledad y Cola de Rata.

HIPOTESIS

Existe diversidad genética en poblaciones de Chile de Árbol, Cola de Rata y Soledad, y divergencia genética entre las poblaciones de Chile de Árbol cultivadas en distintas regiones así como entre las de Chile Soledad cultivadas en distintas regiones.

En las cruzas de Chile de Árbol x Soledad, Cola de Rata x Soledad y Árbol x Cola de Rata existe heterosis en caracteres de planta y fruto.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Rincón, V.H., T. Corona Torres, P. López López, L. Latournerie Moreno, M. Ramírez Meraz, H. Villalón Mendoza y J. A. Aguilar Castillo. 2010. Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114 p.
- Aza-G.C., H. G. Núñez and N.Ochoa. 2011. Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Cell Reports* 30:695-706.
- Barboza G. E. 2011. Lectotypifications, synonymy, and a new name in *Capsicum* (Solanoideae, Solanaceae). *PhytoKeys* 2:23-38.
- Bosland W. P. 1999. Chiles: A Gift from a Fiery God. *Hort Science* 34:809-811.
- Bosland P. W. and E. Votava. 2000. Peppers: vegetable and spice capsicums. *Crop production science in horticulture*; 12. CAB International.

- FND. 2014. Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. Panorama del Chile. En línea:
<http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Panorama%20Chile%20%28abr%202014%29.pdf>
- Guzman I., P.W. Bosland and M. A. O'Connell. 2011. Heat, color, and flavor compounds in Capsicum fruit. In: The biological activity of phytochemicals. Vol. 41. D.R. Gang. (Ed.) Springer.
- Giuffrida D., P. Dugo, G. Torre, C. Bignardi, A. Cavazza, C. Corradini and D. Dugo. 2013. Characterization of 12 Capsicum varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. Food Chemistry 140:794-802.
- Howard R. L. and R. Wildman 2006. Antioxidant Vitamin and Phytochemical Content of Fresh and Processed Pepper Fruit (*Capsicum annuum*) In: Handbook of nutraceuticals and functional foods. CRC Press.
- INIFAP 2006. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. DEL-102-02 y otras líneas avanzadas de Chile de Árbol en el estado de Chihuahua. Folleto Científico No. 4.
- Iqbal Q., M. Amjad, A.M. Rafique and A. Ariño. 2013. Characterization of capsaicinoids and antioxidants in hot peppers as influenced by hybrid and harvesting stage. Plant Foods for Human Nutrition 68:358–363.
- Kothari S.L., A. Joshi, S. Kachhwaha and N. Ochoa. 2010. Chilli peppers-A review on tissue culture and transgenesis. Biotechnology Advances 28:35–48.
- Krishnamurthy S. L., A.M. Rao, K. M. Reddy, S. Ramesh, S. Hittalmani and M. G. Rao. 2013. Limits of parental divergence for the occurrence of heterosis through morphological and AFLP marker in chilli (*Capsicum annuum* L.). Current Science 104:738-746.
- Laborde C. J. A. y O. Pozo. 1982. Presente y pasado de Chile en México. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (SARH-INIA) 80 p.
- Martínez Z. G., E. I. Robledo, J.R.A. Dorantes, A de la Rosa., M. Ramírez y H. de León (2005). Potencial genético de cruces inter raciales en el mejoramiento de Chile. Segunda Convención Mundial del Chile.

- Naresh P., R.K. Madhavi, R. M. Krishna and K.V. Ravishankar. 2013. Variability in Capsaicinoids content and phylogenetic analysis of AT3, an Acyltransferase gene in Chili (*Capsicum annuum* L.). *Vegetable Science* 39: 16-20
- Pickersgill B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*). *Evolution* 25: 683-691.
- Pruthi J. S. 2003. Chemistry and quality control of Capsicums and Capsicum products. In: De A.K. (ed.) *Capsicum. The genus Capsicum*.
- Rodrigues R., L. Gonçalves, C. Bento, C. Sudré, R. Robaina and J. Amaral. 2012. Combining ability and heterosis for agronomic traits in chili pepper. *Horticultura Brasileira* 30: 226-233.
- SNICS-SINAREFI. 2010. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas y Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Resúmenes ejecutivos: ejercicio fiscal 2010.
- Sun Y. I., L. Choi, Y. B. Lee, K. Y. Choi, S. K. Hong and H. M. Kang. 2014. Molecular diversity and phylogenetic analysis of *Capsicum annuum* varieties using the nrDNA ITS region. *Scientia Horticulturae*. 165:336–343.

CAPITULO II. ANALISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA CON MICROSATÉLITES EN POBLACIONES DE CHILE DE ÁRBOL Y CHILE SOLEDAD

Diana Garfias-Sánchez¹, Víctor Heber Aguilar Rincón¹, Tarsicio Corona-Torres¹, Higinio López-Sánchez², Moisés Ramírez Meráz³

RESUMEN

En el presente estudio el objetivo fue analizar la diversidad genética de poblaciones de chile de Árbol y chile Soledad con marcadores microsatélites. Se analizaron con 19 loci de microsatélites, 24 poblaciones de chile de Árbol pertenecientes a la región de los Altos de Jalisco, norte de Nayarit y sur de Sinaloa, 16 poblaciones de chile Soledad de los estados de Puebla y Tamaulipas, además se incluyeron dos poblaciones de chile denominadas Cuauchilli de la región de los Altos de Jalisco y dos poblaciones de chile Piquín. Se determinaron los parámetros de diversidad genética y se encontró un total de 150 alelos, 7.89 alelos por locus, una heterocigosidad observada promedio de 0.33 y un porcentaje de loci polimórficos promedio de 73.69%, donde las colectas de chile de Árbol tuvieron los valores más altos. Se determinó la estructura genética de las poblaciones con los estadísticos de F de Wrigth y se observó que la mayor variabilidad se encuentra dentro de las poblaciones con un valor promedio de F_{st} 73.42%. Resultado del análisis de componentes principales y conglomerados se obtuvo la relación entre las poblaciones las cuales se distribuyeron en cuatro grupos definidos. Mediante el análisis discriminante fue posible determinar que hay diferencias entre las poblaciones de chile de Árbol y Soledad de las distintas regiones por lo que la variación genética dentro de las poblaciones y la diferenciación de las poblaciones de las diferentes regiones, pueden ser aprovechadas en un programa de mejoramiento genético.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., microsatélites, diversidad genética, estructura genética.

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Km 125.5 Carretera Federal México-Puebla, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula 72760, Puebla, México. ³INIFAP-Campo Experimental las Huastecas. Km. 55 Carretera Tampico-Mante, Villa Cuahtémoc 89610, Tamaulipas, México.

INTRODUCCIÓN

México es considerado centro de domesticación de *C. annuum*, y alberga la mayor riqueza genética de este recurso en el mundo (Pickersgill, 1971), por lo que nuestro país es considerado un sitio estratégico para la conservación y aprovechamiento de éste (SNICS-SINAREFI, 2010). Su distribución va desde el nivel del mar hasta los 2,500 metros de altura en las regiones templadas de la Mesa Central (Aguilar *et al.*, 2010) por lo que se puede encontrar distintos grupos raciales silvestres y domesticados, además de un gran número de chiles de importancia comercial o regional (SNICS-SINAREFI, 2010). A nivel nacional algunos tipos de chile son ampliamente conocidos como el Jalapeño, Ancho, Guajillo, Pasilla, Serrano, Manzano, Habanero, de Árbol y Piquín (Laborde y Pozo, 1982).

Sin embargo la diversidad mencionada de este recurso se ve amenazada por factores como plagas y enfermedades, la destrucción de áreas naturales, la sustitución de variedades criollas, el cambio de uso de suelo, entre otros (Aguilar, 2010; SNICS-SINAREFI, 2010), por lo que es necesario implementar estrategias más eficientes que permitan el manejo, la conservación y aprovechamiento del mismo (Franco *et al.*, 2003).

Las acciones para la conservación de germoplasma contemplan el mantenimiento, caracterización y evaluación de la diversidad genética dentro de una especie, donde la caracterización es un paso fundamental ya que determina la identidad genética de cada accesión en la colección de germoplasma y ayuda a discernir la relación genética entre genotipos (Laurentin, 2009). Para caracterizar las poblaciones que forman parte de una especie se han utilizado descriptores morfológicos (Franco *et al.*, 2003; Hernández, 2013) así como herramientas de biología molecular (Franco *et al.*, 2003).

En diferentes estudios del género *Capsicum* se ha reportado la aplicación de marcadores de ADN para estudios de la diversidad genética, tales como RAPDs (Rodríguez *et al.*, 1999; Votava *et al.*, 2005); AFLPs (Toquica *et al.*, 2003; Castañón-Nájera *et al.*, 2011) y microsatélites (Lee *et al.*, 2004; Contreras *et al.*, 2011; Pardey, 2011).

En el Colegio de Postgraduados se han colectado y caracterizado morfológicamente colectas de chile de Árbol y Soledad de las principales áreas de producción como son, para el primero, los municipios de Yahualica, Nangué y Cuquio pertenecientes a la región de los Altos de Jalisco y los municipios de Tecuala, Nay. y Escuinapa, Sin. En el caso del chile Soledad, las colectas fueron realizadas en los municipios de Tetela de Ocampo, Naupa y Tlaola ubicados en la región de la Sierra Norte de Puebla y en la Huasteca Tamaulipeca y Potosina, donde se le conoce como serranillo. Así mismo en la región de Jalisco también se ha recolectado, a nivel de traspatio, un tipo de chile con frutos más pequeños que el de árbol, denominados Cuauchilli (Aguilar *et al.*, 2010).

El chile de Árbol y Soledad presentan algunas similitudes en cuanto a la forma del fruto, ambos son alargados y puntiagudos y se diferencian en cuanto al grosor del pericarpio y posición del cáliz (Aguilar *et al.*, 2010). El cultivo de estos tipos de chile se ha extendido a distintas regiones, de manera que el chile de Árbol originario de la región de los Altos de Jalisco se introdujo a la región norte de Nayarit y sur de Sinaloa, donde se le conoce como “Cola de Rata”, y en menor escala, también se cultiva en Zacatecas y Aguascalientes (Laborde y Pozo, 1982; INIFAP, 2006). Mientras que el chile Soledad, fue cultivado inicialmente en el estado de Veracruz y se extendió a regiones como el Papaloapan en Oaxaca (Aguilar *et al.*, 2010), la Sierra Norte de Puebla y la región de la Huasteca en Tamaulipas y San Luis Potosí.

De acuerdo a lo antes mencionado es importante conocer, para su conservación y posibles usos en programas de mejoramiento, la diversidad genética presente en estos tipos de chile, así como las posibles diferencias que se hayan generado en las distintas regiones. De aquí que el propósito de la presente investigación fue analizar la variabilidad genética presente en poblaciones de chile de Árbol y Soledad, utilizando microsatélites.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 44 poblaciones de chile (*C. annuum* L.), de las cuales 17 fueron del tipo de chile de Árbol colectadas en Jalisco, 7 Cola de Rata colectadas en Nayarit y Sinaloa, 4 tipo Soledad de Puebla, 12 Soledad de Tamaulipas, 2 del tipo Cuachilli de traspatio de Jalisco y se incluyeron 2 colectas de chile Piquín.

De cada accesión se sembraron 20 semillas en charolas de poliestireno de 200 cavidades con sustrato peat moss y se mantuvieron en invernadero. Después de 30 días, cuando las plántulas tenían aproximadamente 5 cm de altura, se seleccionaron las 10 más vigorosas para la extracción de ADN.

Extracción de ADN y Amplificación por PCR múltiple

La extracción de ADN genómico en cada población se hizo en 10 plántulas de forma individual, utilizando el kit comercial ChargeSwitch[®] gDNA Plant Kit (Invitrogen) y fue estandarizado a una concentración de 10 ng/μl.

Se utilizaron 19 loci de microsatélites (Lee *et al.*, 2004; Contreras *et al.*, 2011) marcados con las etiquetas fluorescentes 6-FAM y HEX en el extremo 5' (Cuadro 1). Se determinaron las temperaturas de alineamiento de los loci de forma individual por medio de gradientes de temperatura, en un intervalo de 55 a 70°C; las condiciones de PCR fueron un ciclo de

desnaturalización inicial a 94 °C por 4 min; 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 1 min, alineamiento 1 min y extensión a 72° por 2 min; una extensión final de 12 min.

Con las temperaturas obtenidas se procedió a la formación de grupos con el programa MultiPLX (Kaplinski *et al.*, 2004) (Cuadro 1). Los componentes de la mezcla para PCR múltiple fueron: 0.2 mM de dNTPs (Invitrogen), 1X de buffer, 3mM de MgCl₂, 1U de TaqPol (Promega), 10 pmol de cada iniciador, 40 ng de ADN, todo en un volumen final de 25µl.

Cuadro 1 Loci de microsatélites, etiqueta y temperatura, utilizados para el análisis de poblaciones de Chile de Árbol y Soledad

Grupo	Locus	Etiqueta	Temperatura de alineamiento
1	Hpms1-1	6-FAM	65°C
	Hpms 1-6	HEX	
	Hpms1-214	6-FAM	
	Hpms1-274	HEX	
	HpmsAT2-14	6-FAM	
2	Hpms1-106	HEX	61°C
	AF244121	6-FAM	
	Hpms1-5	6-FAM	
3	Hpms1-168	HEX	56.2°C
	Hpms2-2	6-FAM	
4	Hpms1-143	6-FAM	55°C
	Hpms1-173	HEX	
	HpmsCaSIG19	HEX	
5	Hpms1-111	HEX	55°C
	Hpms2-24	6-FAM	
6	Hpms1-172	HEX	60°C
	CM0005	6-FAM	
7	Hpms2-13	HEX	58.8°C
	CAN010950	6-FAM	

Análisis de fragmentos y análisis de datos

El producto de PCR obtenido se analizó por electroforesis capilar en un secuenciador Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems). Los resultados obtenidos se analizaron con el programa GeneMapper[®] V. 4.0 (Applied Biosystems, 2005); como resultado de este análisis se obtuvieron las frecuencias alélicas poblacionales.

Con dichas frecuencias y con el programa POPGENE (Yeh *et al.*, 1999) se determinaron parámetros de diversidad genética: número de alelos por locus, proporción de loci polimórficos y heterocigosidad; así como la estructura genética de las poblaciones con los estadísticos de F de Wright.

Con las frecuencias alélicas también se hizo un análisis de componentes principales con el programa SAS V.9.4., con el fin de determinar aquellos marcadores que contribuyeron más a la explicación de la diversidad en las poblaciones de estudio; también se realizó un análisis de conglomerados utilizando la distancia genética de Rogers modificada por Wright y el método de agrupamiento UPGMA, con el programa NTSYSpc[®] V.2.10p, con la finalidad de determinar las relaciones de similitud en las poblaciones estudiadas. Además se hizo un análisis discriminante con el fin de determinar las diferencias entre las poblaciones de Chile de Árbol y Soledad de las distintas regiones de cada uno de los tipos donde se colectaron.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Diversidad genética

Con los 19 loci utilizados para caracterizar las 44 poblaciones de Chile se detectaron 150 alelos y un promedio de 7.89 alelos por locus (Cuadro 2), dichos valores son mayores a los reportados por Contreras *et al.* (2011) (105 alelos y 5.53 alelos por locus) en variedades nativas de Chile poblano, de la región del Valle de Puebla y a los reportados por Dhaliwal *et al.* (2014)

en accesiones de chile de la India (75 alelos y 2.87 alelos por locus), lo cual puede deberse a que los materiales del presente estudio provenían de cuatro regiones: Jalisco, norte de Nayarit y sur de Sinaloa, Sierra Norte de Puebla y la Huasteca Potosina y Tamaulipeca.

Las diferencias entre los resultados de estos estudios se pueden deber a los tipos de chile estudiados y al lugar de origen de los materiales. Si bien los materiales de estos estudios pertenecen a *C. annuum*, factores como la selección natural, deriva genética, mutación y flujo de genes influyen en la morfología, fisiología y estructura genética de las poblaciones (Hernández, 2001); así mismo dichos factores junto con factores ecológicos influyen en la distribución de la diversidad genética de las poblaciones lo cual se puede observar en la variación del número de alelos, la identidad de los alelos y el efecto de fijación sobre las características de la población (Ramanatha y Hodgkin, 2002).

Cuadro 2 Parámetros de diversidad genética

Tipo de chile	NP	A	Al	PLP	Ho	He
Cola de Rata	7	85	4.47	94.74	0.301	0.5364
De Árbol	17	112	5.89	94.74	0.3355	0.5229
Soledad P	4	77	4.05	84.21	0.3447	0.503
Cuauchilli	2	37	1.95	47.37	0.3732	0.3416
Soledad T	12	67	3.53	73.68	0.2316	0.3521
Piquín	2	35	1.84	47.37	0.4148	0.4336
Total	44	150	7.89	73.69	0.333	0.448

NP: número de poblaciones; A: número de alelos; Al: alelos por locus; PLP: porcentaje de loci polimórficos; He: heterocigosidad esperada; Ho: heterocigosidad observada; Soledad T: poblaciones de Tamaulipas; Soledad P: poblaciones de Puebla.

El mas alto nivel de polimorfismo fue de 94.74% en las poblaciones de chile Cola de Rata y de Árbol, en tanto que el mas bajo nivel se observó en las poblaciones de Cuauchilli y Piquín con 47.37%, que en comparación con el estudio de Corona *et al.* (2000), en el que se utilizaron isoenzimas para caracterizar poblaciones de chile de Árbol, Serrano y Piquín,

reportando un polimorfismo de 66.6%, 53.9% y 51.3%, respectivamente. La diferencia entre los resultados de ambos trabajos se puede deber: al tipo de marcadores utilizados, ya que los diferentes sistemas de marcadores proporcionan diferentes niveles de información sobre la diversidad genética (Tam *et al.*, 2005), así como al origen y la estructura genética de las poblaciones estudiadas (Ramanatha y Hodgkin, 2002; Dhaliwal *et al.*, 2014).

En el Cuadro 2 se presentan los valores estimados de heterocigosidad donde la heterocigosidad esperada (H_e) fue mayor a la heterocigosidad observada (H_o) con valores medios de 0.45 y 0.33, respectivamente, la diferencia entre estos valores indica que en las poblaciones hay una mayor presencia de individuos homocigotos, lo que es de esperar dada la naturaleza autógena de esta especie (Hernández *et al.*, 2006). El mayor valor de H_o se obtuvo en las poblaciones de Piquín (0.4148), Cuauchilli (0.3732) y el más bajo en las poblaciones de Soledad T (0.2316), de acuerdo a Hernández *et al.* (2001) los valores de heterocigosidad pueden deberse a factores como la distribución geográfica, a los medios de dispersión de la semilla y la forma de polinización, factores que influyen en el nivel de variación genética, además de dichos factores, en el caso de las poblaciones de Soledad T se debe considerar la posible la deriva genética causada por la introducción de poblaciones pequeñas a la región de la Huasteca.

Aunque el chile es una planta autógena se observaron valores altos de heterocigosidad en las poblaciones de Árbol, Cola de Rata y Soledad P donde el valor de la H_o va de 0.30 a 0.34 valores cercanos a los reportados por Contreras *et al.* (2011) (0.207 a 0.477) en variedades nativas de chile poblano, lo que significa que hay variabilidad genética en dichas poblaciones. Así mismo los resultados fueron mayores a los de Pacheco *et al.* (2012) para los tipos Cola de Rata (0.17), Cascabel (0.17) y Tequila (0.26); sin embargo se debe considerar que en este estudio

solo se analizó una población de cada uno de dichos chiles lo cual podría ocasiona una subestimación de la diversidad genética de dichos materiales.

Estructura genética

En promedio, el valor obtenido de F_{is} fue de -0.013 lo que significa que hay un exceso de heterocigotes en las poblaciones estudiadas (Eguiarte *et al.*, 2010). En el caso particular de las poblaciones de Cuauchilli con valores F_{is} de -0.2602 y de Piquín con -0.1654, se infiere un exceso de heterocigotes, bajo el supuesto de equilibrio de Hardy-Weinberg, en comparación con las poblaciones de Cola de Rata, de Árbol y Soledad P, en las cuales hubo mayor presencia de homocigotos de acuerdo con sus valores positivos (Cuadro 3).

Los valores negativos de F_{is} en las poblaciones de Cuauchilli y Piquín se debe a su nivel de domesticación, ya que los materiales silvestres y semicultivados mantienen una mayor variación genética en comparación con variedades locales, razas criollas o cultivares modernos (Hernández, 2014).

Los valores positivos de F_{is} de las poblaciones Cola de Rata, de Árbol y Soledad P son menores a los reportados por Pacheco *et al.* (2012) ($F_{is}=0.592$) quienes determinaron en chiles Cola de Rata, Cascabel y Tequila que sus resultados se debieron a la forma de reproducción y a un limitado movimiento de genes entre las poblaciones.

Cuadro 3 Estadísticos de F calculados a partir de 19 loci de microsatélites par siete tipos de chile (*Capsicum annumm L.*)

Tipo	F_{is}^{\dagger}	$F_{it}^{\dagger\dagger}$	F_{st}^{\ddagger}
Cola de rata	0.1954	0.4738	0.346
De Árbol	0.1119	0.4054	0.3304
Soledad P	0.111	0.3087	0.2223
Cuauchilli	-0.2602	-0.1314	0.1021
Soledad T	-0.0709	0.3514	0.3943
Piquín	-0.1654	0.0675	0.1999
General	-0.0130	0.2459	0.2658

\dagger Endogamia dentro de accesiones; $\dagger\dagger$ Diferenciación de accesiones; \ddagger Coefficiente global de endogamia

En cuanto al valor de F_{it} se obtuvo un promedio de 0.2459 para todas las poblaciones. Los valores más altos se obtuvieron en las poblaciones Cola de Rata y de Árbol (0.4738 y 0.4054), seguidos por las poblaciones Solead T y Soledad P (0.3087 y 0.3515); en estos casos los resultados indican una mayor pérdida de heterocigotos. El sistema de apareamiento de una especie es muy importante para determinar las diferencias entre poblaciones de diferentes ubicaciones geográficas, en donde las especies autóгамas muestran mayores diferencias entre las poblaciones debido a los diferentes alelos que las conforman (Ramanatha y Hodgkin, 2002). Los resultados obtenidos corresponden a lo que puede esperarse en *Capsicum*, ya que es una especie autógamma, además de que posiblemente haya existido deriva genética dado que las poblaciones Cola de Rata y Soledad P y Soledad T han sido introducidas a los estados de Sinaloa-Nayarit, Puebla y Tamaulipas, respectivamente.

Las poblaciones Soledad T, Cola de Rata y de Árbol tuvieron valores de F_{st} de 0.3943, 0.346 y 0.3304, respectivamente, indicando que dentro de cada una de ellas existe un alto nivel de divergencia genética ($F_{st} > 0.25$). El valor general de F_{st} fue de 0.2658 por lo que se puede decir que la mayor variación se presentó dentro de las poblaciones con un 73.42 %.

Relación entre las poblaciones

En el análisis de componentes principales los 10 primeros componentes explicaron el 55.7% del total de la variación, donde 15.7% corresponde al CP1 y el 8.88% al CP2 (Cuadro 4). Los alelos que integraron el CP1 fueron Hpms1-214_H, Hpms1-274_B, AF244121_A, AF244121_D, AF244121_E, Hpms1-5_B, Hpms1-168_A, Hpms2-2_B, Hpms2-2_F, Hpms1-173_C, Hpms1-111_E, Hpms2-24_B, Hpms2-24_C, Hpms2-24_H, Hpms2-13_A, CAN010950_A y CAN010950_B. En la Figura 1 se observa la dispersión de las poblaciones en este componente apreciándose la diferenciación de las poblaciones por tipo de chile, de manera

que entre los cuadrantes II y III se encontraron las poblaciones de los tipos de chiles soledad T y soledad P en un grupo, seguido por el grupo formado por las poblaciones de Cuauchilli y por último los cuadrantes I y IV se encontró el grupo formado por los chiles de Árbol y Cola de Rata.

Cuadro 4 Valores propios, proporción de varianza explicada y acumulada por los primeros 10 componentes principales a partir de los 150 alelos detectados por 19 loci de microsatélites en 44 accesiones de Chile (*Capsicum annuum* L.)

CP	Valores propios	Proporción de varianza	Varianza acumulada
1	23.601	0.157	0.157
2	13.225	0.088	0.246
3	7.559	0.050	0.296
4	6.776	0.045	0.341
5	6.552	0.044	0.385
6	6.159	0.041	0.426
7	5.386	0.036	0.462
8	5.145	0.034	0.496
9	4.615	0.031	0.527
10	4.562	0.030	0.557

El CP2 fue integrado por los alelos AF244121_B, Hpms1-143_A, Hpms1-173_A, Hpms1-173_A, Hpms1-111_G, Hpms1-111_I, Hpms2-24_E, Hpms1-172_C, Hpms1-172_D, Hpms1-172_E, CM0005_E y CAN010950_D. En este componente se observó a una mayor distancia, respecto a los grupos anteriores, en el cuadrante IV las poblaciones de Chile Piquín (Figura 1). Por lo tanto con éste análisis se explicó poco más de la mitad de la variación total y de acuerdo a los dos primeros componentes se obtuvo la diferenciación de las poblaciones por tipo de Chile.

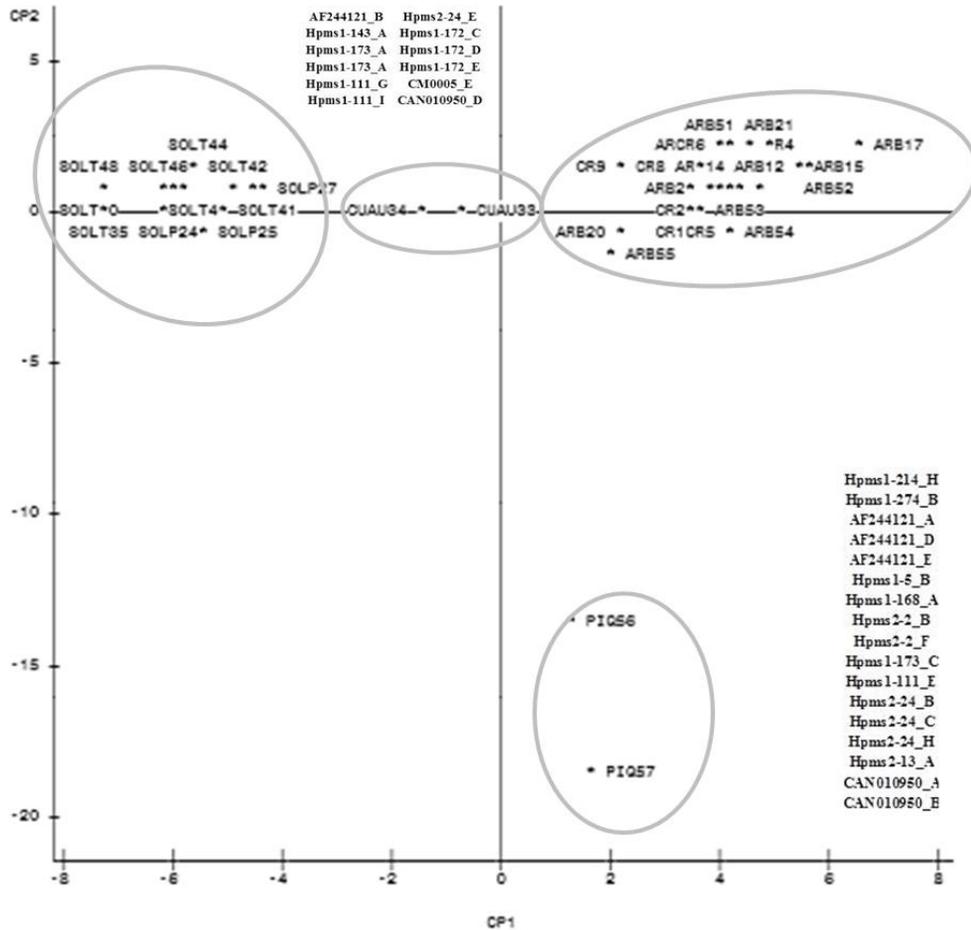


Figura 1 Dispersión de 44 poblaciones de Chile con base en los dos primeros componentes principales, derivados de 150 alelos de 19 loci de SSR

En el dendrograma obtenido por el método de agrupamiento UPGMA (Figura 2), se diferenciaron las poblaciones con una distancia genética (DG) promedio de 0.47 donde se observó la formación de cuatro grupos definidos por tipo de Chile tal y como se formaron en el ACP. El grupo I fue constituido por las poblaciones de Chile de Árbol y Cola de Rata, el grupo II por las poblaciones del tipo Cuauchilli el cual estuvo más cercano al grupo I, lo que puede deberse al considerar que las poblaciones de este tipo proceden de la misma región que las poblaciones de Árbol. El grupo III quedó compuesto por las poblaciones de Soledad P y Soledad T, dicho agrupamiento al igual que en el primero, está definido por el tipo de Chile.

Por último, el grupo IV se formó con las poblaciones del tipo Piquín, éste tipo de Chile es la forma silvestre de *C. annuum* lo que explica que es un grupo externo que se une al resto.

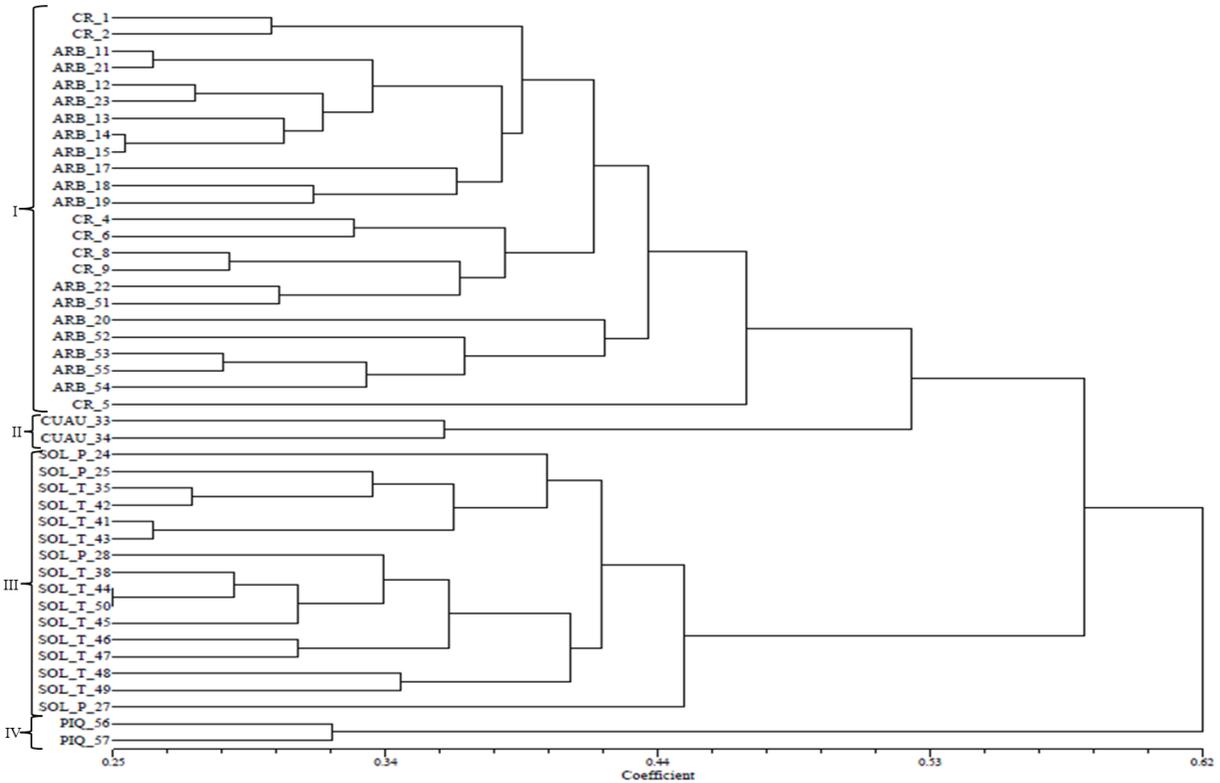


Figura 2 Dendrograma obtenido por el método UPGMA con base en la distancia genética modificada de Rogers a partir de 150 alelos de SSRs de 44 accesiones de Chile (*Capsicum annuum* L.)

Con el análisis discriminante fue posible diferenciar por región a las poblaciones de los tipos de Chile de Árbol y Soledad. En la Figura 3 se observó la separación de las poblaciones de Chile de Árbol y Cola de Rata, al igual que las poblaciones de Chile Soledad. Esto puede deberse a que tanto las poblaciones de Chile Cola de Rata, como las de Soledad P y Soledad T, fueron introducidas a regiones diferentes a las de origen (región de los Altos de Jalisco y Veracruz, respectivamente), de manera que al haberse adaptado a condiciones ambientales distintas es posible que se haya generado la variación en las frecuencias génicas, además de considerar posible deriva genética.

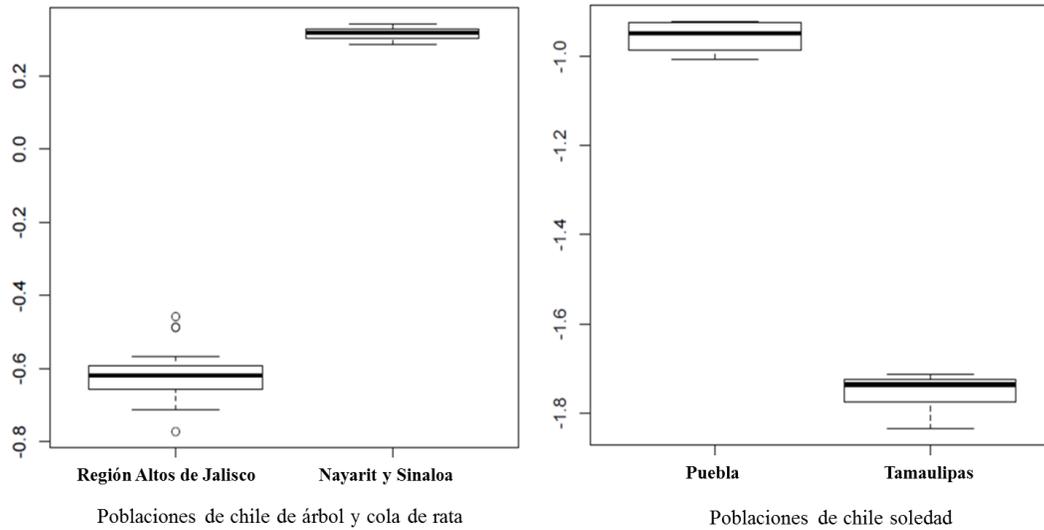


Figura 3 Distribución de las poblaciones de chile de Árbol y Soledad por región

CONCLUSIONES

Las poblaciones de chile de Árbol y Soledad presentaron un alto nivel de diversidad genética resultado de su distribución y adaptación a diferentes regiones. La mayor variación genética se encontró dentro de las poblaciones de chile (73.42%), lo que sugiere que es posible el uso de dichos materiales en un programa de mejoramiento por selección. Así mismo tanto en las poblaciones de chile de Árbol como en las de Soledad se presentaron diferencias suficientes que permitieron distinguir a las poblaciones por la región de origen, lo que hace posible el uso de estos tipos de chile en un programa de mejoramiento a través de hibridación entre poblaciones de distintas regiones.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Rincón V.H., T. Corona Torres, P. López López, L. Latournerie Moreno, M. Ramírez Meraz, H. Villalón Mendoza y J. A. Aguilar Castillo. 2010. Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114 p.
- Castañón N. G., M. Ramírez, R. Ruiz y N. Mayek. 2011. Aplicación de marcadores AFLP para explorar heterosis en *Capsicum* spp. PHYTON 80:53-58.
- Contreras T. A. R., H. López, A. Santacruz, E. Valadez, V. H. Aguilar, T. Corona y P. A. López. 2011. Diversidad genética en México de variedades nativas de chile ‘poblano’ mediante microsatélites. Revista Fitotecnia Mexicana 34:225–232.
- Corona T. T., A. García, G. Castillo, T.V. Montero y H.S.R. Azpiroz 2000. Caracterización isoenzimática de la diversidad genética de colectas de chile (*Capsicum annum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.) Revista Chapingo Serie Horticultura 6:5-17.
- Dhaliwal M. S., A. Yadav and S.K. Jindal. 2014. Molecular characterization and diversity analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. African Journal of Biotechnology. 13:3137-3143.
- Eguiarte E. L., P.E. Aguirre, E. Scheinvar, G.A. González y V. Souza. 2010. Flujo génico, diferenciación y estructura genética de las poblaciones, con ejemplos en especies de plantas mexicanas.
- Disponible en: <http://www.ecotips.com.mx/Bioconservacion/EguarteFlujogenetico.pdf>
- Franco, T.L. y R. Hidalgo. 2003. Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- Hernández V. S., R. A. González, P.P. Sánchez, A. Casas y K. Oyama. 2006. Estructura y diferenciación genética de poblaciones silvestres y domesticadas de chile del noroeste de México analizada con isoenzimas y RAPDs. Revista. Fitotecnia. Mexicana 29:25-29.
- Hernández V. S., R.R. Luna and K. Oyama. 2001. Genetic structure of wild and domesticated populations of *Capsicum annum* (Solanaceae) from Mexico. Plant Systematics and Evolution 226:129-142.
- Hernández V. A. E. 2013. Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Revista Bio Ciencias 2:113-118

- INIFAP 2006. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. DEL-102-02 y otras líneas avanzadas de Chile de Árbol en el estado de Chihuahua. Folleto Científico No. 4.
- Kaplinski L., R. Andreson, T. Puurand and M. Remm. 2004. MultiPLX: automatic grouping and evaluation of PCR primers. *Bioinformatics Applications Note* 21:1701–1702.
- Laborde C. J. A. y O. Pozo. 1982. Presente y pasado de Chile en México. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (SARH-INIA) 80 p.
- Laurentin H. 2009. Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56:277-292.
- Lee J. M., S. H. Nahm, Y. M. Kim and B. D. Kim. 2004. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 619-627.
- Pacheco O. A., V.S. Hernández, R.V. Rocha, R.A. Gonzales and K. Oyama. 2012. Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from northwestern Mexico analyzed by microsatellite markers. *Crop Science* 52:231-241.
- Pardey R. C. y M. A. D. García. 2011. Caracterización molecular de 135 introducciones de *Capsicum* procedentes del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. *Revista Intropica* 6:21-32.
- Pickersgill B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (genus *Capsicum*) *Evolution* 25:683-691.
- Ramanatha R. V. and T. Hodgkin. 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 68: 1–19.
- Rodriguez J. M., T. Berke, L. Engle and J. Nienhuis. 1999. Variation among and within *Capsicum* species revealed by RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics* 99:147-156.
- SNICS-SINAREFI 2010. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas y Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Resúmenes ejecutivos: ejercicio fiscal 2010.
- Tam S. M., C. Mhiri, A. Vogelaar, M. Kerveld, R. S. Pearce and M.A. Grandbastien. 2005. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected

by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. *Theoretical and Applied Genetics* 110:819-831.

Toquica S.P., F. Rodríguez, E. Martínez, M. C. Duque and J. Tohme. 2003. Molecular characterization by AFLPs of *Capsicum* germplasm from the Amazon Department in Colombia, characterization by AFLPs of *Capsicum* Genetic Resources and *Crop Evolution* 50:639–647.

Votava E. J., J.B. Baral and P.W. Bosland. 2005. *Economic Botany* 59:8-17.

Yeh F. C., R. Yang and T. Boyle. 1999. POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Quick User Guide. University of Alberta and Centre for International Forestry Research. Edmonton, Canada.

CAPITULO III. HETEROSIS EN CARACTERES AGRONOMICOS EN CRUZAS DE CHILE DE ÁRBOL, COLA DE RATA Y SOLEDAD

Diana Garfias-Sánchez¹, Víctor Heber Aguilar Rincón¹, Tarsicio Corona-Torres¹, Higinio López-Sánchez², Moisés Ramírez Meráz³

RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó la heterosis de las cruzas entre poblaciones de chile de Árbol, Cola de Rata y Soledad, sobre el rendimiento, características de fruto y de planta. Como progenitores se utilizaron dos poblaciones de cada tipo de chile, y se obtuvieron las cruzas: Árbol x Cola de Rata, Árbol x Soledad y Cola de Rata x Soledad. Los progenitores y cruzas fueron evaluados bajo condiciones de campo abierto en el Campo Experimental las Huastecas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias de Tamaulipas en un diseño experimental de bloques completos al azar. Resultados del análisis de heterobeltiosis (HB) se observó que la mejor respuesta se presentó en las cruzas de Árbol x Soledad para el rendimiento en verde, rojo fresco y seco, dichas cruzas pueden aprovecharse para incrementar el rendimiento de fruto seco para chile de Árbol y el rendimiento en verde de chile Soledad. Por otra parte las cruzas de Cola de Rata x Soledad tuvieron una mejor respuesta heterótica en el rendimiento en verde y rojo fresco, en tanto que las cruzas de Cola de Rata x Árbol solo la heterosis fue significativa en verde, de manera que dichas cruzas pueden aprovecharse para el incremento de fruto verde

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., chile de Árbol, chile Soledad, heterosis, heterobeltiosis

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Km 125.5 Carretera Federal México-Puebla, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula 72760, Puebla, México. ³INIFAP-Campo Experimental las Huastecas. Km. 55 Carretera Tampico-Mante, Villa Cuauhtémoc 89610, Tamaulipas, México.

INTRODUCCIÓN

Dentro de las especies domesticadas de Chile (*Capsicum* spp.) *C. annuum* es la que más se cultiva y la de mayor importancia económica a nivel mundial (Eshbaugh, 1976). En México esta especie presenta la mayor variabilidad en el mundo, tanto de tipos silvestres como cultivados (INIFAP, 2006). A nivel nacional algunos de los tipos de Chile que más se conocen son Jalapeño, Ancho, Guajillo, Pasilla, Serrano, de Árbol y Piquín (Aguilar *et al.*, 2010) y otros, menos conocidos, pero de importancia regional o local que tienen un alto potencial para su aprovechamiento por sus características particulares (Montes, 2010), por lo que, el estudio de la diversidad genética y la variabilidad que poseen dichos recursos fitogenéticos, permitiría identificar el potencial de estos materiales para poder utilizarlos en un programa de mejoramiento (Thul *et al.*, 2009).

Dentro de los objetivos del mejoramiento en Chile se encuentra incrementar la producción y calidad, así como aumentar la resistencia a factores adversos (bióticos y abióticos). El mejoramiento va encaminado a la formación de híbridos y variedades de polinización abierta (Sitaresmi *et al.*, 2010). El objetivo de explotar el efecto de heterosis es obtener una variedad con caracteres de interés incrementados tales como rendimiento y calidad del producto (Dodds, 1955; Sitaresmi *et al.*, 2010). La heterosis se define como la superioridad de los híbridos F1 sobre el promedio de sus progenitores en términos de rendimiento y otros caracteres, en tanto que la heterobeltiosis expresa la superioridad sobre el mejor progenitor. En el fitomejoramiento, la evaluación de la F1 respecto al promedio de los progenitores carece de importancia ya que no ofrece ninguna ventaja sobre el mejor progenitor, de manera que se debe dar mayor importancia al estudio de la heterosis respecto al mejor progenitor (Patil *et al.*, 2012).

La identificación de la combinación de cruzas superiores proporciona la base para elegir a los posibles progenitores a utilizar en el proceso de mejoramiento y así poder explotar la heterosis (Kamble *et al.*, 2009; Thul *et al.*, 2009; Sitaresmi *et al.*, 2010).

El trabajar con poblaciones genéticamente divergentes representa una ventaja para explotar la heterosis, de manera que el mejoramiento inter-poblacional favorece este efecto (Melchinger y Gumber 1998).

Los distintos tipos de chile que conforman la gran diversidad de la especie *C. annuum* son diferenciados por la variación en las características de fruto tales como forma, color, aroma sabor y nivel de pungencia. Dichas características son de importancia para productores, mejoradores y la industria (Bosland y Votaba 2000). Algunos de los tipos de chile, pese a sus diferentes características, pueden compartir algunas de ellas, como por ejemplo la forma de fruto, tal es el caso de los tipos de chile de Árbol y Soledad, donde ambos presentan frutos delgados y largos, sin embargo se diferencian en fruto seco por el aspecto liso en Árbol y rugoso en Soledad, el primero de ellos se consume principalmente en seco y el segundo en verde.

La producción de chile de Árbol se inició en la Región de los Altos de Jalisco, sin embargo, por su adaptabilidad también se ha cultivado desde hace décadas en el norte de Nayarit y sur de Sinaloa donde, entre otros nombres, se le conoce como Cola de Rata. El cultivo de chile Soledad se originó en la región de Sotavento del estado de Veracruz, posteriormente se extendió a la región del Papaloapan en Oaxaca y se ha ido introduciendo a la zona de la Sierra Norte del estado de Puebla y sur de Tamaulipas.

Debido a las características similares que presentan los tipos de chile de Árbol y Soledad en cuanto a forma de fruto, se esperaría que estos tipos de chile pudieran ser utilizados como progenitores en un programa de mejoramiento interracial con ciertas ventajas. De igual forma,

las diferencias que puede haber entre poblaciones de chile de *Árbol*, cultivados en los altos de Jalisco y Cola de Rata en Nayarit y Sinaloa, siendo los dos del mismo tipo de chile y por tanto con posible divergencia genética entre ellos, también podrían ser utilizados en un programa de mejoramiento.

De acuerdo a lo anterior el propósito del presente estudio fue determinar la heterosis sobre el rendimiento y características del fruto, de las cruzas entre poblaciones de chile de *Árbol*, Soledad y Cola de Rata.

MATERIALES Y MÉTODOS

Progenitores y Cruzas

Las seis poblaciones de chile que se utilizaron como progenitores fueron: dos de cada uno de los tipos de chile de *Árbol*, Cola de Rata y Soledad. La primera población de chile Cola de Rata se formó a través de un compuesto de semillas de las plantas con fruto largo y la segunda de las plantas con fruto chico, todas ellas de 10 colectas obtenidas en las costas de Nayarit y Sinaloa. Las dos poblaciones de chile de *Árbol* y las dos de Soledad se generaron de forma similar a la anterior pero a partir de siete colectas provenientes de la región de los Altos de Jalisco para la primera, y de cuatro colectas pertenecientes a la Sierra Norte de Puebla para la segunda (Cuadro 1).

Bajo condiciones de invernadero se establecieron 100 plantas de cada una de las seis poblaciones durante el verano de 2012. Se hicieron las cruzas directas y recíprocas, considerando el mismo tamaño de fruto entre poblaciones a cruzar (Cola de Rata x Soledad, *Árbol* x Soledad y *Árbol* x Cola de Rata), para hacer la polinización se utilizó una mezcla de polen de las plantas utilizadas como machos (Cuadro 1).

Evaluación de materiales

Los híbridos y sus progenitores fueron evaluados en el Campo Experimental las Huastecas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) del sur de Tamaulipas, durante el ciclo otoño-invierno 2013. Se establecieron dos experimentos bajo el diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones, con una superficie de 4.6 m² cada parcela experimental. El manejo de las parcelas se realizó de acuerdo a las recomendaciones del campo experimental.

El primer experimento se utilizó para la evaluación de las variables de fruto, planta y rendimiento de fruto verde y el segundo para evaluar el rendimiento de fruto fresco rojo y seco.

Cuadro. 1 Progenitores y cruzas evaluados

Progenitores	Tipo	Origen	Cruzas	
			Directas	Recíprocas
1CRFG	Cola de Rata	Sin-Nay	1CRFG x 3AFG	3AFG x 1 CRFG
2CRFCH	Cola de Rata	Sin-Nay	1CRFG x 5SFG	5SFG x 1 CRFG
3AFG	De Árbol	Jalisco	2CRFCH x 4AFCH	4AFCH x 2 CRFCH
4AFCH	De Árbol	Jalisco	2CRFCH x 6SFCH	6SFCH x 2 CRFCH
5SFG	Soledad	Puebla	3AFG x 5SFG	5SFG x 3 AFG
6SFCH	Soledad	Puebla	4AFCH x 6SFCH	6SFCH x 4 AFCH

CRFG: Cola de Rata fruto grande; CRFCH: Cola de Rata fruto chico; AGF: Árbol fruto grande; AFCH: Árbol fruto chico; SFG: Soledad fruto grande; SFCH: Soledad fruto chico.

Variables evaluadas

En el primer experimento las variables evaluadas en planta fueron: días a floración después del trasplante (DFDT), cuando más del 50% de las plantas de la parcela/repeticón tenían al menos una flor en anthesis; altura de planta y cobertura del follaje se midieron en tres plantas con competencia completa por parcela/repeticón. Las variables medidas en fruto fueron: peso promedio por fruto (PPF), longitud de fruto, ancho de fruto, grosor de pericarpio, tamaño de cáliz y largo de pedicelo en 10 frutos por parcela cosechados en el estrato medio de tres plantas y por último el rendimiento de cinco cortes realizados por parcela.

En el segundo experimento se evaluó rendimiento de fruto seco (t/ha), para lo cual los frutos se dejaron madurar por completo en la planta y se hicieron dos cortes de fruto fresco rojo, a los cuales se les determinó su peso, y posteriormente se secaron en una estufa deshidratadora industrial marca Riossa, a una temperatura de 60 °C con 9 a 10% de humedad, características del deshidratado adecuado para mercado. Después del secado, se registró el peso total en seco.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las mediciones en planta y fruto se sometieron a un análisis de varianza acorde a un diseño experimental bloques completos al azar con tres repeticiones, se hizo una prueba de comparación múltiple de medias por el método de Tukey ($\alpha= 0.05$). Además, se estimó la heterosis en relación al promedio de progenitores utilizando la fórmula $(HPM) = [(F_1 - PM)/PM] \times 100$ y al mejor progenitor (heterobeltiosis) con la fórmula $(HB) = [(F_1 - BP)/BP] \times 100$. Dónde: PM = media de los progenitores $PM = [(P_1 + P_2)/2]$; y BP = media del mejor progenitor que interviene en la cruce (P_1 o P_2). Posteriormente, se evaluó la significancia de la heterosis y heterobeltiosis, mediante la prueba de “t” (Wynne *et al.*, 1970) con la fórmula: $(t) = \frac{F_{1ij} - PM_{ij}}{\sqrt{\frac{3}{2r}(CME)}}$ y $(t) = \frac{F_{1ij} - BP_{ij}}{\sqrt{\frac{3}{2r}(CME)}}$, respectivamente. Donde: F_{1ij} es la media de la cruce ij ; PM_{ij} es la media de los progenitores ij ; BP = media del mejor progenitor; CME cuadrado medio del error y r = número de repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo al ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los materiales para la mayoría de los caracteres evaluados, lo cual indica la variabilidad genética presente en los materiales de estudio (Cuadro 2). En los cuadros 3, 4 y 5 se presentan los resultados de la prueba de medias, heterosis y heterobeltiosis de los caracteres evaluados.

El rango del peso promedio de fruto (PPF) en los progenitores fue de 1.71 a 3.83 g, mientras que en las cruzas fue de 3.25 a 4.06 g (Cuadro 3). Los progenitores que presentaron el mayor PPF fueron los de Cola de Rata seguidos por los Soledad y los de menor peso fueron los de Chile de Árbol. Montañó y Belisario (2012) mencionan que el peso de fruto se relaciona con las características de largo, ancho y grosor de pericarpio. De manera que en el caso del progenitor 4AFCH que tuvo el menor peso también tuvo un menor ancho de fruto y grosor de pericarpio (Cuadro 4), en caso del progenitor 5SFG aunque tuvo un menor tamaño de fruto mostró un mayor grosor de pericarpio y tendió a ser más ancho. En los chiles Cola de Rata el peso registrado puede explicarse por presentar frutos más largos, así como la tendencia a ser tan anchos como los Soledad (Cuadro 4). Por otra parte, en los resultados de la heterobeltiosis (HB), solo la cruce 5SFG x 1CRFG mostró diferencias significativas en el PPF (Cuadro 3).

Cuadro. 2 Análisis de varianza para catorce caracteres medidos en cruzas y progenitores de Chile (*Capsicum annuum* L.)

CUADRADOS MEDIOS																
F.V.	g.l.	PPF	Rendimiento			Características de fruto					Características de planta					
			Rto. Vde	Rto. Rjo	Rto. Sco	Largo	Ancho	Pericarpio	Cáliz	Pedicelo	DFDT	Altura 1	Altura 2	Cob 1	Cob 2	
Bloque	2	0.51	18.610	8.92	1.16	0.3744	0.0043	0.023	0.0934	0.0253	1.24	2.91	40.22	165.85	72.91	
Material	17	0.96 ns	100.83*	26.39*	5.47*	3.39*	0.016 ns	0.123*	0.0886 ns	1.183*	141.53*	144.13ns	96.79ns	185.51*	115.8ns	
Error	34	0.38	9.71	4.57	1.38	0.491	0.0045	0.02	0.084	0.115	21.81	42.77	31.32	45.64	54.67	
C.V.		18.12	15.78	17.42	21.02	8.87	7.78	10.72	62.09	10.28	7.67	10.03	7.82	8.3	8.16	

* Significancia a 0.05, ns: no significativo. PPF: peso promedio pro fruto; DFDT: días a floración después de trasplante; Altura1: altura de planta joven; Cob 1: cobertura de planta joven; Altura2: altura final de planta; Cob 2: cobertura final de planta.

De manera general el rendimiento fue mayor en las cruzas que en los progenitores, y de fruto verde a seco disminuyó proporcionalmente, es decir, los frutos al ir madurando perdieron poco más del 50% de su peso en cada estado de madurez (Cuadro 3). Respecto al rendimiento en los progenitores, los Cola de Rata fueron los más sobresalientes en los tres estados de madurez, en tanto que el rendimiento en verde y rojo fresco, las poblaciones de Chile Soledad superaron a las de Árbol, sin embargo el mayor rendimiento en fruto seco lo presentó Chile de Árbol.

Cuadro. 3 Comparación de medias en rendimiento, heterosis y heterobeltiosis

Cruzas	Rendimiento											
	PPF (g)			Verde (t/ha)			Rojo (t/ha)			Seco (t/ha)		
	Media	HB (%)	HPM	Media	HB (%)	HPM	Media	HB (%)	HPM (%)	Media	HB (%)	HPM
Directas												
1CRFG x 3AFG	3.43 ab	1.18 ns	15.68 ns	20.34 abcd	17.14 ns	46.03 *	9.67 bcde	-14.15 ns	2.29 ns	5.50 abc	-6.82 ns	12.42 *
1CRFG x 5SFG	3.56 ab	0.00	2.45 ns	23.81 abc	37.11 *	56.69 *	15.07 abc	33.76 *	43.44 *	6.77 abc	14.63 ns	48.50 *
2CRFCH x 4AFCH	3.87 a	1.04 ns	39.71 *	26.60 ab	69.00 *	116.64 *	11.99 abcd	-13.81 ns	15.12 ns	6.57 abc	-10.85 ns	18.54 *
2CRFCH x 6SFCH	4.06 a	6.01 ns	16.67 *	27.75 a	76.31 *	93.79 *	16.16 ab	16.14 ns	41.79 *	6.02 abc	-18.38 *	13.32 *
3AFG x 5SFG	3.44 ab	-3.37 *	12.79 *	26.98 a	107.15 *	129.45 *	13.62 abcd	39.78 *	56.67 *	6.95 ab	78.88 *	95.83 *
4AFCH x 6SFCH	3.55 ab	13.42 ns	46.69 *	23.16 abc	79.56 *	113.32 *	13.55 abcd	52.60 *	71.52 *	4.84 abc	30.21 ns	38.95 *
Recíprocas												
3AFG x 1CRFG	3.25 ab	-4.13 ns	-7.41 ns	18.20 a-f	4.81 ns	30.66 *	10.58 bcde	-6.11 ns	11.88 ns	5.61 abc	-4.95 ns	14.67 *
4AFCH x 2CRFCH	3.45 ab	-9.92 ns	2.22 *	19.83 a-e	25.96 *	61.47 *	11.23 abcd	-19.28 *	7.83 *	6.17 abc	-16.28 ns	11.32 *
5SFG x 1CRFG	4.32 a	21.35 *	21.57 ns	18.72 a-e	7.79 ns	23.17 *	15.18 abc	34.72 *	44.48 ns	6.91 ab	16.95 ns	51.50 *
5SFG x 3AFG	3.50 ab	-1.69 *	20.83 ns	22.69 abc	74.20 *	92.96 *	13.95 abcd	43.12 *	60.42 *	6.54 abc	68.25 *	84.20 *
6SFCH x 2CRFCH	3.53 ab	-7.83 ns	21.57 ns	25.88 ab	64.43 *	110.23 *	14.17 abcd	1.82 ns	5.68 *	4.55 abc	-38.30 *	-14.35 *
6SFCH x 4AFCH	3.50 ab	11.82 ns	20.83 *	23.04 abc	78.62 *	160.39 *	17.36 a	95.45 *	75.14 *	6.67 abc	79.60 *	91.67 *
Progenitores												
1 CRFG	3.39 ab			17.36 b-f			11.27 abcd			5.91 abc		
2 CRFCH	3.83 a			15.74 cdef			13.91 abcd			7.37 a		
3 AFG	2.54 ab			10.49 ef			7.65 de			3.88 abc		
4 AFCH	1.71 b			8.82 f			6.92 e			3.72 bc		
5 SFG	3.56 ab			13.03 def			9.75 bcde			3.21 c		
6 SFCH	3.13 ab			12.90 f			8.88 cde			3.25 c		
DMS	1.90			9.56			6.57			3.61		
Mg	3.42			19.74			12.27			5.58		
Mp	3.03			13.06			9.73			4.56		
Mc	3.62			23.08			13.55			6.04		

*=Significancia a 0.05; ns= no significativo; HPM= heterosis progenitor medio; HB=heterobeltiosis. DMS: diferencia mínima significativa; Mg: media general; Mp: media de los progenitores; Mc: media de las cruzas

La disminución del rendimiento en seco de las poblaciones de Soledad podría deberse a que sus frutos presentaron el mayor grosor de pericarpio y fueron más anchos en comparación con los de Árbol, lo que podría indicar un mayor contenido de agua en los frutos de Soledad y por tanto mayor pérdida de peso al secarse. Con respecto al grosor del pericarpio se han hecho cortes histológicos transversales de frutos de Chile de Árbol y Soledad, observándose similar número de capas de células del pericarpio, sin embargo, las células de Soledad fueron de un volumen mayor (comunicación personal Víctor Heber Aguilar Rincón y Tarsicio Corona Torres).

Los resultados de HB y HPM en el rendimiento en verde, fueron positivos y significativos para todas las cruzas, excepto para 1CRFG x 3AFG, 3AFG x 1CRFG y 5SFG x 1CRFG, dichos resultados son consistentes con los valores obtenidos de la prueba de medias. Las cruzas de Árbol x Soledad presentaron los valores más altos de HB para rendimiento en fruto verde, rojo fresco y seco. En el caso de las cruzas Cola de Rata por Soledad, hubo significancia en heterosis en rendimiento de fruto verde, en menor grado en fruto rojo fresco y en fruto seco no hubo significancia, en tanto que las cruzas Cola de Rata x Árbol obtuvieron valores significativos solo en el rendimiento en verde. Lo anterior se debe a que, aunque los progenitores de esta última craza se cultivan en diferentes regiones, pertenecen al mismo tipo de Chile, por lo que la distancia genética entre ellos posiblemente sea menor a la que existe entre éstos y Soledad, explicando así su menor significancia en la heterosis, tal como lo señalan Moll *et al.*, 1962.

De acuerdo a lo anterior, en el caso que se deseara realizar mejoramiento genético de Chile de Árbol para fruto seco, sería pertinente el empleo de la craza de éste con el tipo Soledad. La misma craza sería buena para incrementar el rendimiento de Soledad para fruto

verde, y la cruce de Cola de Rata con Soledad, solo daría buenos resultados para incrementar el rendimiento de fruto verde.

En cuanto a las características de largo de fruto, las poblaciones Cola de Rata presentaron los frutos más largos, en tanto que los frutos de Soledad fueron los de menor tamaño (Cuadro 4). La HB en las cruzas para largo de fruto, fue significativa en 1CRFG x 3AFG, 2CRFCH x 4AFCH y 5SFG x 3AFG. En general no hubo efecto heterótico en las cruzas para las variables ancho de fruto, grosor de pericarpio y tamaño de cáliz, solo entre los progenitores se observaron diferencias en estas variables, de manera que, el ancho en los frutos de Soledad fue mayor en comparación con los frutos de Árbol. Por otra parte el grosor de pericarpio en el tipo Soledad supero significativamente a los otros dos progenitores. Respecto a la longitud del pedicelo, los frutos de Árbol superaron significativamente a Soledad y las cruzas 2CRFCH x 4AFCH y su recíproca, presentaron los valores más altos en longitud de pedicelo con una heterosis significativa (Cuadro 4).

Por otra parte, los rangos de DFDT de los progenitores fueron de 54 a 73.33 días, mientras que en las cruzas fueron de 48 a 68 días. Los progenitores más precoces fueron las dos poblaciones de Chile de Árbol (Cuadro 5). Las cruzas que presentaron valores de HB negativos y significativos fueron las de Árbol x Soledad, dichos resultados indicaron la influencia de la precocidad que presentó Chile de Árbol. En cuanto a la altura de planta, no hubo diferencias entre progenitores, en la Altura1 se tuvo respuesta heterótica en las cruzas 3AFG x 5SFG y 4AFCH x 6SFCH, en tanto que para la Altura2 fueron 3AFG x 5SFG, 4AFCH x 6SFCH, 4AFCH x 2CRFCH y 5SFG x 3AFG, por lo tanto la combinación Árbol x Soledad, tanto en cruzas de frutos chicos como en la cruce de frutos grandes fueron las más sobresalientes.

Cuadro. 4 Comparación de medias en características de fruto, heterosis y heterobeltiosis

Cruzas	Largo (cm)			Ancho (cm)			Grosor de pericarpio (mm)			Cáliz (mm)			Largo de pedicelo (cm)		
	Media	HB (%)	HPM	Media	HB (%)	HPM	Media	HB (%)	HPM (%)	Media	HB (%)	HPM	Media	HB (%)	HPM
Directas															
1CRFG x 3AFG	9.46 a	11.77 *	17.63 *	0.80 bc	-6.54 ns	-2.74 *	1.05 c	-3.37 ns	0.32 ns	0.50 a	-4.49 ns	1.65 *	3.87 abc	-8.79 ns	4.57 *
1CRFG x 5SFG	8.72 abc	3.06 ns	15.15 *	0.90 abc	2.80 ns	3.71 *	1.19 bc	-23.11 *	-9.76 *	0.48 a	4.01 ns	11.98 *	3.08 cd	-2.46 ns	5.49 *
2CRFCH x 4AFCH	9.14 ab	13.83 *	21.14 *	0.90 abc	6.22 ns	8.66 *	1.19 bc	1.42 ns	9.65 *	0.50 a	1.69 ns	6.37 *	4.41 a	26.44 *	27.79 *
2CRFCH x 6SFCH	7.57 abc	-5.69 ns	14.98 *	0.98 ab	-5.49 ns	4.42 *	1.12 c	-37.62 *	-24.72 *	0.34 a	-30.21 ns	-17.32 *	2.96 cd	-13.07 *	13.94 *
3AFG x 5SFG	7.94 abc	4.17 ns	10.97 *	0.82 bc	-6.57 ns	-1.94 *	1.15 c	-25.70 *	-10.07 *	0.44 a	-16.03 ns	-4.25 *	3.42 abcd	-19.37 *	-1.19 ns
4AFCH x 6SFCH	7.07 bcd	0.14 ns	15.88 *	0.89 abc	-14.92 *	-4.07 *	1.27 bc	-29.24 *	-9.20 *	0.32 a	-28.68 ns	-18.69 *	2.93 cd	-15.93 *	11.00 *
Recíprocas															
3AFG x 1CRFG	8.81 abc	4.16 ns	9.62 *	0.79 bc	-7.92 ns	-4.18 *	0.97 c	-10.43 ns	-7.01 *	0.44 a	-15.38 ns	-9.95 *	3.84 abc	-9.30 *	3.98 *
4AFCH x 2CRFCH	8.49 abc	5.75 ns	12.54 *	0.80 bc	-4.99 *	-2.81 *	0.97 c	-17.28 *	-10.57 *	0.46 a	-6.76 *	-2.48 *	3.95 abc	13.47 *	14.69 *
5SFG x 1CRFG	8.76 abc	3.51 ns	15.66 *	0.77 c	-11.66 ns	-10.87 *	1.23 bc	-20.52 *	-6.72 *	1.11 a	143.22 ns	161.87 *	2.96 cd	-6.18 ns	1.48 ns
5SFG x 3AFG	8.68 abc	13.91 *	21.34 *	0.89 abc	1.11 *	6.12 *	1.14 c	-25.92 *	-10.33 *	0.41 a	-20.94 ns	-9.86 *	3.25 bcd	-23.31 *	-6.03 ns
6SFCH x 2CRFCH	6.86 abc	-14.51 *	4.23 *	0.85 abc	-18.65 ns	-10.12 *	1.15 c	-35.75 *	-22.47 *	0.44 a	-10.06 ns	6.57 *	2.69 de	-21.11 *	3.39 *
6SFCH x 4AFCH	7.75 abc	9.72 ns	26.96 *	0.96 abc	-7.96 *	3.78 *	1.19 bc	-33.71 *	-14.93 *	0.33 a	-26.95 ns	-16.72 *	3.16 cd	-9.23 ns	19.84 *
Progenitores															
1 CRFG	8.46 abc			0.86 abc			1.09 c			0.46 a			3.16 cd		
2 CRFCH	8.03 abc			0.84 abc			1.18 bc			0.49 a			3.41 abcd		
3 AFG	7.62 abc			0.79 bc			1.01 c			0.52 a			4.24 abc		
4 AFCH	7.06 bcd			0.81 bc			1.00 c			0.45 a			3.48 abcd		
5 SFG	6.68 cd			0.87 abc			1.54 ab			0.39 a			2.68 de		
6 SFCH	5.14 d			1.04 a			1.79 a			0.34 a			1.79 e		
DMS	2.15			0.21			0.38			0.89			1.04		
Mg	7.90			0.87			1.18			0.47			3.29		
Mp	7.17			0.87			1.27			0.44			3.13		
Mc	8.27			0.86			1.13			0.48			3.38		

*=Significancia a 0.05; ns= no significativo; HPM= heterosis progenitor medio; HB=heterobeltiosis. DMS: diferencia mínima significativa; Mg: media general; Mp: media de los progenitores; Mc: media de las cruzas

En general no hubo efecto heterótico en las cruzas para las variables ancho de fruto, grosor de pericarpio y tamaño de cáliz, solo entre los progenitores se observaron diferencias en estas variables, de manera que, el ancho en los frutos de Soledad fue mayor en comparación con los frutos de Árbol. Por otra parte el grosor de pericarpio en el tipo Soledad supero significativamente a los otros dos progenitores. Respecto a la longitud del pedicelo, los frutos de Árbol superaron significativamente a Soledad y las cruzas 2CRFCH x 4AFCH y su recíproca, presentaron los valores más altos en longitud de pedicelo con una heterosis significativa (Cuadro 4).

Por otra parte, los rangos de DFDT de los progenitores fueron de 54 a 73.33 días, mientras que en las cruzas fueron de 48 a 68 días. Los progenitores más precoces fueron las dos poblaciones de Chile de Árbol (Cuadro 5). Las cruzas que presentaron valores de HB negativos y significativos fueron las de Árbol x Soledad, dichos resultados indicaron la influencia de la precocidad que presentó Chile de Árbol. En cuanto a la altura de planta, no hubo diferencias entre progenitores, en la Altura1 se tuvo respuesta heterótica en las cruzas 3AFG x 5SFG y 4AFCH x 6SFCH, en tanto que para la Altura2 fueron 3AFG x 5SFG, 4AFCH x 6SFCH, 4AFCH x 2CRFCH y 5SFG x 3AFG, por lo tanto la combinación Árbol x Soledad, tanto en cruzas de frutos chicos como en la crusa de frutos grandes fueron las más sobresalientes.

Por último en la Cobertura1 las cruzas 4AFCH x 6SFCH y su recíproca, tuvieron una respuesta heterótica sobresaliente, seguidas por la crusa 6SFCH x 2CRFCH y por último la crusa 2CRFCH x 4AFCH. La Cobertura1 de los progenitores mostró diferencias significativas siendo 6SFCH el de menor cobertura y el 1CRFG el de mayor Cobertura. En tanto que en la Cobertura2 solo las cruzas de Árbol x Soledad 4AFCH x 6SFCH y su

recíproca tuvieron una respuesta heterótica positiva. En los progenitores no hubo diferencias significativas en Cobertura.

Es posible que las variables altura de planta, tal como se ha observado en otros trabajos (Kuruvadi *et al.*, 1991; Singh *et al.*, 2014) y cobertura estén relacionadas con la heterosis observada en rendimiento, ya que, al igual que la variable rendimiento, estas dos variables tuvieron mayor heterosis en las cruzas de chile de Árbol x Soledad. La relación entre altura de planta y cobertura con rendimiento, puede deberse al número de frutos por planta, ya que a mayor altura y cobertura hay más posibilidades que haya también un mayor número de frutos por planta. De acuerdo a lo anterior, aunque no hubo heterosis significativa en PPF (Cuadro 3), el mayor número de frutos explicaría la heterosis en rendimiento entre los tipos de chile de Árbol x Soledad. Por otro lado, la variable DFDT también podría explicar la heterosis de la crusa anterior, dado que, entre las cruzas más precoces se encuentran precisamente la de Árbol x Soledad, y tal como lo encontraron Kuruvadi *et al.* (1991) y Toledo *et al.* (2010), en chile Serrano y Poblano, los materiales más precoces fueron los de mayor rendimiento.

Cuadro. 5 Comparación de medias en características de planta, heterosis y heterobeltiosis

Cruzas	DFDT			Altura 1 (cm)			Altura 2 (cm)			Cobertura 1 (cm)			Cobertura 2 (cm)		
	Media	HB (%)	HPM (%)	Media	HB (%)	HPM	Media	HB (%)	HPM	Media	HB (%)	HPM	Media	HB (%)	HPM
Directas															
1CRFG x 3AFG	58.00 bcde	-20.55 *	-8.66 *	65.33 ab	3.16 ns	7.98 ns	68.67 ab	-4.19 ns	-0.96 ns	73.00 abcd	-18.89 *	-7.20 ns	80.67 ab	-13.88 *	-7.98 ns
1CRFG x 5SFG	63.00 abcd	-13.70 *	-12.09 *	69.67 ab	10.01 ns	11.78 ns	71.33 ab	-0.47 ns	4.13 ns	83.33 abcd	-7.41 ns	-2.92 ns	91.67 ab	-2.14 ns	-0.18 ns
2CRFCH x 4AFCH	58.00 bcde	-2.79 ns	1.46 ns	71.33 ab	-3.61 ns	6.73 ns	76.67 ab	-1.71 *	3.61 ns	87.00 abc	9.20 *	10.13 *	93.33 ab	-1.76 ns	4.28 ns
2CRFCH x 6SFCH	62.00 abcde	-15.45 *	-6.77 *	70.00 ab	-5.41 ns	9.38 ns	73.00 ab	-6.41	5.04 ns	82.00 abcd	4.69 ns	13.89 *	93.67 ab	-1.40 ns	9.77 ns
3AFG x 5SFG	56.33 bcde	-19.91 *	-9.38 *	70.67 ab	22.54 *	18.77 *	75.67 ab	12.94 *	14.37 *	88.67 ab	8.57 ns	19.02 *	94.33 ab	4.81 ns	9.90 ns
4AFCH x 6SFCH	63.00 abcd	-14.09 *	-1.56 ns	75.00 a	25.69 *	31.96 *	82.00 a	17.14 *	25.19 *	88.33 ab	10.87 *	21.55 *	95.00 ab	13.10 *	19.00 *
Recíprocas															
3AFG x 1CRFG	61.67 abcde	-15.53 *	-2.89 *	68.00 ab	17.91 ns	1.00 ns	72.67 ab	1.40 ns	12.92 ns	82.00 abcd	-8.89 *	16.18 ns	91.67 ab	-2.14 ns	-3.47 ns
4AFCH x 2CRFCH	58.00 bcde	-2.79 ns	1.46 ns	76.33 a	27.92 ns	12.68 ns	80.33 a	2.99 *	15.19 *	84.33 abcd	5.85 ns	9.89 *	93.33 ab	-1.76 ns	-5.11 ns
5SFG x 1CRFG	68.67 abc	-5.94 ns	-4.19 *	60.67 ab	-1.08 ns	-3.27 *	65.00 ab	-9.31 *	-14.62 *	70.00 bcd	-22.22 *	-4.64 ns	84.00 ab	-10.32 *	-12.1 ns
5SFG x 3AFG	48.33 e	-31.28 *	-22.25 *	60.67 ab	-1.08 ns	16.71 ns	75.67 ab	12.94 *	10.22 ns	82.67 abcd	1.22 ns	0.27 *	94.00 ab	4.44 ns	10.16 *
6SFCH x 2CRFCH	54.00 de	-26.36 *	-18.80 *	61.00 ab	12.96 ns	-4.93 ns	67.67 ab	-13.24 *	31.48 ns	91.00 a	16.18 *	-2.28 *	99.33 a	4.56 ns	12.11 *
6SFCH x 4AFCH	59.67 abcde	-18.64 *	-6.77 *	54.67 b	1.24 ns	5.08 ns	67.33 ab	-3.81 ns	24.31 ns	90.33 ab	13.38 *	-5.26 *	95.67 ab	13.89 *	17.14 *
Progenitores															
1 CRFG	73.00 a			63.33 ab			71.67 ab			90.00 ab			93.67 ab		
2 CRFCH	59.67 abcde			74.00 ab			78.00 ab			78.33 abcd			95.00 ab		
3 AFG	54.00 de			57.67 ab			67.00 ab			67.33 cd			81.67 ab		
4 AFCH	54.67 cde			59.67 ab			70.00 ab			79.67 abcd			84.00 ab		
5 SFG	70.33 ab			61.33 ab			65.33 ab			81.67 abcd			90.00 ab		
6 SFCH	73.33 a			54.00 b			61.00 b			65.67 d			75.67 b		
DMS	14.46			18.48			22.54			23.82			25.26		
Mg	60.87			65.19			71.61			81.41			90.37		
Mp	64.17			61.67			68.83			77.11			86.67		
Mc	59.22			66.95			73.00			83.56			92.22		

*=Significancia a 0.05; ns= no significativo; HPM= heterosis progenitor medio; HB=heterobeltiosis. DMS: diferencia mínima significativa; Mg: media general; Mp:media de los progenitores; Mc: media de las cruzas

CONCLUSIONES

Las cruzas con mayor respuesta heterótica en el rendimiento en verde, rojo fresco y seco fueron las de chile de Árbol x Soledad, éstas pueden aprovecharse para incrementar en el rendimiento en fruto verde en Soledad y seco en chile de Árbol.

La respuesta heterótica en las cruzas de Cola de Rata x Soledad y Árbol x Cola de Rata solo tuvieron heterosis significativa en rendimiento de fruto verde, por lo que éstas pueden aprovecharse para aumentar el rendimiento de fruto verde.

Se observó que las variables DFDT, Altura y Cobertura de planta se relacionaron directamente con la heterosis en el rendimiento.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Rincón, V.H., T. Corona Torres, P. López López, L. Latournerie Moreno, M. Ramírez Meraz, H. Villalón Mendoza y J. A. Aguilar Castillo. 2010. Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114 p.
- Bosland P. W. and E. Votava. 2000. Peppers: vegetable and spice capsicums. Crop production science in horticulture; 12. CAB International.
- Dodds K. S. 1955. Hybrid vigour in plant breeding. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, Vol. 144, No.915 (Sep. 27, 1955), pp. 185-192.
- Eshbaugh W. H. 1976. Genetic and Biochemical Systematics Studies of Chili Peppers (*Capsicum-Solanacea*). Bulletin of the Torrey Botanical Club. Vol. 102, No. 6, pp. 396-403
- INIFAP 2006. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. DEL-102-02 y otras líneas avanzadas de chile de Árbol en el estado de Chihuahua. Folleto Científico No. 4.
- Kamble C., R. Mulge, M. B. Madalageri and R. C. Jadeesha. 2009. Studies on heterosis in capsicum (*Capsicum annuum* L.) for yield and yield traits. Karnataka Journal of Agricultural Sciences 22(1): 155-157.

- Kuruvadi S., M. Ramírez y O. Pozo. 1991. Caracterización de líneas del banco de germoplasma de Chile Serrano, para rendimiento y sus atributos. *Agraria* 7:1-13.
- Melchinger A. E. and R. K. Gumber. 1998. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. In: Lamkey, K. R., and J. E. Staub (eds). *Concepts and Breeding of Heterosis in Crop Plants*. CSSA Special Publication No. 25. Crop Science Society of America, Madison, WI. pp: 29-44.
- Moll, R. H.; Salhuana, W. S. and Robinson, H. F. 1962. Heterosis and genetic diversity in variety crosses of maize. *Crop Sci.* 2:197-198.
- Montaño M. N. J. y H. C. Belisario. 2012. Comportamiento agronómico de siete cultivares de pimentón (*Capsicum annuum* L.). *Revista Científica 32 UDO Agrícola* 12:32-44. 2012.
- Patil B.T., M.N. Bhalekar and K.G. Shinde. 2012. Heterosis studies in chilli (*Capsicum annuum* L.) for earliness, growth and green fruit yield. *Vegetable Science* 39:73-75.
- Pech A.M., G. Castañón N., J. M. Tun S., M. Mendoza E., J. O. Mijangos, A. Pérez G. y L. Latournerie M. 2010. Efectos heteróticos y aptitud combinatoria en poblaciones de Chile Dulce (*Capsicum annuum* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 33:353-360.
- Singh P., D.S. Cheema, M.S. Dhaliwal and N. Garg. 2014. Heterosis and combining ability for earliness, plant growth, yield and fruit attributes in hot pepper (*Capsicum annuum* L.) involving genetic and cytoplasmic-genetic male sterile lines. *Scientia Horticulturae* 168:175-188.
- Sitairesmi T., S. Sujiprihati and M. Syukur. 2010. Combining ability of several introduced and local chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes and heterosis of the offsprings. *J. Agron. Indonesia* 38 (3): 212 – 217.
- Toledo A. R. 2010. Diversidad morfológica y potencial productivo de variedades nativas de Chile ‘Poblano’. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados.
- Thul S. T., R. K. Lal, A. K. Shasany, M. P. Darokar, A. K Gupta, M. M. Gupta, R. K. Verma and S.P.S. Khanuja. 2009. Estimation of phenotypic divergence in a collection of *Capsicum* species for yield-related traits. *Euphytica* 168:189–196.
- Wynne J. C., D. A. Emery and P. W. Rice. 1907. Combining Ability Estimates in *Arachis hypogea* L. II. Field performance of F₁ Hybrids. *Crop Science* 10:713-715.

CAPITULO IV. CAROTENOIDES, FLAVONOIDES Y CAPSAICIONOIDES EN

CRUZAS INTEREPOBLACIONALES DE CHILE

Diana Garfias-Sánchez¹, Víctor Heber Aguilar Rincón¹, Tarsicio Corona-Torres¹, Higinio López-Sánchez², Moisés Ramírez Meráz³

RESUMEN

En el presente trabajo se midió el color y se cuantificó la concentración de carotenoides, flavonoides y capsaicinoides en frutos de 12 cruzas interpoblacionales así como en sus progenitores de los tipos chile de Árbol, Cola de Rata y Soledad que dieron lugar a dichas cruzas. La cuantificación de flavonoides y carotenoides totales se realizó con métodos colorimétricos, la cuantificación de capsaicinoides fue mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) y por último la determinación de los parámetros de color $L^*c^*h^{\circ}$ se hizo con un espectrofotómetro. Además de la cuantificación de capsaicinoides en las cruzas también se analizó la heterosis respecto a la acumulación de capsaicinoides en las cruzas. Los resultados de la cuantificación de carotenoides totales, que fue de 0.832 a 1.22 mg g⁻¹, no mostraron diferencias significativas entre las cruzas y sus progenitores. En cuanto al contenido de flavonoides, se observó en general que la mayor acumulación de éstos se obtuvo en frutos verdes, tendiendo a disminuir en frutos secos; sin embargo en algunos casos se observó un incremento de estos compuestos en frutos secos, destacando las cruzas 5SFG x 3AFG (8.04 mg g⁻¹) y 6 SFCH x 2CRFCH (6.25 mg g⁻¹) y los progenitores 4AFCH (8.62 mg g⁻¹) y 5SFG (6.22 mg g⁻¹). Por otra parte, la acumulación de capsaicinoides en general fue mayor en frutos verdes, tendiendo a disminuir en frutos secos; sin embargo en los progenitores Cola de Rata y en algunas de sus cruzas el contenido de capsaicinoides aumento en frutos secos. Por otra parte las cruzas de chile Soledad con chile de Árbol tuvieron la mejor respuesta heterótica tanto en fruto verde como seco. En la medición de los parámetros de color se encontraron diferencias significativas entre cruzas y progenitores, siendo los frutos de Soledad los que presentaron una coloración mas intensa.

Palabras clave: *C. annuum*, capsaicinoides, flavonoides, carotenoides

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, México. ²Colegio de Postgraduados, Campus Puebla. Km 125.5 Carretera Federal México-Puebla, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula 72760, Puebla, México. ³INIFAP-Campo Experimental las Huastecas. Km. 55 Carretera Tampico-Mante, Villa Cuauhtémoc 89610, Tamaulipas, México.

INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum* spp.) es un ingrediente importante en una gran variedad de cocinas alrededor del mundo por los atributos de sabor, picor, color, y aroma que proporciona a los alimentos (Kothari *et al.*, 2010), dichas características determinan su uso en seco o en verde.

El picor, principal característica de los frutos de *Capsicum*, se debe a la presencia de capsaicinoides, compuestos de naturaleza alcaloide exclusivos de este género (Pruthi, 2003; Naresh *et al.*, 2012). El nivel de picor depende de la concentración de capsaicinas en el fruto y es variable entre y dentro de especies y variedades (Dagnoko *et al.*, 2013). Los capsaicinoides comienzan a acumularse en las primeras etapas de desarrollo de los frutos y alcanzan una concentración máxima cuando el fruto alcanza su madurez (Hall *et al.*, 1987). Dentro del grupo de capsaicinoides, la capsaicina y dihidrocapsaicina representan cerca del 90% del total (Giuffrida *et al.*, 2013; Koleva *et al.*, 2013).

Para que los cultivares de *Capsicum* puedan aprovecharse en la industria como fuente de capsaicinas, éstos deben tener los niveles de picor requeridos por la misma (Zewdie y Bosland, 2000). Por lo tanto, la determinación precisa del picor y la identificación de los capsaicinoides presentes en los cultivares son importantes para poder aprovechar su potencial (Collins *et al.*, 1995).

Así mismo, en los frutos de chile se encuentran compuestos con valor nutricional como los minerales y vitaminas (Kothari *et al.*, 2010), además de compuestos con actividad antioxidante como los flavonoides, que son de interés por su actividad farmacológica (Howard and Wildman, 2006). Estos compuestos son abundantes en el pericarpio de chile y los más importantes son la luteolina y quercetina. La acumulación de los flavonoides en los frutos de

Capsicum de las diferentes especies varía ampliamente de acuerdo al genotipo (Howard y Wildman, 2006).

Los frutos de chile poseen una amplia gama de colores (rojo, amarillo, naranja, púrpura y marrón), generada por pigmentos como clorofila, carotenoides y antocianinas (Guzmán *et al.*, 2011). Entre los carotenoides se encuentran el β -caroteno, violaxantina, capsorrubina y capsantina (Kothari *et al.*, 2010; Guzmán *et al.*, 2011), siendo los dos últimos los que dan el color rojo característico a los frutos. El contenido de carotenoides en los frutos de *Capsicum* depende de su madurez, así como de la variación entre cultivares (Topuz y Ozdemir, 2007). Por otro lado, una de las características de calidad de los frutos de chile es el color (Lightbourn *et al.*, 2008; Guzmán *et al.*, 2011), por lo que es necesario realizar su medición en los diferentes tipos y variedades de chile, tanto para los que se utilizan en verde como en seco.

En el caso de los materiales mexicanos de chile, la información de la cantidad de compuestos fitoquímicos que contienen es escasa (Vera *et al.*, 2011). Actualmente en el país se busca mejorar, a través de la hibridación, caracteres de interés agronómico, así como el incremento de compuestos fitoquímicos: capsaicinas, flavonoides y ácido ascórbico (Martínez *et al.*, 2014).

Entre los tipos de chiles importantes en México se encuentran el de Árbol y Soledad, el primero se consume en verde y en seco y el segundo únicamente en verde. La producción de estos dos tipos de chile se ha extendido de su lugar de origen a otras zonas, en el caso de chile de Árbol, de Jalisco a la costa de Nayarit y sur de Sinaloa entre otras regiones, y el chile Soledad, de Veracruz a la Sierra Norte de Puebla, Oaxaca y Tamaulipas (Aguilar *et al.*, 2010). El chile de Árbol y Soledad son tipos de chile distintos, sin embargo sus frutos, morfológicamente guardan

una gran similitud, lo que podría permitir realizar mejoramiento genético más fácilmente a través de su cruce.

Con el interés de determinar el potencial que puedan tener en un programa de mejoramiento para concentración de picor, de carotenoides y flavonoides se han realizado cruces entre poblaciones de chile de Árbol y chile Soledad, así como cruces entre poblaciones de chile de Árbol de distintas regiones.

Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el contenido de capsaicinoides, cuantificar la concentración de carotenoides y de flavonoides, así como determinar el color en frutos de las cruces entre poblaciones de chile de Árbol, Soledad y Cola de Rata.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se evaluaron seis poblaciones progenitoras de chile: dos del tipo Árbol (de la región de los altos de Jalisco), dos tipo Cola de Rata (chile de Árbol cultivado en los estados de Nayarit y Sinaloa) y dos de Soledad (de la sierra norte del estado de Puebla), y 12 cruces, directas y recíprocas realizadas en 2012 entre las poblaciones antes mencionadas (Cuadro 1).

Los 18 materiales se establecieron en el Campo Experimental las Huastecas del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Tamaulipas, en dos experimentos bajo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones en el ciclo agrícola 2013. La superficie de cada parcela fue de 4.6 m², y el manejo de las parcelas fue de acuerdo a las recomendaciones del campo experimental.

Cuadro. 1 Progenitores y cruza evaluados

Progenitores*	Tipo	Origen	Cruzas	
			Directas	Recíprocas
1CRFG	Cola de Rata	Sin-Nay	1CRFG x 3AFG	3AFG x 1 CRFG
2CRFCH	Cola de Rata	Sin-Nay	1CRFG x 5SFG	5SFG x 1 CRFG
3AFG	De Árbol	Jalisco	2CRFCH x 4AFCH	4AFCH x 2 CRFCH
4AFCH	De Árbol	Jalisco	2CRFCH x 6SFCH	6SFCH x 2 CRFCH
5SFG	Soledad	Puebla	3AFG x 5SFG	5SFG x 3 AFG
6SFCH	Soledad	Puebla	4AFCH x 6SFCH	6SFCH x 4 AFCH

*CRFG, Cola de Rata fruto grande; CRFCH, Cola de Rata fruto chico; AFG, árbol fruto grande; AFCH, árbol fruto chico; SFG, soledad fruto grande y SFCH, soledad fruto chico.

En el primer experimento se cosecharon los frutos en verde de cada parcela, y se tomó una muestra de 20 de ellos del estrato medio de las plantas. Estos frutos fueron liofilizados y molidos en un molino marca Krups modelo GX41001, y se mantuvieron a -20°C hasta su uso. En el segundo experimento, la cosecha fue de frutos maduros (rojos), y se tomó una muestra de 20 frutos del estrato medio de las plantas de cada parcela, los cuales se secaron en invernadero bajo condiciones de sombra. Los frutos secos fueron molidos en un molino marca Krups modelo GX41001 y se conservaron hasta su uso en condiciones de temperatura ambiente y ausencia de luz.

Medición del color de fruto

En el primer experimento se midió el color del epicarpio de una muestra de seis frutos verdes después de la cosecha, en el segundo, la medición de color se realizó en una muestra de seis frutos maduros rojos, y se repitió su medición después de secados. Estas mediciones se realizaron en dos de las tres repeticiones de cada experimento. Las medidas de color fueron como coordenadas CIELch (L*= luminosidad, c*= croma o saturación del color y h°= hue o tono) y se realizaron con un espectrofotómetro de esfera X-Rite® modelo SP62.

Determinación de capsaicinoides

La determinación se hizo tanto en muestras de fruto verde como en seco. En ambos casos se tomaron 0.5 g de polvo de cada una de las muestras molidas, y se colocaron en tubos tipo Falcon de 10 ml. A cada tubo se le adicionaron 5 ml de acetonitrilo y se incubaron a 60°C durante 5 h, agitándolos vigorosamente cada 30 minutos. Posteriormente las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y, de cada tubo, se filtraron 2ml del sobrenadante a través de acrodiscos de 25 mm de diámetro y 24 µm de poro (Millipore Co.). Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) Hewlett Packard® serie 1100, con una columna C18 con partículas de 25 µm de diámetro (Waters Spherisorb® ODS, Sigma Co.), 150 mm de longitud y 4.7 mm de diámetro.

Se utilizó una fase móvil de acetonitrilo:agua (45:55 v/v) a un flujo de 1.5 ml/min, una longitud de onda de 280 nm y un tiempo de análisis de 17 min. Se inyectaron 20 µl al cromatógrafo para la determinación de la concentración de capsaicinoides de cada muestra.

Para la curva de calibración se utilizaron estándares de capsaicina y dihidrocapsaicina (Sigma Co.) con las siguientes concentraciones: 0.0625, 0.125, 0.250, 0.5 y 1.0 mg/ml. La concentración de las lecturas de las muestras de cada capsaicinoide se calculó a partir de las ecuaciones del método oficial 995.03 de la AOAC (1995):

$$C = (P_c/P_s) \times (C_s/W_t) \times (10/0.89) \times 16100$$

$$D = (P_d/P_s) \times (C_s/W_t) \times (10/0.93) \times 16100$$

Donde: P_c y P_d = área del pico; P_s = área del pico estándar correspondiente; C_s = concentración estándar (mg/ml); W_t = peso de la muestra.

Determinación de carotenoides totales

La determinación de carotenoides se realizó en muestras de fruto seco del segundo experimento, para lo cual se utilizó el método de Nagata y Yamashita (1992). De cada muestra se tomaron 50 mg de polvo del fruto molido y se colocaron en tubos tipo Falcon, se les agregó 10 ml de acetona-hexano (4:6 v/v) y se agitaron vigorosamente durante un minuto. El extracto fue centrifugado a 4500 rpm. Se leyeron sus absorbancias en un espectrofotómetro (Multiskan FC Thermo Scientific®) a 453, 503, 645 y 663 nm.

Los valores obtenidos se sustituyeron en la siguiente fórmula Palma, 2013:

$$\text{Carotenoides totales mg/100 ml} = (0.216)(A_{663}) - (1.220)(A_{645}) - (0.304)(A_{505}) + (0.452)(A_{453})$$

Determinación de flavonoides totales

La determinación de flavonoides se hizo en muestras de polvo de fruto verde y seco, utilizando el método colorimétrico de cloruro de aluminio de Chang *et al.*, 2002; modificado por Meneses *et al.*, 2008; a su vez modificado por Palma, 2013. Se colocaron 25 mg de fruto molido de cada muestra en tubos Falcon, se añadieron 500 µL de metanol al 80% y se incubaron en baño maría por 1 h a 70°C. Después, la mezcla se centrifugó a 2532 rpm durante 13 min. Del sobrenadante se tomaron alícuotas de 150 µL y se les agregó 37 µL de metanol 80%, posteriormente, de esta última solución, se tomaron alícuotas de 50 µL y se les añadió 100 µL de acetato de potasio 1 M más 100 µL de cloruro de aluminio 10%, y se aforo a 5 mL con metanol al 80%. Las muestras se dejaron reposar durante 40 min y se leyeron sus absorbancias en un espectrofotómetro (Multiskan FC Thermo Scientific®) a 415 nm.

Se elaboró la curva de calibración con 10 mg de quercetina en metanol 80%, a partir de esta solución se hicieron diluciones a 0.2, 0.5, 0.8, 1, 2, 3, y 4 µg/mL, a las que se les agregaron

1.5 ml de metanol 80%, 100 μ L de acetato de potasio 1 M, 100 μ L de cloruro de aluminio 10% y 2.8 ml de agua destilada. Se dejaron incubar por 30 min a temperatura ambiente y se leyó sus absorbancia en un espectrofotómetro (Multiskan Thermo scientific ®) a 415 nm.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las determinaciones de color, capsaicinoides, carotenoides y flavonoides se sometieron a análisis de varianza correspondiente a un diseño experimental bloques completos al azar con tres repeticiones, la comparación de medias se hizo mediante la prueba de Tukey ($\alpha= 0.05$).

Así mismo se estimó la heterosis en relación al mejor progenitor (heterobeltiosis) respecto a la acumulación de capsaicinoides en las cruza, con la fórmula $(HB)= [(F_1-BP)/BP] \times 100$. Donde: F_1 = media del híbrido F_1 y BP = media del mejor progenitor que interviene en la cruz (P_1 o P_2). Se evaluó la significancia de la heterobeltiosis con la prueba de “t” (Wynne *et al.*, 1970) con la fórmula: $(t)= \frac{F_{1ij}-BP_{ij}}{\sqrt{\frac{3}{2r}(CME)}}$, respectivamente. Donde: F_{1ij} =es la media de la cruz ij ;

BP = media del mejor progenitor; CME el cuadrado medio del error y r =número de repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Color de fruto

Los parámetros de color en las cruza presentaron valores semejantes a los registrados en sus progenitores (Cuadro 2). Sin embargo para los frutos en verde si se observaron algunas diferencias entre cruza y progenitores, de los cuales los materiales que presentaran un color verde intenso fueron los Soledades con valores bajos en croma y altos en tono (Cuadro 2).

El color verde del fruto inmaduro se debe a la presencia de clorofilas, y pueden variar en su concentración debido a las diferencias en la genética y el grado de maduración. Los cambios de color con la maduración se deben a la degradación de la clorofila y al aumento del contenido de carotenos (Serrano, 2009).

Los resultados en fruto rojo y seco no mostraron diferencias significativas entre cruza y progenitores, los valores de hue (h°) situaron a los materiales en la gama de colores rojos, sin embargo la saturación del color (croma) en general disminuyó en los frutos secos dando lugar a un color rojo mas intenso.

Cuadro. 2 Color en tres estados de madurez en frutos de cruzas intervarietales de Chile

Material			FRUTO VERDE			FRUTO MADURO			FRUTO SECO		
Cruzas directas			L*	C*	h°	L*	C*	h°	L*	C*	h°
P(♀)		P(♂)									
1 CRFG	x	3 AFG	33.92 ab	23.84 ab	109.5 ab	29.09 a	37.08 a	33.8 a	25.55 a	25.29 a	31.61 a
1 CRFG	x	5 SFG	29.4 a-f	18.64 ab	111.9 ab	27.58 a	33.23 a	33.59 a	24.51 a	24.61 a	31.04 a
2 CRFCH	x	4 AFCH	32.12 abc	23.77 ab	109.1 ab	27.96 a	36.05 a	35.83 a	27.75 a	29.99 a	34.16 a
2 CRFCH	x	6 SFCH	31.64 a-d	22.09 ab	110.1 ab	31.25 a	38.8 a	34.55 a	25.13 a	26.84 a	33.87 a
3 AFG	x	5 SFG	26.68 b-f	18.36 ab	111.4 ab	29.43 a	37.94 a	34.81 a	25.71 a	25.93 a	32.66 a
4 AFCH	x	6 SFCH	33.66 ab	20.95 ab	114.9 a	30.96 a	39.99 a	35.39 a	25.16 a	51.81 a	34.27 a
Cruzas recíprocas											
3 AFG	x	1 CRFG	37.86 a	26.86 a	108.6 ab	28.19 a	35.19 a	35.22 a	26.39 a	32.55 a	35.84 a
4 AFCH	x	2 CRFCH	29.54 a-f	21.73 ab	103.9 b	31.36 a	41.34 a	35.84 a	25.32 a	27.25 a	34.31 a
5 SFG	x	1 CRFG	22.85 def	16.85 ab	112.9 ab	28.86 a	35.77 a	33.53 a	23.69 a	24.96 a	34.42 a
5 SFG	x	3 AFG	24.64 c-f	18.54 ab	113.8 a	29.93 a	39.31 a	35.37 a	24.87 a	26.41 a	33.98 a
6 SFCH	x	2 CRFCH	25.68 b-f	18.91 ab	107.7 ab	31.29 a	37.32 a	33.8 a	25.3 a	27.75 a	36.84 a
6 SFCH	x	4 AFCH	30.85 a-e	20.78 ab	111.4 ab	29.7 a	38.63 a	34.87 a	23.05 a	25.05 a	34.09 a
Progenitores											
1 CRFG			29.64 a-f	23.2 ab	109 ab	30.68 a	39.72 a	35.43 a	26.4 a	30.3 a	35.58 a
2 CRFCH			36.15 a	26.63 a	108.9 ab	29.36 a	37.16 a	36.39 a	25.98 a	28.06 a	33.77 a
3 AFG			28.86 a-f	21.09 ab	110.6 ab	30.55 a	39.34 a	40.08 a	23.89 a	25.5 a	32.73 a
4 AFCH			33.7 ab	22.76 ab	111 ab	28.87 a	36.33 a	34.85 a	25.8 a	27.5 a	34.94 a
5 SFG			20.66 f	13.87 b	117.3 a	31 a	40.71 a	36.5 a	26.07 a	26.16 a	35.49 a
6 SFCH			22.15 ef	13.31 b	114.6 a	29.69 a	41.48 a	38.42 a	22.58 a	27.96 a	35.76 a
DMS			9.012	10.9	9.92	7.28	13	9.45	6.36	35.11	7.97
Mg			29.44	20.68	110.9	29.76	38.08	35.46	25.18	28.55	34.19
Mp			28.53	20.14	111.9	30.03	39.12	36.95	25.12	27.58	34.71
Mc			29.9	20.94	110.4	29.63	37.55	34.72	25.2	29.04	33.92

DMS: diferencia mínima significativa; Mg: media general; Mp: media de los progenitores; Mc: media de las cruzas

Capsaicinoides

Los resultados del ANAVA de la cuantificación de capsaicinoides mostraron diferencias significativas entre los materiales estudiados, tanto en fruto verde como en seco (Cuadro 3). Se observó una amplia variación en la acumulación de capsaicinoides tanto en cruza como en progenitores. En general la acumulación de capsaicina fue mayor a la dihidrocapsaicina en todos los materiales (Cuadro 4). En fruto verde, la acumulación de capsaicinas (CAP) en progenitores tuvo un intervalo de 10600 a 44218 unidades Scoville (SHU), y de 6642 a 24646 SHU de dihidrocapsaicina (DIH); así mismo en fruto seco el intervalo de CAP fue de 21846 a 33343 SHU y el de DIH fue de 8500 a 38442 SHU.

Cuadro . 3 Cuadrados medios del análisis de varianza del contenido de capsaicinoides en cruza y progenitores

F.V.	g.l.	Verde			Seco		
		Capsaicina	Dihidrocapsaicina	Cap:Dihidro	Capsaicina	Dihidrocapsaicina	Cap:Dihidro
Bloque	1	1041446	7450	872725	3061166	954097	7433245
Material	17	605860788**	114705345**	1140061998**	389188485**	122653019**	831508025**
Error	17	1834818	249596	2639443	4150227	2162361	8538099
C.V.		3.829825	3.140094	3.168241	5.770532	8.669071	5.590611

Por otra parte, en fruto verde el intervalo para CAP en las cruza fue de 1185 a 67065 SHU, y para DIH de 0 a 26767 SHU; en fruto seco el intervalo de CAP fue de 8077 a 52452 SHU y el de DIH fue de 4828 a 28542 SHU.

La acumulación de capsaicinoides en fruto verde en las poblaciones progenitoras de Chile de Árbol y Soledad, fue significativamente superior al contenido en las poblaciones de Cola de Rata. Por el contrario, la concentración de capsaicinas en fruto seco fue significativamente superior en los progenitores tipo Cola de Rata, sobresaliendo 2CRFCH. La concentración de capsaicinoides de frutos verdes comparado con frutos secos tanto en las poblaciones de Chile de Árbol como en la de Soledad tendió a disminuir, mientras que en las poblaciones de Cola de Rata se incrementó significativamente. El comportamiento de la acumulación de capsaicinoides

en Chile de *Árbol* y *Soledad* coincide con los resultados obtenidos por Iqbal *et al.*, 2013, que indican que la concentración se inicia en la primera etapa de desarrollo y alcanza valores máximos en la madurez para después disminuir. Sin embargo, el comportamiento contrario en el Chile *Cola de Rata*, pudo deberse a la actividad de la enzima peroxidasa que regula la cantidad de capsaicinoides presentes en los frutos, y la concentración de las enzimas es inversamente proporcional a la concentración de capsaicinoides (Contreras y Yahia 1998).

En cuanto a las cruces entre los tipos de Chile, las más sobresalientes fueron las de *Árbol* x *Soledad*, de las cuales, 4AFCH x 6SFCH, su recíproca y 5SFG x 3AFG, tuvieron una acumulación de capsaicinoides por arriba de sus progenitores tanto en fruto verde como en seco, además de presentar una heterosis significativa.

Por otra parte en las cruces de *Cola de Rata* x *Soledad*, la única cruce que tuvo una heterosis significativa en verde para concentración de capsaicinas fue 6SFCH x 2CRFCH, y las cruces 2CRFCH x 6SFCH y 5SFG x 1CRFG presentaron una concentración de capsaicinas mayor en seco que en verde. Los bajos y altos valores en concentración de capsaicinas de las poblaciones de *Cola de Rata* en verde y seco respectivamente, explican la heterosis que tuvo la cruce 6SFCH x 2CRFCH en verde, mientras que en seco todas las heterosis de las cruces con *Cola de Rata* fueron negativas.

Por último, las cruces de las poblaciones de *Cola de Rata* x *Árbol*, 2CRFCH x 4AFCH y 4AFCH x 2CRFCH mostraron una heterosis positiva y significativa en el contenido de capsaicinoides en fruto verde, en tanto que en fruto seco, la heterosis fue negativa. Cabe señalar que aunque no hubo heterosis en fruto seco para esta cruce, los valores de su concentración están por arriba de los valores del progenitor 4AFCH, por lo que dicha cruce podría ser útil si se deseara aumentar la cantidad de capsaicinas en el Chile de *Árbol*.

Cuadro . 4 Contenido de capsaicinoides (SHU) y heterosis

Cruzas	FRUTO VERDE						FRUTO SECO					
	CAP		DIH		CAP:DIH		CAP		DIH		CAP:DIH	
	Media	HB (%)	Media	HB (%)	Media	HB (%)	Media	HB (%)	Media	HB (%)	Media	HB (%)
Directas												
1CRFG x 3AFG	30691 g	-20.7263 *	13403 f	-45.6163 *	44094 hi	-30.4079 *	22986 ghi	-28.6050 *	13993 defg	-17.8340 *	36978 hi	-24.8787 *
1CRFG x 5SFG	12485 ij	-67.6583 *	5371 g	-63.6442 *	17856 j	-66.5474 *	8077 j	-74.9134 *	4828 h	-71.6499 *	12905 j	-73.7844 *
2CRFCH x 4AFCH	42948 de	20.8788 *	26767 a	11.4037 *	69715 c	17.0562 *	43885 cd	-28.6848 *	28542 b	-25.7545 *	72427 b	-27.5581 *
2CRFCH x 6SFCH	37470 ef	-15.2595 *	15110 f	2.5867 *	52580 fg	-10.8003 *	50713 bc	-17.5890 *	18231 cd	-52.5753 *	68944 b	-31.0414 *
3AFG x 5SFG	1185 k	-96.9296 *	0 h	0.0000 *	1185 k	-98.1292 *	17592 i	-34.9909 *	10910 fg	-31.7219 *	28502 i	-27.5205 *
4AFCH x 6SFCH	55586 bc	25.7110 *	22080 cd	-8.1059 *	77666 b	30.4059 *	48959 bc	46.8344 *	16995 cde	-18.2923 *	65954 bc	21.8148 *
Recíprocas												
3AFG x 1CRFG	31415 g	-18.8546 *	15132 f	-38.6023 *	46547 gh	-26.5360 *	26733 fgh	-16.9653 *	14429 defg	-15.2735 *	41162 fgh	-16.3801 *
4AFCH x 2CRFCH	40676 def	14.4837 *	24245 b	0.9061 ns	64921 cd	9.006 *	46461 bc	-24.4994 *	26784 b	-30.3265 *	73245 b	-26.74 *
5SFG x 1CRFG	16383 i	-57.5628 *	6273 g	-57.5377 ns	22655 j	-57.556 *	29079 efgh	-9.67815 *	11319 efg	-33.5354 *	40398 fgh	-17.9318 *
5SFG x 3AFG	67065 a	31.9565 *	21185 d	-29.3781 *	88250 a	8.0988 *	36409 de	93.8312 *	15232 cdef	-8.3067 *	51641 def	70.6419 *
6SFCH x 2CRFCH	51087 c	51.6707 *	17405 e	43.8319 *	68492 c	49.7120 *	52452 b	-40.8340 *	14652 def	-60.3773 *	67103 b	-48.3485 *
6SFCH x 4AFCH	57306 b	29.5998 *	20221 d	-15.8404 *	77527 b	30.1728 *	45344 bc	35.9919 *	16397 cdef	-21.1684 *	61741 bcd	14.0327 *
Progenitores												
1 CRFG	10600 j		6442 g		17042 j		32195 ef		17030 cde		49225 efg	
2 CRFCH	24671 h		14576 f		39247 i		61537 a		38442 a		99979 a	
3 AFG	38715 ef		24646 b		63361 cd		21846 hi		15979 cdef		37825 ghi	
4 AFCH	35530 fg		24027 bc		59557 de		33343 ef		20800 c		54143 cde	
5 SFG	38605 ef		14772 f		53377 ef		27061 fgh		12264 efg		39324 ghi	
6 SFCH	44218 d		14729 f		58947 def		30798 efg		8500 gh		39298 ghi	
DMS	5492		2026		6587		8260		5962		11847	

*=Significancia a 0.05; ns= no significativo; HB= heterosis respecto al mejor progenitor o heterobeltiosis. DMS: diferencia mínima significativa.

Carotenoides y flavonoides totales

Los resultados de la cuantificación de carotenoides y flavonoides totales no mostraron diferencias significativas entre los materiales de estudio (Cuadro 5).

Cuadro . 5 Análisis de varianza de las variables flavonoides y carotenoides totales en cruza y progenitores de chile

		CUADRADOS MEDIOS		
F.V.	g.l.	CT	FT_verde	FT_seco
Bloque	2	0.04804173	0.05419647	0.7252337
Material	17	0.03183029 ns	3.45118762 ns	9.4308096 ns
Error	34	0.03558971	2.7502427	3.9832887
C.V.		17.85	32.95	40.31

FT_verde: flavonoides totales en verde; FT_seco: flavonoides totales en seco; CT: carotenoides totales; ns: no significativo.

El contenido de carotenoides totales (CT) en las cruza fue de 0.93 a 1.19 mgCT/gMS, mientras que en los progenitores fue de 0.83 a 1.2 mgCT/gMS (Cuadro 6). Concentraciones similares de CT fueron reportadas por Iqbal *et al.* (2013) en tres híbridos picosos de *C. annuum* (0.84 – 1.12 mg g⁻¹), así mismo, concentraciones más altas de CT fueron reportadas por Topuz y Ozdemir (2007) en cinco cultivares de *C. annuum* (1.44 – 2.39 mg g⁻¹). Las diferencias de los contenidos de CT de este trabajo con los de otros reportes se puede atribuir a la capacidad de cada tipo de chile para sintetizar carotenoides, e incluso, para retener los pigmentos de clorofila, siendo así, el tipo de chile un factor importante en la composición y contenido de pigmentos vegetales (Pugliese *et al.*, 2013). En el caso específico de chile de Árbol, Wall *et al.*, 2001 reportaron una concentración de CT de 2247 µg·g⁻¹, dicha concentración es mayor a lo obtenido en el presente estudio, indicando con ello que la concentración de CT varía dentro de cada tipo de chile. (Arimboor *et al.*, 2015).

El contenido de flavonoides totales (FT), tanto en fruto verde como seco, estadísticamente no mostraron diferencias significativas entre las cruzas y progenitores (Cuadro 2). Sin embargo, en fruto verde, algunos materiales mostraron una concentración de FT sobresaliente, tal fue el caso de las cruzas 4AFCH x 6SFCH (6.34 mg g⁻¹), 3AFG x 5SFG (5.96 mg g⁻¹), 3AFG x 1CRFG (5.85 mg g⁻¹) y 1CRFG x 5SFG (5.68 mg g⁻¹) y los progenitores 4AFCH (6.88 mg g⁻¹) y 5SFG (5.84 mg g⁻¹).

Cuadro . 6 Comparación de medias de la cuantificación de carotenoides y flavonoides totales

Material		CT (mgCT/gMS)	FT_verde (mgFT/gPF)	FT_seco (mgFT/gMS)
Cruzas directas				
P(♀)		P(♂)		
1 CRFG	X	3 AFG	1.05 a	5.45 A
1 CRFG	X	5 SFG	1.19 a	5.68 A
2 CRFCH	X	4 AFCH	1.03 a	4.83 A
2 CRFCH	X	6 SFCH	0.92 a	4.04 A
3 AFG	X	5 SFG	1.1 a	5.96 A
4 AFCH	X	6 SFCH	0.96 a	6.34 A
Cruzas recíprocas				
3 AFG	X	1 CRFG	1.1 a	5.85 A
4 AFCH	X	2 CRFCH	0.93 a	4.27 A
5 SFG	X	1 CRFG	1.12 a	4.32 a
5 SFG	X	3 AFG	1.08 a	4.9 a
6 SFCH	X	2 CRFCH	1.15 a	4 a
6 SFCH	X	4 AFCH	0.98 a	5.21 a
Progenitores				
		1 CRFG	0.83 a	5.24 a
		2 CRFCH	1.01 a	4.01 a
		3 AFG	1.2 a	5.42 a
		4 AFCH	1.13 a	6.88 a
		5 SFG	1.05 a	5.84 a
		6 SFCH	1.19 a	2.35 a
		DMS	0.5801	5.09946
				6.13704

FT_verde: flavonoides totales en verde; FT_seco: flavonoides totales en seco; CT: carotenoides totales; mgCT/gMS: miligramos de carotenoides totales por gramo de materia seca; mgFT/gPF: miligramos de flavonoides totales por gramo de peso fresco; mgFT/gMS: miligramos de flavonoides totales por gramo de materia seca.

De manera general se presentó una mayor acumulación de FT en frutos verdes y menor en secos, lo cual concuerda con lo reportado por Małgorzata y Perucka (2010) quienes señalan que conforme madura el fruto disminuye la acumulación de flavonoides.

Sin embargo se observó que la acumulación de FT en algunas cruzas y progenitores se incrementó en fruto seco, tales como 5 SFG x 3AFG (8.04 mg g^{-1}) y 6 SFCH x 2CRFCH (6.27 mg g^{-1}) y los progenitores 4AFCH, 5SFG y 6SFCH con 8.62 mg g^{-1} , 6.22 mg g^{-1} y 5.45 mg g^{-1} respectivamente. En algunos reportes también se ha encontrado un comportamiento similar en la acumulación de FT en frutos de Chile, tal es el caso del tipo Costeño (Vera *et al.* 2011) y el tipo Cayenne (Howard *et al.* 2000) Este incremento de FT en fruto seco se atribuye al genotipo y madurez (Vera *et al.*, 2011).

CONCLUSIONES

No hubo diferencias significativas en la acumulación de carotenoides y flavonoides totales entre los progenitores Chile de Árbol, Cola de Rata y Soledad, ni entre sus cruzas.

En cuanto a la concentración de capsaicinoides las cruzas de Chile de Árbol x Soledad tuvieron una mayor heterosis tanto en verde como en seco, seguida por las cruzas Cola de Rata x Árbol en verde y finalmente Cola de Rata x Soledad.

Los resultados de la medición del color mostraron diferencias en los frutos verdes, siendo los frutos de Soledad los que presentaron una coloración más intensa.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Rincón, V.H., T. Corona Torres, P. López López, L. Latournerie Moreno, M. Ramírez Meraz, H. Villalón Mendoza y J. A. Aguilar Castillo. 2010. Los chiles de México y su distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114 p.
- Arimboor R., R. B. Natarajan, K. Ramakrishna, L. P. Chandrasekhar and V. Moorkoth. 2015. Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability—a review. *Journal of Food Science and Technology* 52:1258-1271.
- Chang C., M. Yang, H. Wen and J. Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10:178–182.
- Collins M. D., L. M. Wasmund and P. W. Bosland. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high performance liquid chromatography. *HortScience* 30(1):137–139.
- Dagnoko S., N. Yaro-Diarisso, S.P. Nadou, O. Adetula, A. Dolo-Nantoumé, K. Gamby-Touré, A. Traoré-Théra, S. Katilé and D. Diallo-Ba. 2013. Overview of pepper (*Capsicum* spp.) breeding in West Africa. *African Journal of Agricultural Research*. 8:1108-1114.
- Hall R.D., M. A. Holden and M. Yeoman. 1987. The accumulation of phenylpropanoid and capsaicinoid compounds in cell cultures and whole fruit of the chilli pepper, *Capsicum frutescens* Mill. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 8:163–176.
- Giuffrida D., P. Dugo, G. Torre, C. Bignardi, A. Cavazza, C. Corradini and D. Dugo. 2013. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry* 140:794-802.
- Guzmán I., P.W. Bosland and M. A. O’Connell. 2011. Heat, color, and flavor compounds in *Capsicum* fruit. In: *The biological activity of phytochemicals*. Vol. 41. D.R. Gang. (Ed.) Springer.
- Howard L. R., S. T. Talcott, C. H. Brenes and B. Villalon. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 1713-1720.

- Howard R. L. and R. Wildman (2006) Antioxidant Vitamin and Phytochemical Content of Fresh and Processed Pepper Fruit (*Capsicum annuum*) In: Handbook of nutraceuticals and functional foods. CRC Press.
- Iqbal Q., M. Amjad, A.M. Rafique and A. Ariño. 2013. Characterization of capsaicinoids and antioxidants in hot peppers as influenced by hybrid and harvesting stage. *Plant Foods for Human Nutrition* 68:358–363.
- Koleva G. L., S. Mitrev, V. Maksimova and D. Spasov. 2013. Content of capsaicin extracted from hot pepper (*Capsicum annuum* ssp. *microcarpum* L.) and its use as an ecopesticide. *Hemijaska industrija*, 67:671-675.
- Kothari S.L., A. Joshi, S. Kachhwaha and N. Ochoa. 2010. Chilli peppers-A review on tissue culture and transgenesis. *Biotechnology Advances* 28:35–48.
- Lightbourn G. J., R.J. Griesbach, J.A. Novotny, B.A. Clevidence, D. D. Rao and J. R. Stommel. 2008. Effects of Anthocyanin and Carotenoid Combinations on Foliage and Immature Fruit Color of *Capsicum annuum* L. *Journal of Heredity* 99:105–111.
- Małgorzata M. and I. Perucka. 2010. Accumulation of phenylpropanoids in green and red pepper fruits of semi-hot cultivars *Capsicum annuum* L. *Acta Agrobotanica* Vol. 63:149-154.
- Martínez M. R., I. Méndez., H. Castañeda., A. M. Vera., J. L. Chávez., J. C. Carrillo (2014) Heterosis interpoblacional en agromorfología y capsaicinoides de chiles nativos de Oaxaca. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 37:199-207.
- Meneses, J. C., R. M. Soto, T. S. Espinosa, M. E. Ramírez. 2008 .Optimización del proceso de extracción de flavonoides de flor de manzanilla (*Matricaria recutita* L.). *Agrociencia* 42: 425–433
- Nagata, M. and I. Yamashita. 1992. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish*. 39:925-928.
- Naresh P., R. K. Madhavi, R.M. Krishna and K. V. Ravishankar. 2012. Variability in Capsaicinoids content and phylogenetic analysis of AT3, an Acyltransferase gene in Chilli (*Capsicum annuum* L.). *Vegetable Science* 39 (1): 16-20.
- Palma, T. M. 2013. Cuantificación de flavonoides y carotenoides en variedades de caléndula (*Calendula officinalis* L.) y descriptores varietales. Tesis presentada como requisitos para obtener el grado de Doctora en Ciencias. Colegio de Postgraduados.

- Pruthi J. S. 2003. Chemistry and quality control of Capsicums and Capsicum products. In: De A.K. (ed.) *Capsicum. The genus Capsicum*.
- Pugliese A., M. R. Loizzo, R. Tundisa, Y. O'Callaghan, K. Galvin, F. Menichini, and N. O'Brien. 2013. The effect of domestic processing on the content and bioaccessibility of carotenoids from chili peppers (*Capsicum* species). *Food Chemistry* 141:2606–2613.
- Serrano M. A. 2009. Efecto de diferentes factores: fertilización, salinidad y procesado, sobre parámetros objetivos de calidad en pimiento. Tesis doctoral. Universidad Católica de Murcia. España.
- Topuz A. and F. Ozdemir. 2007. Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 20:596–602.
- Vera G. M. A., S. J. L. Chávez, R. J. C. Carrillo and G. M. López. 2011 Phytochemical evaluation of wild and cultivated pepper (*Capsicum Annuum* L. and *C. Pubescens* Ruiz & Pav.) from Oaxaca, Mexico. *Chilean Journal of Agricultural Research* 71:578-585.
- Wall M. M., C. A. Waddlen and P.W. Bosland. 2001. Variation in β -Carotene and Total Carotenoid Content in Fruits of *Capsicum*. *HORTSCIENCE* 36(4):746–749. 2001.
- Zewdie Y. and P. W. Bosland. 2000. Capsaicinoid Inheritance in an Interspecific Hybridization of *Capsicum annuum* x *C. chinense*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125:448-453.
- Zewdie, Y. and P. W. Bosland (2001) Capsaicinoids profiles are not good chemotaxonomic indicators for capsaisin species. *Biochemical Systematics and Ecology* 29(2), 161–169.

CAPITULO V. CONCLUSIONES GENERALES

El análisis con microsatélites en poblaciones de chile de Árbol y Soledad mostró que ambos poseen un alto nivel de diversidad genética, por lo que fue posible diferenciar a las poblaciones de chile de Árbol, Cola de Rata y las de Soledad de las diferentes regiones de procedencia. La mayor variabilidad genética se encontró dentro de las poblaciones de chile, lo que sugiere que es posible el uso de dichos materiales en un programa de mejoramiento por selección.

La mejor respuesta heterótica en el rendimiento se obtuvo en las cruzas de chile de Árbol y Cola de Rata con Soledad, de las cuales las cruzas de Árbol x Soledad mostraron una heterosis favorable en el rendimiento de fruto verde, rojo fresco y seco. Esta combinación puede aprovecharse para mejoramiento genético de chile de Árbol para incrementar el rendimiento en seco, así como para incrementar el rendimiento de Soledad para fruto verde. La respuesta heterótica de las cruzas de Cola de Rata x Soledad fue favorable para el rendimiento en fruto verde, por lo tanto esta combinación puede utilizarse para incrementar el rendimiento de fruto verde en chile Soledad.

Los resultados de la heterosis, que fue nula en la acumulación de carotenoides y flavonoides, demostraron que en capsaicinoides la mejor combinación nuevamente fue entre chile de Árbol y Cola de Rata por Soledad.

En cuanto al color, la heterosis fue evidente sólo en fruto verde, con una mayor intensidad de color en el chile Soledad.