



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

GENÉTICA

CARACTERIZACIÓN *ex situ* DE COLECTAS DE CHILE TABAQUERO DE OAXACA

ANGELA GARCÍA ARISTA

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

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2022



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Caracterización ex situ de colectas de chile tabaquero de Oaxaca**, realizada por la estudiante: **Angela García Arista**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
GENÉTICA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

Dr. Víctor Heber Aguilar Rincón

ASESOR

Dr. Tarsicio Corona Torres

ASESOR

M.C. Moisés Ramírez Meraz

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, diciembre de 2022

CARACTERIZACIÓN *ex situ* DE COLECTAS DE CHILE TABAQUERO DE OAXACA

Angela García Arista, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

RESUMEN

En México se puede encontrar una gran variabilidad de chiles cultivados y silvestres, dentro de los cuales existen tipos de chile de importancia regional que han sido poco estudiados. Estas poblaciones poseen un reservorio de genes, los cuales pueden aprovecharse en programas de mejoramiento genético. Dada la importancia del chile en México, se planteó la presente investigación con la finalidad de caracterizar y evaluar 44 colectas de chile tabaquero de Oaxaca, en términos de su variación morfológica, contenido de capsaicinoides y de su resistencia genética a *Phytophthora capsici* LEO. Para la caracterización morfológica, se realizó un análisis multivariado considerando 21 variables morfológicas, el análisis clasificó a las colectas en tres grupos y las variables de mayor contribución a la variabilidad fueron: longitud y ancho de la hoja; longitud y grosor del pedúnculo del fruto; longitud, forma y peso del fruto. En dicha caracterización, también se identificaron tres formas de frutos: alargado, triangular grande y triangular chico. La concentración de capsaicinoides de las colectas se determinó a través de cromatografía líquida de alta resolución utilizando un cromatógrafo Agilent® modelo 1260 equipado con un detector DAD. Con los resultados de concentraciones de capsaicinoides se realizó un análisis de varianza y comparación de medias, donde se observaron diferencias significativas entre colectas, y el 79% de las colectas presentaron valores superiores a 100,000 Unidades Scoville de Picor (USP). También el análisis se llevó a cabo con base a la forma del fruto, donde los frutos alargados fueron los de mayor contenido del alcaloide. En la evaluación de la resistencia genética a *Phytophthora capsici* LEO, se presentaron diferencias significativas entre colectas y dentro de las colectas, hubo plantas que se comportaron como el testigo susceptible, plantas resistentes como el testigo resistente y plantas que tuvieron un desarrollo de la enfermedad más lento que el testigo susceptible. Con base a lo anterior, el chile nativo tabaquero cuenta con potencial para poder ser utilizado en programas de mejoramiento genético de chile.

Palabras clave: Caracterización morfológica, chile nativo, capsaicinoides, *Phytophthora capsici*. Heat Scoville Units (HSU)

EX SITU CHARACTERIZATION OF TABAQUERO CHILI COLLECTIONS FROM OAXACA

Angela García Arista, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2022

ABSTRACT

In Mexico you can find a great variability of cultivated and wild chiles, within which there are types of chili of regional importance that have been little studied. These populations have a reservoir of genes, which can be used in genetic improvement programs. Given the importance of chili in Mexico, this research was proposed in order to characterize and evaluate 44 collections of tabaquero peppers from Oaxaca, in terms of their morphological variation, capsaicinoids content and their genetic resistance to *Phytophthora capsici* LEO. For the morphological characterization, a multivariate analysis was carried out considering 21 morphological variables, the analysis classified the collections into three groups and the variables with the greatest contribution to the variability were: length and width of the sheet; length and thickness of the peduncle of the fruit; length, shape and weight of the fruit. In this characterization, three fruit shapes were also identified: elongated, large triangular and small triangular. The concentration of capsaicinoids of the collections was determined through high-performance liquid chromatography using an Agilent® chromatograph model 1260 equipped with a DAD detector. With the results of capsaicinoids concentrations, an analysis of variance and comparison of means was performed, where significant differences between collections were observed, and 79% of the collections presented values greater than 100,000 Heat Scoville Units (HSU). The analysis was also carried out based on the shape of the fruit, where the elongated fruits were those with the highest content of the alkaloid. In the evaluation of genetic resistance to *Phytophthora capsici* LEO, there were significant differences between collections and within the collections, there were plants that behaved as the susceptible control, resistant plants as the resistant control and plants that had a slower development of the disease than the susceptible control. Based on the above, the native tabaquero pepper has the potential to be used in chili genetic improvement programs.

Key words: Morphological characterization, native chili, capsaicinoids, *Phytophthora capsici*.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados Campus Montecillos, al Programa de Recursos Genéticos y Productividad - Genética, y en especial al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por brindarme los recursos económicos para realizar mis estudios y finalizar el trabajo de investigación.

Al Dr. Víctor Heber Aguilar Rincón por sus valiosas observaciones, contribuciones, paciencia, apoyo, orientación y el tiempo dedicado para la realización de la presente investigación.

Al Dr. Tarsicio Corona Torres por su apoyo, comentarios y sugerencias en el desarrollo de la investigación.

Al M.C. Moisés Ramírez Meraz por su disposición de apoyarme en todo momento y participación para la realización de esta investigación.

Al Dr. Hernán Villar Luna por apoyarme en la evaluación de la resistencia genética a *Phytophthora capsici* de las colectas y disposición en todo momento en la realización de esta investigación.

DEDICATORIA

A mis padres Socorro y Filiberto

A mis hermanos que me brindaron sus consejos Vidal, Jacinto, Martina y Beatriz por siempre contar con su apoyo.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTAS DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	iii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO I. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL CHILE TABAQUERO	4
1.1 RESUMEN	4
1.2 ABSTRACT	5
1.3 INTRODUCCIÓN	6
1.4. OBJETIVO E HIPÓTESIS.....	7
1.4.1 Objetivos.....	7
1.4.2 Hipótesis	7
1.6 MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
1.6.1 Material biológico	8
1.6.2 Establecimiento y manejo del cultivo	10
1.6.3 Caracterización morfológica	10
1.6.4 Análisis estadístico	12
1.7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
1.8 CONCLUSIONES	19
CAPÍTULO II. CONTENIDO DE CAPSAICINOIDES EN CHILE TABAQUERO	
(<i>Capsicum annuum</i>).....	20
2.1 RESUMEN	20
2.2 ABSTRACT	21
2.3 INTRODUCCIÓN	22
2.4. OBJETIVO E HIPÓTESIS.....	23
2.4.1 Objetivos.....	23
2.4.2 Hipótesis	23
2.5 MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
2.5.1 Material vegetal.....	24
2.5.2. Extracción y cuantificación de capsaicinoides	24

2.5.3 Análisis estadístico	25
2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
2.6.1 Contenido de capsaicinoides en frutos de 44 colectas	26
2.7 CONCLUSIONES	31
CAPÍTULO III. EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE CHILE TABAQUERO A	
<i>Phytophthora capsici</i> LEO	32
3.1 RESUMEN	32
3.2 ABSTRACT	33
3.3 INTRODUCCIÓN	34
3.4. OBJETIVO E HIPÓTESIS.....	36
3.4.1 Objetivos.....	36
3.4.2 Hipótesis	36
3.5 MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
3.5.1 Material vegetal.....	36
3.5.2. Incremento del aislamiento de <i>Phytophthora capsici</i>	37
3.5.3 Evaluación de la resistencia	38
3.5.4 Análisis estadístico	39
3.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
3.7 CONCLUSIONES	44
CONCLUSIONES GENERALES	45
LITERATURA CITADA.....	46

LISTAS DE CUADROS

Cuadro 1. Ubicación geográfica de los sitios de colectas de chile nativo tabaquero del Municipio de San Bartolomé Ayautla, Oaxaca.....	9
Cuadro 2. Características morfológicas cualitativas registradas en las 44 colectas de chile tabaquero.....	11
Cuadro 3. Características morfológicas cuantitativas registradas en las 44 colectas de chile tabaquero.....	12
Cuadro 4. Vectores y valores propios del análisis de componentes principales de 21 variables de mayor valor descriptivo de 44 colectas de chile tabaquero.	14
Cuadro 5. Promedio de características morfológicas cuantitativas evaluadas de los grupos encontrados en el análisis de conglomerados de las colectas de chile tabaquero.....	17
Cuadro 6. Características morfológicas cualitativas evaluadas de los grupos encontrados en el análisis de conglomerados de las colectas de chile tabaquero.	18
Cuadro 7. Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de 44 colectas de chile tabaquero.....	28
Cuadro 8. Concentración de capsaicinoides en frutos de chile tabaquero con base a forma del fruto de 11 colectas de chile tabaquero.....	30
Cuadro 9. Análisis de varianza del ABCPE de la severidad de <i>P. capsici</i> en 48 colectas de chile tabaquero.....	39
Cuadro 10. Comparación de medias del ABCPE de 48 colectas de chile tabaquero (<i>Capsicum annuum</i>).	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sitios de colecta de chile tabaquero en el Municipio de San Bartolomé Ayautla, Oaxaca.	8
Figura 2. Dispersión de las 44 colectas de chile tabaquero en función de los primeros dos componentes principales.	15
Figura 3. Dendrograma de 44 colectas de chile tabaquero, por el método de agrupamiento UPGMA con base 21 características morfológicas.....	16
Figura 4. Cromatografía del área bajo la curva en unidades de miliabsorbancia de capsaicina (a) y dihidrocapsaicina (b).	26
Figura 5. Sitios de colecta de chile tabaquero en los Municipios de San Bartolomé Ayautla (1) y San Pedro Teutila (2), Oaxaca.	36
Figura 6. Severidad promedio de la marchitez a los 3, 7, 14 y 21 ddi de 48 colectas de chile Tabaquero.....	42
Figura 7. Número de plantas muertas de las colectas de chile tabaquero y los testigos a los 7, 10, 14 y 21 días de después de la inoculación (ddi).	44

INTRODUCCIÓN GENERAL

El género *Capsicum* spp., pertenece a la familia Solanaceae (Trejo y Rivera, 2018) está formado por alrededor de 30 especies y cinco de las cuales son cultivadas: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens* (Pickersgill, 1989, Bosland & Votava, 2012). La especie más importante y distribuida en el mundo es *Capsicum annuum*, con origen en las montañas de los andes de América del Sur, específicamente en las regiones de lo que hoy es Perú, Colombia, Ecuador y Bolivia (Barchenger y Bosland, 2019; Bosland & Votava, 2012) y México es su principal centro de domesticación (Aguilar *et al.*, 2010). En México se puede encontrar una gran diversidad de recursos fitogenéticos de chiles cultivados de las especies *C. annuum*, *C. frutescens* L., *C. pubescens* (Ruíz & Pav), y *C. chinense* Jacq., además de poblaciones silvestres de *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. ciliatum* y *C. lanceolatum* con gran variabilidad morfológica y genética (De la Cruz-Lázaro *et al.*, 2017). Sin embargo, los trabajos de caracterización son escasos, condición necesaria para un mejor aprovechamiento de los mismos en iniciar programas de mejoramiento genético (López y Castro, 2006).

La producción mundial del chile es aproximadamente de 55 millones de toneladas de chiles verdes y secos, donde los países que destacan son China, México, Indonesia, Turquía y España (FAO, 2022). La superficie sembrada de chile en México es de 149 mil ha, con una producción de 3 millones de toneladas, siendo los chiles tipos ancho, mulato, guajillo o mirasol, jalapeño y serrano con la mayor producción, y los principales estados productores de chile en México son: Zacatecas, San Luis Potosí, Chihuahua y Sinaloa (Pozo, 1981; SIAP, 2022). En el caso específico del estado de Oaxaca, la superficie sembrada de chile es de 2,433 ha, donde destacan los chiles tipo costeño, pasilla, de agua, soledad y tabaquero. La superficie sembrada de chile tabaquero en México es de 351.84 ha, donde destaca el estado de Tabasco con una superficie de 201 ha, seguido por el estado de Oaxaca con 144.5 ha y el estado de Jalisco con 6.34 ha (SIAP, 2022).

El consumo de los frutos del chile puede ser en fresco, deshidratado o procesado (Acosta y Chávez, 2003). Estos contienen muchas de sustancias químicas, que incluyen agua, aceites, carotenoides, alcaloides, resina, proteínas, elementos minerales de fibra y muchas otras sustancias químicas, que les confieren importancia económica, valor

nutricional, medicinal e incluso cosmético (Bosland & Votava, 2012), debido a ello es un condimento de mayor importancia económica a nivel mundial (Castro *et al.*, 2012).

Los capsaicinoides son un grupo de alcaloides que se sintetizan únicamente en los frutos del género *Capsicum* y es la cantidad acumulada de éstos, la responsable de su picor (Vázquez *et al.*, 2007), la mayor concentración se sintetiza y acumula en el tejido placentario (Vázquez *et al.*, 2007). Se conocen 22 compuestos análogos diferentes (Bosland & Votava, 2012), de los cuales la capsaicina y la dihidrocapsaicina constituyen cerca del 90% de los capsaicinoides totales en el fruto (Betts, 1999; Giunfrida *et al.*, 2013).

No obstante, la importancia del chile a nivel mundial, su producción se ha visto afectada por diversos patógenos causantes de siniestros parciales o totales (Guigón y González, 2001). Dentro de éstos se encuentran hongos, bacterias, virus y nemátodos, cuyas afectaciones pueden variar de acuerdo a la región en que se ubiquen (Hernández *et al.*, 1991; Guigón y González, 2001). La enfermedad más devastadora del cultivo de chile es *Phytophthora capsici* LEO, conocida como “marchitez del chile”, este fitopatógeno tiene una alta capacidad de infección y puede infectar las raíces, flores, tallos, hojas y frutos del chile provocando el tizón foliar, la pudrición de frutos y la pudrición de raíz y tallo (Castro *et al.*, 2012). Para el manejo de esta enfermedad, se han desarrollado estrategias de control, tales como son: aplicación de antagonistas como control biológico, prácticas culturales, solarización del suelo, aplicación de materia orgánica y control químico; las cuales no han sido completamente efectivas (Chávez *et al.*, 1995; Bautista *et al.*, 2014, Castro *et al.*, 2012). El uso de variedades resistentes es la alternativa más efectiva y ambientalmente amigable para el control de *P. capsici* (Ogundiwin *et al.*, 2005).

En la actualidad se han detectado diferentes fuentes de resistencia genética a *P. capsici* como son: el chile serrano CM-334 (Guerrero y Laborde, 1980), el cual ha mostrado una resistencia universal a los aislamientos de *P. capsici*; además, se han reportado accesiones de chile con cierto nivel resistencia como son: la línea “PI 201232”, “PI 201234”, “Fyuco”, “Línea 29 (Barksdale *et al.*, 1984; Ortega *et al.*, 1991; Roig *et al.*, 2009), “Línea 41-1”, “Línea 33.3”, “Línea 34.1” y “Línea 35.3”, estas últimas cuatro líneas

fueron resistentes a los nemátodos agalladores *M. incognita* y *N. aberrans* (Gómez *et al.*, 2017; Palma *et al.*, 2017; Villar *et al.*, 2022).

La diversidad genética es esencial para la producción agrícola sostenible (Zhou *et al.*, 2002), que puede contribuir al mejoramiento genético del cultivo (Moreno-Pérez *et al.*, 2011) en el desarrollo de materiales con mejores rendimientos y baja susceptibilidad a plagas y enfermedades (Cui *et al.*, 2001). En las poblaciones nativas se encuentra un reservorio de genes de resistencia a diversas enfermedades que debe ser explorado para identificar germoplasma como fuente de resistencia (Morán *et al.*, 2010; Laborde y Pozo, 1984). Por lo anterior, se planteó realizar la caracterización morfológica del chile nativo tabaquero, así como determinar el contenido de capsaicinoides en los frutos y conocer si existe resistencia genética a *P. capsici* en este tipo de chile.

CAPÍTULO I. CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL CHILE TABAQUERO

1.1 RESUMEN

En México el cultivo del chile es muy importante y cuenta con una gran diversidad de los mismos. Esta diversidad se compone de chiles cultivados y silvestres con gran variabilidad morfológica y genética, sin embargo, mucho de ellos no han sido caracterizados, condición necesaria para que puedan ser incluidos en un programa de mejoramiento genético. Uno de los chiles “semidomesticados” de importancia regional es el conocido como chile “Tabaquero”. El presente estudio tuvo como objetivo realizar la caracterización morfológica de 44 colectas del chile nativo “Tabaquero” de Oaxaca. Se evaluaron 47 características morfológicas con base a los descriptores de *Capsicum* (*Capsicum spp.*) (IPGRI, 1995). Con la finalidad de determinar el valor clasificatorio de cada variable, se procedió a calcular la media (variables cuantitativas) y la moda (variables cualitativas) de cada colecta y se procedió a realizar un primer Análisis de Componentes Principales (ACP) con 26 variables que mostraron diferencias entre colectas, y determinó que 21 variables describían la variabilidad de las colectas y con base a ellas se realizó un segundo ACP. Posteriormente se realizó un análisis de conglomerados jerárquicos (ACJ) mediante UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) con distancia euclidiana. El ACP con los primeros siete componentes principales (CP) explica 74.94 % de la varianza total. El CP1 explicó el 21.7 %, las variables de mayor contribución fueron: longitud, ancho de la hoja; longitud y grosor del pedúnculo; peso, longitud, forma y diámetro del fruto. El CP2 explicó el 17.23 % y las variables que contribuyeron fueron: la longitud, forma y peso del fruto; y longitud de la hoja. El ACJ, agrupó a las colectas en 3 grupos, 5 colectas en el Grupo I, 15 en el Grupo II y 24 en el Grupo III. Los resultados observados en las colectas de chile tabaquero, indican la variabilidad morfológica que existe en este tipo de chile, así como las principales características que lo distinguen.

Palabras clave: Diversidad, caracterización *ex situ*, colectas, chile nativo.

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TABAQUERO PEPPER

1.2 ABSTRACT

In Mexico, the cultivation of chili is very important and has a great diversity of them. This diversity is composed of cultivated and wild chili peppers with great morphological and genetic variability, however, many of them have not been characterized, a necessary condition for them to be included in a genetic improvement program. One of the "semi-domesticated" chiles of regional importance is known as "Tabaquero" chili. The present study aimed to perform the morphological characterization of 44 collections of the native chili "Tabaquero" of Oaxaca. 47 morphological characteristics were evaluated based on the descriptors of *Capsicum* (*Capsicum* spp.) (IPGRI, 1995). In order to determine the classification value of each variable, we proceeded to calculate the mean (quantitative variables) and mode (qualitative variables) of each collection and proceeded to perform a first Principal Component Analysis (PCA) with 26 variables that showed differences between collections, and determined that 21 variables described the variability of the collections and based on them a second PCA was made. Subsequently, a hierarchical cluster analysis (YCA) was performed using UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) with Euclidean distance. The PCA with the first seven principal components (CP) explains 74.94% of the total variance. The CP1 explained 21.7%, the variables with the highest contribution were: length, sheet width; length and thickness of the peduncle; weight, length, shape and diameter of the fruit. The CP2 explained 17.23 % and the variables that contributed were: the length, shape and weight of the fruit; and blade length. The ACJ grouped the collections into 3 groups, 5 collections in Group I, 15 in Group II and 24 in Group III. The results observed in the collections of tabaquero pepper, indicate the morphological variability that exists in this type of chili, as well as the main characteristics that distinguish it.

Keywords: Diversity, ex situ characterization, collections, native chile

1.3 INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum* spp.) fue una de las primeras plantas domesticadas en el Continente Americano (Hernández-Verdugo *et al.*, 2012), el cual pertenece a la familia solanáceas (Eshbaugh, 1980). El género *Capsicum* spp., está formado por alrededor de 30 especies, cinco de ellas son cultivadas: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens* (Pickersgill, 1989; Bosland & Votava, 2012). *C. annuum* es la especie más importante, y México es su principal centro de domesticación y diversificación (Pickersgill, 2007)

En México se puede encontrar una gran diversidad de recursos fitogenéticos de chiles cultivados de las especies *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. pubescens* (Ruíz & Pav), y *C. chinense* Jacq., además de poblaciones silvestres de *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. ciliatum* y *C. lanceolatum* con gran variabilidad morfológica y genética (De la Cruz-Lázaro *et al.*, 2017). Sin embargo, algunas de estas poblaciones se encuentran bajo erosión genética debido al abandono de la actividad agrícola, problemas fitosanitarios y poco control en el flujo de germoplasma que se utiliza en las parcelas agrícolas (Aguilar *et al.*, 2006).

La diversidad genética es esencial para la producción agrícola sostenible (Zhou *et al.*, 2002), que puede contribuir al mejoramiento genético de la especie (Moreno-Pérez *et al.*, 2011) y el desarrollo de cultivares con alto rendimiento y baja susceptibilidad a plagas y enfermedades (Cui *et al.*, 2001). Para la conservación de esta diversidad de chiles, es necesario conocer la diversidad mantenida por miles de años a nivel local y regional bajo condiciones de la agricultura tradicional, establecer un diagnóstico y una estrategia para un mejor aprovechamiento de los materiales nativos (Chávez *et al.*, 2004).

El estado de Oaxaca es una fuente de diversidad y variabilidad genética de varios cultivos como son: maíz, frijol, calabaza y chile; los cuales pueden ser usados en programas de mejoramiento genético (López y Castro, 2006). En cuanto al cultivo de chile (*Capsicum* spp), se presenta una gran variación, por mencionar algunos tipos: Costeño, Taviche, Tusta, Coxtle, de Agua, Huacle, Piquín, Mirasol, Tabaquero (López y

Castro 2006). El mejoramiento de estos tipos de chiles ha sido a través de la selección que los productores han llevado a cabo en sus propios cultivos; así, los materiales obtenidos presentan alta variabilidad aún no caracterizada, condición necesaria para iniciar un programa de mejoramiento genético, sin embargo, los trabajos de caracterización son escasos (López y Castro 2006). Algunos tipos de chile en los que se han realizado estudios de caracterización morfológica son: chile Solterito, Taviche, de Agua, Tusta, Piquín, Nanche, Tabaquero, Huacle (Martínez-Sánchez *et al.*, 2010; Castellón *et al.*, 2014; López y Pérez, 2015).

La caracterización es el primer paso en el mejoramiento de los cultivos y programas de conservación, se lleva a cabo mediante el uso de descriptores definidos que permiten diferenciar taxonómicamente a las plantas, al realizar la caracterización se deben utilizar variables morfológicas confiables que discriminen permitiendo así la diferenciación entre grupos (Hernández, 2013).

Debido a las situaciones mencionadas y a la necesidad de contar con información de los caracteres morfológicos que expliquen la variabilidad presente en el chile tabaquero de Oaxaca, se planteó el siguiente objetivo:

1.4. OBJETIVO E HIPÓTESIS

1.4.1 Objetivos

- Colectar y caracterizar morfológicamente *ex situ* de 44 accesiones de chile tabaquero.

1.4.2 Hipótesis

- Existe diferencias morfológicas entre las colectas de chile tabaquero.

1.6 MATERIALES Y MÉTODOS

1.6.1 Material biológico

Se colectaron 44 accesiones de chile nativo tabaquero en el Municipio de San Bartolomé Ayautla (Figura 1 y Cuadro 1). El tamaño de las muestras colectadas varió de acuerdo a lo disponible del productor de 50 a 200 g de frutos secos.



Figura 1. Sitios de colecta de chile tabaquero en el Municipio de San Bartolomé Ayautla, Oaxaca.

Cuadro 1. Ubicación geográfica de los sitios de colectas de chile nativo tabaquero del Municipio de San Bartolomé Ayautla, Oaxaca.

Colecta	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (msnm)
T-1	18°01'42.54"	96°40'14.46"	972
T-2	18°01'42.08"	96°39'25.8"	709
T-3	18°01'33.51"	96°39'37.06"	638
T-4	18°01'32.34"	96°39'24.31"	601
T-5	18°01'39.18"	96°39'16.15"	855
T-6	18°02'48.17"	96°41'38.87"	1007
T-7	18°02'44.81"	96°41'44.96"	1025
T-8	18°02'41.95"	96°41'21.29"	975
T-9	18°02'34.31"	96°41'16.83"	881
T-10	18°02'09.91"	96°40'18.64"	797
T-11	18°01'44.47"	96°40'20.33"	614
T-12	18°01'34.24"	96°39'21.44"	611
T-13	18°02'40.40"	96°41'33.50"	950
T-14	18°02'28.39"	96°40'58.33"	965
T-15	18°01'49.02"	96°39'47.49"	697
T-16	18°01'26.66"	96°39'09.19"	487
T-17	18°02'17.65"	96°40'51.09"	891
T-18	18°01'50.83"	96°39'49.70"	696
T-19	18°01'33.03"	96°39'27.67"	619
T-20	18°01'36.67"	96°38'45.09"	489
T-21	18°01'47.65"	96°39'46.26"	698
T-22	18°02'13.49"	96°40'34.80"	820
T-23	18°01'35.07"	96°39'33.98"	649
T-24	18°02'45.29"	96°41'49.52"	1051
T-25	18°01'44.84"	96°39'41.47"	714
T-26	18°01'30.56"	96°38'57.97"	501
T-27	18°02'07.38"	96°40'35.36"	744
T-28	18°02'05.19"	96°40'54.95"	749
T-29	18°01'52.33"	96°41'32.46"	857
T-30	18°01'18.07"	96°39'23.59"	549
T-31	18°02'13.29"	96°40'33.53"	818
T-32	18°01'49.57"	96°38'30.28"	406
T-33	18°01'53.20"	96°39'49.68"	714
T-34	18°01'30.79"	96°38'46.26"	465
T-35	18°02'09.82"	96°38'39.15"	495
T-36	18°01'37.18"	96°39'13.66"	628
T-37	18°01'47.28"	96°38'33.27"	426
T-38	18°01'32.07"	96°39'56.05"	628
T-39	18°02'21.24"	96°41'27.68"	842
T-40	18°01'39.41"	96°39'57.35"	638
T-41	18°01'48.39"	96°39'52.25"	671
T-42	18°02'06.08"	96°40'35.39"	732

Colecta	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (msnm)
T-43	18°01'37.37"	96°39'36.51"	673
T-44	18°02'36.57"	96°41'12.74"	914

1.6.2 Establecimiento y manejo del cultivo

El experimento se realizó bajo condiciones de invernadero en Montecillo, Estado de México. De cada colecta se tomó una muestra de 40 semillas y se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades (2 semillas por cavidad); a los 8 días después de la emergencia (dde) se aplicó enraizador, y a los 15 dde se inició con la fertilización (Ultrasol inicial®); posteriormente a los 50 dde se realizó el trasplante, se sembraron 15 plántulas por cada colecta, en bolsas negras de polietileno de 8 litros de capacidad con tierra de monte y peatmoss de una relación 6:1 y se cultivaron hasta la cosecha de sus frutos.

Los riegos se llevaron a cabo con base a las necesidades de las plantas y la fertilización se aplicó una vez a la semana y consistió a base de los fertilizantes Ultrasol inicial® (15 dde a 40 dde), Ultrasol desarrollo® (41 dde a 80 dde), Ultrasol crecimiento® (inicio de floración), Ultrasol producción® (inicio de fructificación). Las plagas que se presentaron fueron: mosquita blanca, paratrioza y araña roja, y la enfermedad que se presentó fue cenicilla, se aplicaron los productos químicos necesarios para su erradicación.

1.6.3 Caracterización morfológica

Se registraron 47 características morfológicas de tipo vegetativo, flor y fruto (Cuadro 2 y 3), con base a los descriptores de Capsicum (*Capsicum* spp.) (IPGRI, 1995).

Cuadro 2. Características morfológicas cualitativas registradas en las 44 colectas de Chile tabaquero

CLAVE	CARACTERÍSTICA	ESCALA
ANP	Antocianinas en hipocótilo de	Nominal: 0 ausente a 1 presente
HAC	Hábito de crecimiento	Nominal: 3 erecta a 7 postrada
MPB	Amacollamiento o brotes basales	Ordinal: 3 escaso a 7 denso
ANN	Antocianinas en los nudos	Ordinal: 3 ausente a 9 muy fuerte
PTA	Pubescencia del tallo	Ordinal: 3 escasa a 7 densa
FHO	Forma de la hoja	Nominal: 1 deltoide a 3 lanceolada
CHO	Color de la hoja	Nominal: 3 verde claro a 7 verde
PPH	Posición pedúnculo de hoja	Ordinal: 1 erecto a 2 no erecto
MHO	Margen de la hoja	Nominal: 3 entera a 7 ciliada
PHO	Pubescencia de la hoja	Ordinal: 3 escasa a 7 densa
PFL	Posición de la flor	Ordinal: 3 erecta a 7 pendiente
CAN	Color de las anteras	Nominal: 1 blancas a 3 morado
CFI	Color del filamento	Nominal: 1 blanco a 3 morado
EES	Excerción del estigma	Ordinal: 3 inserto a 7 exerto
CFM	Color del fruto antes de la madurez	Nominal: 1 blanco verdoso a 4
ICaM	Intensidad del color del fruto antes madurez	Ordinal: 3 claro a 7 oscuro
PFR	Posición del fruto	Ordinal: 1 erecta a 3 pendiente
FFR	Forma del fruto	Nominal: 1 triangular chico a 3
FTF	Forma transversal del fruto	Nominal: 1 elíptica a 3 circular
CMF	Color en madurez del fruto	Nominal: 1 amarillo a 4 café
ICM	Intensidad del color del fruto en	Ordinal: 3 claro a 7 oscuro
BFR	Brillantez del fruto	Ordinal: 3 débil a 7 fuerte
CPF	Cavidad peduncular del fruto	Nominal: 1 ausente a 2 presente
FAF	Forma del ápice del fruto	Nominal: 1 agudo a 4 hundido y
TFR	Textura del fruto	Nominal: 1 liso a 3 rugoso
PPF	Posición de la placenta del fruto	Nominal: 3 compacta a 7 distribuida
ACF	Aspecto del cáliz	Nominal: 0 no desarrollado a 1
MCF	Margen del cáliz	Nominal: 1 entero a 4 otro
PCA	Pigmentación del cáliz	Nominal: 1 ausente a 1 presente

Cuadro 3. Características morfológicas cuantitativas registradas en las 44 colectas de chile tabaquero.

CLAVE	CARACTERÍSTICA	ESCALA
LTa	Longitud del tallo	cm
DTa	Diámetro del tallo	cm
APL	Altura de la planta	cm
AnP	Ancho de la planta	cm
APB	Altura del primer brote basal	cm
LHO	Longitud de la hoja	cm
AHO	Ancho de la hoja	cm
LOP	Longitud del peciolo	cm
NPE	Número de pétalos	Nominal
FAX	Flores por axila	Nominal
LFR	Longitud fruto	cm
DFR	Diámetro del fruto	cm
GRP	Grosor del pericarpio	cm
LPE	Longitud del pedúnculo	cm
GPE	Grosor del pedúnculo	cm
PEF	Peso de fruto	Nominal
IFL	Inicio de Floración	Nominal
MFR	Inicio de maduración del fruto	Nominal

1.6.4 Análisis estadístico

Con la finalidad de determinar el valor clasificadorio de cada variable, se procedió a calcular la media de las variables cuantitativas y la moda en las variables cualitativas de cada colecta y se procedió a realizar un primer Análisis de Componentes Principales (ACP), donde se incluyeron las 44 colectas y 47 variables. Este primer análisis nos determinó que 21 variables describían la variabilidad de las colectas; con las que se procedió a realizar un segundo ACP. Posteriormente se realizó un análisis de conglomerados jerárquicos (ACJ) mediante UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean) y con la distancia euclidiana. También se realizaron la comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$) de las variables que describieron la variabilidad de las colectas. Se utilizó para el análisis el software estadístico R Project versión 4.2.2. (R Core Team, 2022).

1.7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 47 variables registradas 21 variables (ANP, FHO, CHO, PPH, MHO, CAN, CFI, EES, CFM, ICaM, FTF, CMF, ICM, BFR, CPF, TFR, PPF, ACF, MCF, PCA y NPE) no presentaron diferencias entre las colectas de Chile tabaquero, por lo tanto, estos caracteres no fueron incluidas en el análisis multivariado. Además, se observó que el fruto del Chile es deciduo (fruto en madurez, se desprende del cáliz).

El primer ACP con 26 variables mostró que el CP1, CP2 y CP3 solo explicaba el 42 % de variabilidad morfológica total. En otros estudios han realizado reducciones de variables que no tengan un aporte significativo en la explicación del CP1, para la mejora del ACP (Castañón-Nájera *et al.*, 2008). Por lo tanto, en este estudio para obtener un mejor ACP, se realizó un segundo ACP con 21 variables (LHO, PEF, LPE, GPE, LFR, AHO, FFR, DFR, LOP, PTA, APB, ANN, APL, AnP, LTa, GRP, MFR, DTa, FAF, MPB y PHO) que su contribución fue mayor en el primer ACP. En el segundo ACP se tiene una mejor explicación de la variabilidad que fue de 48.6 % con los tres primeros componentes (Cuadro 4).

En el ACP, con los primeros siete componentes principales se explica el 74.94 % de la varianza total. El CP1 explicó el 21.71 % de la variación total, donde las variables de mayor contribución fue LHO, PEF, LPE, GPE, LFR, AHO, FFR y DFR. Este componente estuvo explicado por 2 variables de tipo vegetativo y 6 variables del fruto. El CP2 explicó el 17.23 % y las variables que contribuyeron fueron: LFR, PEF, FFR, LHO y DTa, donde 4 variables son del fruto y uno de tipo vegetativo; se observa que las variables LHO, PEF, LFR y FFR contribuyen en los CP1 y CP2. En el CP3 las 4 variables que contribuyeron con una mayor proporción son: ANN, PTA, LOP y APL.

Cuadro 4. Vectores y valores propios del análisis de componentes principales de 21 variables de mayor valor descriptivo de 44 colectas de chile tabaquero.

Variable	CP1	CP2	CP3
Longitud de la hoja	0.687	0.603	0.254
Peso de 10 frutos	0.631	-0.597	0.075
Longitud del pedúnculo	0.621	0.074	-0.054
Grosor del pedúnculo	0.611	-0.047	0.082
Longitud fruto	0.565	-0.715	-0.043
Ancho de la hoja	0.556	0.435	0.413
Forma del fruto	0.542	-0.579	0.018
Diámetro del fruto	0.516	-0.356	0.263
Longitud del peciolo	0.488	0.443	0.528
Pubescencia del tallo	0.443	0.357	-0.540
Altura del primer brote basal	0.415	0.156	-0.387
Antocianinas en los nudos	0.385	0.014	-0.621
Altura de la planta	0.349	0.292	0.494
Ancho de la planta	0.338	0.494	-0.406
Longitud del tallo	0.326	-0.363	-0.186
Grosor del pericarpio	0.293	-0.199	0.103
Inicio de maduración del fruto	0.055	0.441	-0.024
Diámetro del tallo	-0.014	0.501	-0.100
Forma del ápice del fruto	-0.154	0.485	-0.163
Amacollamiento o brotes basales	-0.483	0.197	0.263
Pubescencia de la hoja	-0.546	-0.402	0.203
Valor propio	4.56	3.62	2.03
Variación explicada	21.71	17.23	9.66
Variación acumulada	21.71	38.94	48.60

En la Figura 2, se observa la dispersión de las colectas en función de los primeros dos componentes principales. La distribución de las colectas se encuentra en los cuatro cuadrantes de la gráfica, lo que indica variación en las características que contribuyen en el CP1 y CP2. En el cuadrante I se agrupan 12 colectas (T1, T2, T3, T4, T39, T38, T6, T8, T43, T44, T15, T12 y T20), estas colectas se agrupan en este cuadrante por características tipo vegetativo como son LHO, AHO, PTA, LPE y característica del fruto LOP.

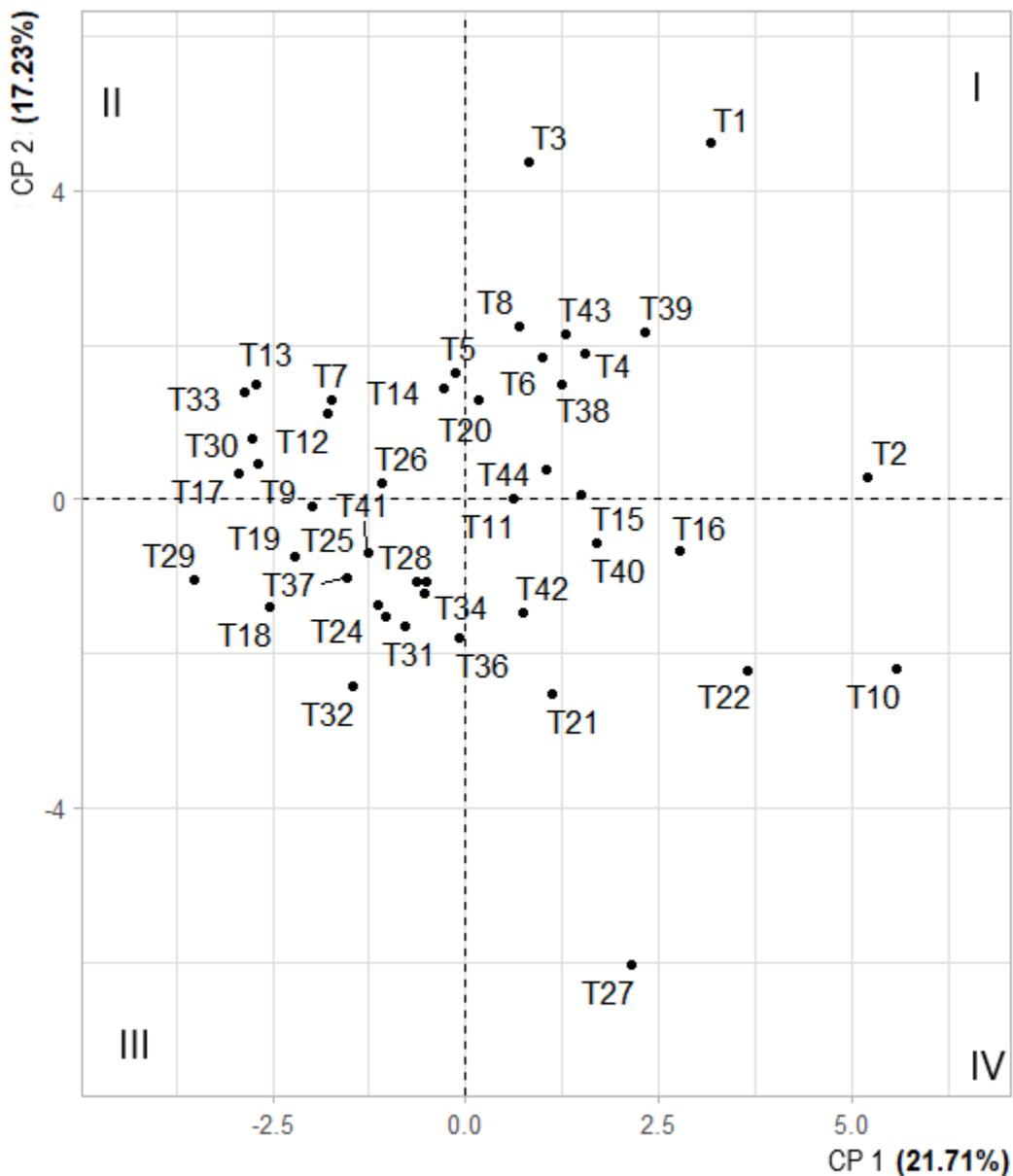


Figura 2. Dispersión de las 44 colectas de chile tabaquero en función de los primeros dos componentes principales.

En el cuadrante II se distribuyen 10 colectas (T13, T7, T14, T5, T26, T17, T33, T30, T4 y T9) se definen en este cuadrante por las variables DTa, MPB y FAF. En el cuadrante III se observan distribuidas 14 colectas (T35, T23, T34, T25, T28, T41, T24, T36, T19, T31, T32, T29, T37 y T18) este grupo de colectas se distinguen por tener una LOH de 4.64 cm, LFR de 2.25 cm y 4.01 g de PEF. En el cuadrante IV podemos observar 8

colectas (T10, T27, T22, T21, T42, T40, T16 y T11) donde la LHO es de un promedio de 4.67 cm, AHO de 2.76 cm, LFR de 2.56 y PEF de 4.43.

Los resultados del análisis de conglomerados, utilizando como coeficiente de similitud la distancia euclidiana y el método de agrupación UPGMA, se presenta el dendrograma de la Figura 3, donde la agrupación muestra consistencia con la dispersión observada en la Figura 2. A una distancia de 11.6 se identifican tres grupos, en el Grupo I se agrupan 5 colectas de chile tabaquero (T27, T10, T22, T2 y T16), las cuales se distinguen por las siguientes características: LTa de 21.94 cm de un DTa de 1.57 cm; ALP de 147.64 cm; LOH de 5.14 cm, AHO de 2.71 cm y LOP de 2.45 cm; LFR de 2.76 cm, DFR de 0.86 cm, GPE de 0.08 cm y PEF de 4.74 g. También se pueden encontrar dentro de este grupo tres formas de frutos: alargados (4 colectas) y triangular grande (una colecta).

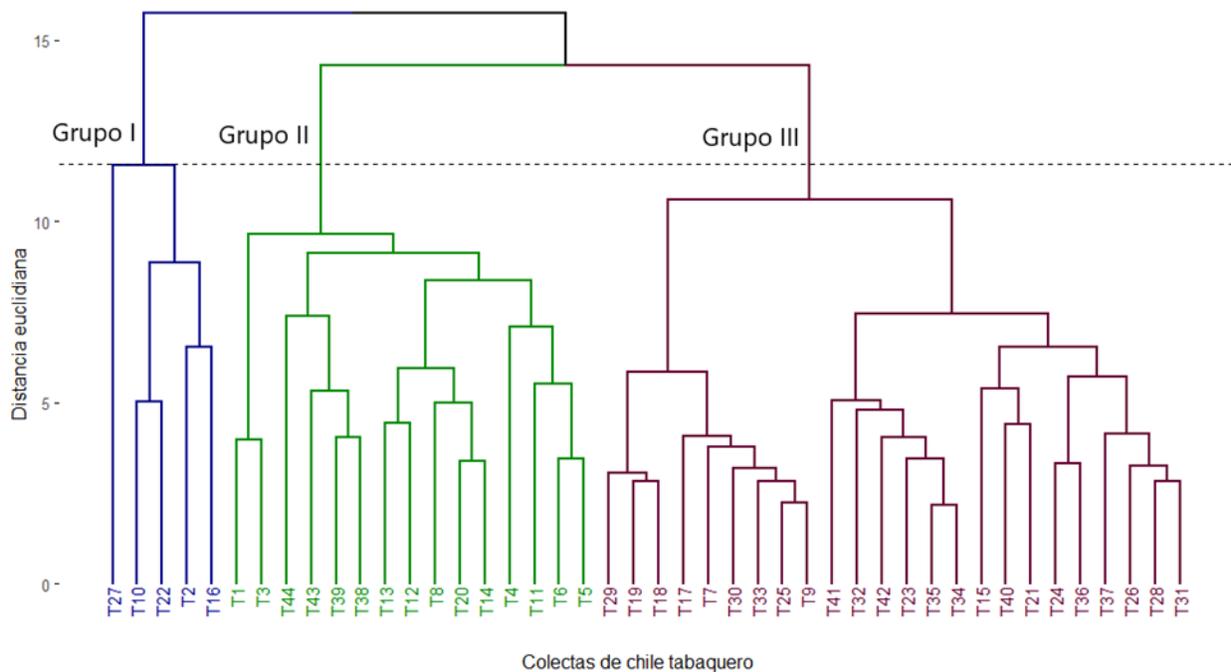


Figura 3. Dendrograma de 44 colectas de chile tabaquero, por el método de agrupamiento UPGMA con base 21 características morfológicas.

Cuadro 5. Promedio de características morfológicas cuantitativas evaluadas de los grupos encontrados en el análisis de conglomerados de las colectas de chile tabaquero.

Variable	Grupos		
	I	II	III
Longitud del tallo	21.94 a	17.52 ab	19.24 b
Diámetro del talo	1.57 a	1.64 a	1.57 a
Altura de la planta	147.64 a	153.84 a	147.47 a
Ancho de la planta	42.82 a	45.31 a	40.05 a
Altura del primer brote basal	2.27 a	1.94 ab	1.78 b
Longitud de la hoja	5.14 a	5.31 a	4.73 b
Ancho de la hoja	2.71 ab	2.90 a	2.59 b
Longitud del peciolo	2.45 ab	2.65 a	2.30 b
Longitud del fruto	2.76 a	2.05 b	2.23 b
Diámetro del fruto	0.86 a	0.81 ab	0.79 b
Grosor del pericarpio	0.086 a	0.082 a	0.079 a
Longitud del pedúnculo	2.05 a	1.95 a	1.91 a
Grosor del pedúnculo	0.19 a	0.18 a	0.18 a
Peso de 10 frutos	4.74 a	3.80 b	3.97 b
Inicio de maduración de frutos	114.52 a	117.59 a	114.81 a

Valores con la misma letra en las filas, no existe diferencia significativa (Tukey, 0.05).

En el Grupo II, se ubican 15 colectas (T1, T3, T44, T43, T38, T39, T12, T13, T8, T14, T20, T4, T11, T5 y T6), estas colectas tienen características: LTA de 17.52 cm y DTA de 1.64 cm; ALP de 153.84 cm; LOH de 5.31 cm, AHO de 2.90 cm y LOP de 2.65 cm; LFR de 2.05 cm, DFR de 0.81 cm, GRP de 0.08 y PEF de 3.80 g.; la forma de los frutos presentes en este grupo son triangular chico y grande.

Por otro lado, en el Grupo III, se agrupan 24 colectas, este grupo se caracteriza por presentar: ALP de 147 cm, LTA de 19.24 cm y DTA de 1.57 cm; LOH de 4.73 cm, AHO de 2.59 cm y LOP de 2.30 cm; LFR de 2.23 cm, DFR de 0.79 cm y PEF de 3.97 g; además, las colectas presentan frutos de forma alargada, triangular grande y chico.

Cuadro 6. Características morfológicas cualitativas evaluadas de los grupos encontrados en el análisis de conglomerados de las colectas de chile tabaquero.

Variable	Grupos		
	I	II	III
Brotes basales	Escasa (3) Intermedio (2)	Escasa (1) Intermedio (14)	Intermedio (24)
Antocianinas en los nudos	Medio (3) Fuerte (2)	Ausente (1) Medio (12) Fuerte (2)	Medio (24)
Pubescencia del tallo	Intermedia (3) Densa (2)	Escasa (14) Intermedia (2)	Escasa (24)
Pubescencia de la hoja	Escasa (4) Media (1)	Escasa (9) Media (6)	Escasa (1) Media (23)
Forma del fruto	Triangular grande (1) Alargado (4)	Triangular chico (9) Triangular grande (6)	Triangular chico (9) Triangular grande (10) Alargado (5)
Forma del ápice del fruto	Agudo (1) Redondeado (4)	Redondeado (15)	Redondeado (24)

() número de colectas

En los Cuadros 5 y 6, se observa que en 8 variables no hubo diferencias significativas entre los tres Grupos. Entre el Grupo I y II, se observa diferencia significativa en las variables LFR y PEF; entre el Grupo I y II, hubo diferencias significativas en las variables LTA, APB, LOH, LFR, DFR y PEF. Por otro lado, entre el Grupo II y III, las variables donde hubo diferencias significativas son LOH y AHO. Por lo tanto, existe mayor similitud entre los grupos II y III.

No obstante, que la caracterización de las colectas de chile tabaquero sirve como base para el conocimiento de la diversidad y variabilidad que existe en este chile nativo, debe de considerarse que el estudio se realizó con colectas de un municipio, de aquí que existe la posibilidad que exista una mayor variación, tal como lo muestra el estudio de López y Castro, (2006), quienes utilizaron 14 accesiones de chile tabaquero del estado de Oaxaca (región del Papaloapan y la Cañada) presentando valores promedio en la longitud de la hoja 8.7 cm, ancho de la hoja 4.2 cm, el peciolo de 7.1 cm, el cáliz presenta pigmentación, frutos de forma alargada y posición del fruto de forma horizontal, estos

resultados son completamente diferentes a los obtenidos, lo que significa que existe una gran variabilidad de este tipo de chile.

La información de este estudio amplía el conocimiento del chile tabaquero, el que permite ser utilizados en un programa de mejoramiento de manera más eficiente.

1.8 CONCLUSIONES

De las 47 características evaluadas, en 26 de ellas se observó variabilidad morfológica. Las características más distintivas entre las colectas fueron: largo y ancho de la hoja; largo y grosor del pedúnculo; largo, diámetro y forma de fruto, y peso de fruto. Dentro de las colectas se presentaron tres formas de fruto: alargado, triangular grande y triangular chico. Las colectas se agruparon en 3 grupos, en el Grupo I se concentraron 5 colectas, en el Grupo II 15 colectas y 24 colectas en el Grupo III.

CAPÍTULO II. CONTENIDO DE CAPSAICINOIDES EN CHILE TABAQUERO **(*Capsicum annuum*)**

2.1 RESUMEN

México presenta la mayor diversidad de chile (*Capsicum annuum* L.), el cual es parte indispensable de los platillos nacionales, ya que aporta sabor, color, picor y aroma. Los responsables del picor del chile son los compuestos denominados capsaicinoides. La concentración de estos compuestos varía, entre otros factores, por el tipo de chile, el nivel de madurez de fruto, las condiciones de estrés, fertilización, etc. De la amplia diversidad de chiles en México, los análisis del contenido de capsaicinoides se han realizado en los tipos de chiles económicamente más importantes, sin embargo, muchos de los chiles nativos de importancia regional, como es el caso del chile tipo “Tabaquero” no han sido estudiados. Este tipo de chile se caracteriza por presentar al menos tres formas de fruto dentro de una misma colecta, alargados, triangular grande y triangular chico. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar el contenido de capsaicinoides de 44 colectas de chile Tabaquero y el contenido de acuerdo a la forma del fruto. Para la determinación del contenido de capsaicinoides se hizo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias. Se encontraron diferencias significativas entre las colectas, las que presentaron concentraciones de capsaicinoides desde 26,907 hasta 163,592 USP. En cuanto a la concentración del alcaloide según la forma del fruto, los frutos alargados fueron los que presentaron una mayor concentración, variando de 120,704 a 218,263 USP, y los frutos de forma triangular grande y chico, presentaron concentraciones que fluctuaron de 72,501 a 154,186 USP.

Palabras clave: capsaicina, dihidrocapsaicina, chile nativo, Scoville, HPLC

CONTENT OF CAPSAICINOIDS IN TABAQUERO PEPPER (*Capsicum annuum*)

2.2 ABSTRACT

Mexico presents the greatest diversity of chili (*Capsicum annuum* L.), which is an indispensable part of national dishes, as it provides flavor, color, spiciness and aroma. Those responsible for the chili pepper are the compounds called capsaicinoids. The concentration of these compounds varies, among other factors, by the type of chili, the level of fruit maturity, stress conditions, fertilization, etc. Of the wide diversity of chili peppers in Mexico, analyses of capsaicinoid content have been performed on the most economically important types of chili peppers, however, many of the native chiles of regional importance, such as the "Tabaquero" type chili, have not been studied. This type of chili is characterized by presenting at least three forms of fruit within the same collection, elongated, large triangular and small triangular. Therefore, the objective of this research was to determine the capsaicinoid content of 44 tabaquero pepper collections and the content according to the shape of the fruit. For the determination of the content of capsaicinoids was done by high performance liquid chromatography (HPLC). An analysis of variance and a comparison of means were performed. Significant differences were found between the collections, which presented capsaicinoid concentrations ranging from 26,907 to 163,592 USP. Regarding the concentration of the alkaloid according to the shape of the fruit, the elongated fruits were those that presented a higher concentration, varying from 120,704 to 218,263 USP, and the fruits of large and small triangular shape, presented concentrations that fluctuated from 72,501 to 154,186 USP.

Keywords: capsaicin, dihydrocapsaicin, native chili, Scoville, HPLC

2.3 INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* está formado por alrededor de 30 especies, que tienen gran diversidad de formas, colores y tamaños de frutos, de estas se han domesticado *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. pubescens* (Ruíz & Pav.), *C. chinense* Jacq. y *C. baccatum* L. (Pickersgill, 1989, Bosland & Votava, 2012). En México se cultivan las primeras cuatro (Pozo, 1981), y es *C. annuum* la más importante en el mundo, y es en México, donde se encuentra la mayor diversidad, cultivándose en todas las regiones agrícolas (Pozo, 1981; Hernández-Verdugo *et al.*, 1998; Aguilar *et al.*, 2010).

Los chiles son parte integral de muchas cocinas tradicionales, como la mexicana, india tailandesa, coreana e de indonesia (Whiting *et al.*, 2012), y en México, los tipos de chile de mayor importancia son, los tipos ancho, mulato, guajillo o mirasol, jalapeño y serrano (Pozo, 1981), siendo los más comercializados en México y Estados Unidos (Rodríguez, 2018). En 2020, México se ubicó como el segundo productor de chile a nivel mundial y uno de los principales exportadores (FAO, 2022; SIAP, 2021). Por otro lado, los chiles tipo puya, copi, nanche, cora, de agua, huacle, taviche, costeño, tusta, tabaquero, cascabel, entre otros, son conocidos y utilizados a nivel regional y local (Aguilar *et al.*, 2010).

Los frutos del género *Capsicum* contienen sustancias químicas de importancia nutraceútica y medicinal e incluso para la industria cosmética (Bosland & Votava, 2012). Una de estas sustancias son los capsaicinoides, alcaloides responsables del picor de la mayoría de los chiles (Collins *et al.*, 1995), los cuales tienen numerosas características benéficas para la salud humana (Montoya-Ballesteros *et al.*, 2010). Esta sustancia se sintetiza y acumula en el tejido placentario (Vázquez *et al.*, 2007). Se conocen 22 variantes dentro de los capsaicinoides (Bosland & Votava, 2012), de las cuales la capsaicina y la dihidrocapsaicina constituyen cerca del 90% de los capsaicinoides totales en el fruto (Betts, 1999; Giunffrida *et al.*, 2013).

Los capsaicinoides en el fruto del chile, empiezan a acumularse en las primeras etapas de desarrollo, y alcanza su máxima concentración en la madurez (Hall *et al.*, 1987; Cruz-Pérez *et al.*, 2007). La variación de la concentración de estos compuestos depende

del tipo de chile, el estado de desarrollo del fruto, las condiciones de estrés, la fertilización, entre otros factores (Butcher *et al.*, 2012, Campos-Hernández *et al.*, 2018); además influyen los factores genéticos y ambientales y su interacción (Zewdie & Bosland, 2000).

Los métodos utilizados para determinar la concentración de capsaicinoides son, mediante la prueba organoléptica Scoville, cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Mohammad *et al.*, 2013), este último brinda una cuantificación precisa (Collins *et al.*, 1995). Los niveles de pungencia que presentan algunos tipos de chile son: habanero con 100 mil a 445 mil Unidades Scoville (USP), chiltepin de 100 mil a 200 mil, de árbol 15 mil a 30 mil, serrano 5 mil a 23 mil y jalapeño 2500 a 5 mil (SIAP, 2017).

El interés de la industria farmacéutica por los capsaicinoides ha promovido el estudio fitoquímico de cultivares con alto contenido de estos compuestos (Riva-Souza *et al.*, 2009). En la actualidad, la información del contenido de capsaicinoides en chiles criollos es escasa. Recientemente se realizó la caracterización morfológica de 44 colectas de chile nativo Tabaquero, donde se observaron tres diferentes formas de fruto dentro de las colectas, alargado, triangular grande y triangular chico (datos no publicados). Con base a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue

2.4. OBJETIVO E HIPÓTESIS

2.4.1 Objetivos

- Determinar el contenido de capsaicinoides de 44 colectas chile nativo Tabaquero y del contenido según la forma del fruto.

2.4.2 Hipótesis

- Existe diferencias en el contenido de capsaicinoides entre las colectas y con la base a la forma del fruto.

2.5 MATERIALES Y MÉTODOS

2.5.1 Material vegetal

Se utilizaron 44 colectas de chile nativo Tabaquero del Municipio de San Bartolomé Ayautla, Oaxaca. Se estableció en Montecillo, Estado de México, bajo condiciones de invernadero 15 plantas de cada colecta en bolsas de polietileno negra, se aplicaron los riesgos en base a las necesidades de las plantas, y la fertilización se realizó una vez a la semana.

La determinación del contenido de capsaicinoides se realizó en las 44 colectas. De cada colecta se seleccionaron 10 plantas, y de cada planta se cosecharon y mezclaron al azar 5 frutos con madurez comercial (rojos) de la sección intermedia de las plantas. Además, debido a que se observó que todas las colectas presentaban distintas plantas con dos o tres formas de frutos diferentes, se eligieron al azar 11 colectas (T-2, T-8, T-10, T-12, T-16, T-20, T-21, T-24, T-27, T-30 y T-40), y se cosecharon, dentro de cada colecta y por separado, plantas con frutos alargados, triangular grande y triangular chico, formando así 22 grupos de chiles según la forma de fruto (10 de forma alargada, 7 de forma triangular grande y 5 de forma triangular chico). Los frutos de las muestras que se cosecharon, se secaron a temperatura ambiente.

Posteriormente, las muestras se molieron en un molino Hamilton Beach 80350R ® y se almacenaron en refrigeración a una temperatura de 4°C en bolsas metalizadas hasta su análisis.

2.5.2. Extracción y cuantificación de capsaicinoides

Para cuantificar el contenido de capsaicinoides, de cada muestra se realizaron dos repeticiones. La repetición consistió en colocar 0.5 g de chile en polvo en tubos de ensayo de 10 mL, se agregó 5 mL de acetonitrilo grado HPLC. Los tubos se colocaron en baño maría a 60 °C, agitándolos manualmente cada 30 minutos. Posteriormente las muestras se conservaron a temperatura ambiente durante 12 horas en ausencia de luz. Se filtraron de cada tubo de ensayo 2 mL de sobrenadante con acrodiscos de nylon (30 mm de diámetro y poro de 0.45 µm). Los extractos filtrados se colocaron en viales de vidrio de

color ámbar y se mantuvieron en refrigeración a una temperatura de 4 °C hasta su análisis.

Los capsaicinoides cuantificados fueron capsaicina (CAP) y dihidrocapsaicina (DH), utilizando un cromatógrafo Agilent ® mod. 1260 equipado con un detector DAD y una columna C18 (150X4.6mm D.I.; partículas de 5 µm).

Antes del análisis de las muestras se construyeron dos curvas de calibración con estándares externos de compuestos puros de capsaicina (8-methyl-n-vanillyl-6-nonenamide) y dihidrocapsaicina (8-methyl-n-vanillyl-nonamide) (Natural Capsaicin, SIGMA), a concentraciones de 0.25, 0.5 y 1 mg/ml en acetonitrilo grado HPLC, las cuales obtuvieron un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.98$.

Una vez construida la curva de calibración se inyectaron 20 µL de cada muestra. La fase móvil consistió de acetonitrilo: agua en una proporción de 45:55 (v/v) y un flujo isocrático de 1.5 mL min⁻¹ a temperatura ambiente. La absorbancia de las muestras se leyó a 280 nm. El contenido de capsaicinoides (µg) se transformó a Unidades Scoville de Picor, con base en la relación 1 Unidad Scoville de Picor: 15 µg de capsaicinoides totales (AOAC, 1998); La suma del contenido CAP y DH se consideró como el contenido de total de capsaicinoides.

2.5.3 Análisis estadístico

Con los resultados de las concentraciones de capsaicinoides de las 44 colectas y la clasificación con base a la forma de fruto, se sometieron a un análisis de varianza con base al modelo estadístico diseño completamente al azar con dos repeticiones. La comparación de medias se realizó entre las colectas, y también entre las formas de fruto, se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Ambos análisis se realizaron mediante el software estadístico R Project versión 4.2.1. (R Core Team, 2022).

2.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.6.1 Contenido de capsaicinoides en frutos de 44 colectas

El tiempo de retención fue de 7.54 minutos para capsaicina (CAP) y 11.08 minutos para dihidrocapsaicina (DH) (Figura 4) y con un tiempo de análisis de 22 minutos. Por otro lado, con base a los resultados del análisis de varianza, se encontraron diferencias significativas ($P < 0.0001$) en el contenido de capsaicinoides entre tratamientos.

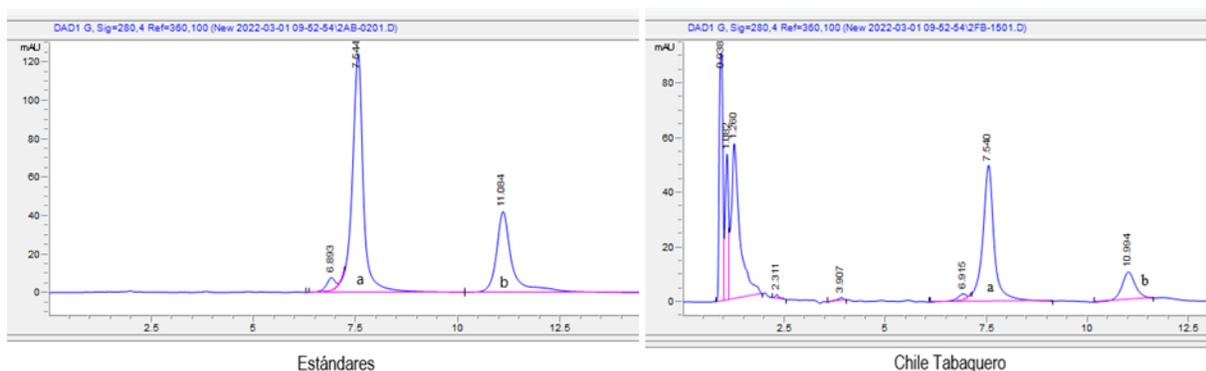


Figura 4. Cromatografía del área bajo la curva en unidades de miliabsorbancia de capsaicina (a) y dihidrocapsaicina (b).

El contenido de capsaicinoides totales de colectas fue muy variable, fluctuó de 26,907.15 (colecta T-17) a 163,592.30 (colecta T-42) USP (Unidades Scoville de Picor) (Cuadro 7) y un promedio de 115,351.30 USP, niveles similares que presentan algunos chiles de la especie *C. annuum* como son los chiles tipo piquín (95,522 USP), Sukurre (109,292 USP), Ma'x ik (79,374 USP) y pico de paloma (65,766 USP), así como también el chile habanero (280,984 USP) de la especie *C. chinense* (Collins *et al.*, 1995; Cazares-Sánchez *et al.*, 2005; Montoya-Ballesteros *et al.*, 2010; Orellana *et al.*, 2013; Giuffrida *et al.*, 2013; Yáñez *et al.*, 2015; Gavilán *et al.*, 2018).

Por otro lado, las concentraciones obtenidas en las colectas de chile Tabaquero son superiores a las concentraciones que presentan otros tipos chiles tipo como: ancho (1,262 USP), pasilla (3,445 USP), dulce (1,519 USP), cascabel (1,950 USP), serrano (17,615 USP), jalapeño (19,388 USP), puya (1,854 USP) y morita (10,184 USP) (Collins *et al.*, 1995; Cazares-Sánchez *et al.*, 2005; Moran *et al.*, 2010; Orellana *et al.*, 2013, Giuffrida *et al.*, 2013). Según Paran & Knaap (2007), en *Capsicum* caracteres asociados a la domesticación son: frutos no-decíduos, incremento en tamaño del fruto, reducción

de pungencia, entre otros. De esta forma, los tipos de chiles antes mencionados, en comparación con los chiles tipo Tabaquero, presentan frutos de mayor tamaño, nivel de pungencia menores, y también frutos más persistentes, es decir, que pueden tener un grado de domesticación mayor. El menor grado de domesticación del chile Tabaquero, se debe a que el agricultor para la selección de su germoplasma para el siguiente ciclo, no la realiza en campo, seleccionando frutos de un tamaño específico, plantas con tolerancia a plagas y enfermedades, entre otros aspectos, la semilla que utiliza es la mezcla de toda la cosecha, se aprovecha de la dehiscencia de los frutos, es decir que se desprenden del pedúnculo y esto permite que la semilla se libere fácil del fruto. También el chile Tabaquero se siembra en condiciones de temporal y se realiza de forma directa y al voleo, la posición del fruto en la planta es tanto de forma erecta y pendiente, con base a estas características posiblemente el chile Tabaquero de esta zona es semidomesticado y por lo tanto en este estudio la mayoría de las colectas presentaron concentraciones mayores a 100,000 USP de capsaicinoides.

En otros estudios donde han utilizado chile Tabaquero (Vera *et al.*, 2011), la concentración de capsaicinoides que ha presentado este tipo de chile ha sido menor (8.2 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Sin embargo, si consideramos que los frutos utilizados fueron cosechados en verde, factor que pudo influir en la menor concentración de los capsaicinoides. Se han evaluado frutos en estado del fruto en verde y rojo, y se han obtenido concentraciones altas en frutos rojos y menores concentraciones en frutos verdes (Montoya-Ballesteros *et al.*, 2010; Morales-Fernández *et al.*, 2020).

Como los resultados de otros estudios de concentración de capsaicinoides (Morán-Bañuelos *et al.*, 2008; Vera-Guzmán *et al.*, 2011; Naresh *et al.*, 2016; Stipcovich *et al.*, 2017), la relación que existe ente CAP y DH es la misma, es decir, es mayor la concentración de CAP a la de DH. En la mayoría de las colectas la relación que se observa entre estos dos compuestos es de 2:1 a 3.8:1, más CAP que DH, aunque en las colectas T-2, T-4, T-5 y T-6 presentaron más de 5 veces CAP que DH (5.8:1 a 7:1).

Cuadro 7. Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en frutos de 44 colectas de Chile tabaquero.

Colecta	CAP ($\mu\text{g g}^{-1}$)	DH (μg)	CAP:	CTOT	USP
T-42	8,149.81 a	2,756.35 a	3.0 : 1.0	10,906.16	163,592.40 a
T-24	8,108.13 a	2,472.18 a	3.3 : 1.0	10,580.31	158,704.65 ab
T-33	7,371.29 ab	2,696.14 a	2.7 : 1.0	10,067.43	151,011.40 abc
T-35	7,164.28 abcd	2,605.54 a	2.7 : 1.0	9,769.82	146,547.25 abcd
T-21	7,111.92 abcd	2,504.42 a	2.8 : 1.0	9,616.34	144,245.10 abcde
T-1	7,285.55 abc	2,270.55 ab	3.2 : 1.0	9,556.10	143,341.50 abcde
T-8	6,747.31 abcd	2,688.27 a	2.5 : 1.0	9,435.58	141,533.75 *
T-37	6,944.39 abcd	2,460.79 a	2.8 : 1.0	9,405.18	141,077.65 *
T-10	7,363.37 ab	1,963.68 ab	3.7 : 1.0	9,327.05	139,905.65 *
T-13	6,770.78 abcd	2,536.08 a	2.7 : 1.0	9,306.86	139,602.90 *
T-27	7,202.48 abc	1,891.83 ab	3.8 : 1.0	9,094.31	136,414.60 **
T-11	6,404.20 abcde	2,675.84 a	2.4 : 1.0	9,080.04	136,200.55 **
T-2	7,801.83 a	1,148.77 ab	6.8 : 1.0	8,950.60	134,259.00 **
T-34	6,637.87 abcd	2,099.29 ab	3.2 : 1.0	8,737.16	131,057.35 **
T-31	6,313.05 **	2,403.61 a	2.6 : 1.0	8,716.66	130,749.90 **
T-36	6,143.20 **	2,375.76 ab	2.6 : 1.0	8,518.96	127,784.40 **
T-38	5,856.71 **	2,568.37 a	2.3 : 1.0	8,425.08	126,376.20 **
T-30	5,885.32 **	2,202.08 ab	2.7 : 1.0	8,087.40	121,311.10 **
T-22	5,981.23 **	2,091.36 ab	2.9 : 1.0	8,072.59	121,088.85 **
T-19	5,915.96 **	2,137.26 ab	2.8 : 1.0	8,053.22	120,798.20 **
T-40	5,906.67 **	2,140.60 ab	2.8 : 1.0	8,047.27	120,708.95 **
T-16	5,877.98 **	2,035.63 ab	2.9 : 1.0	7,913.61	118,704.10 ***
T-43	5,824.04 **	2,061.65 ab	2.8 : 1.0	7,885.69	118,285.35 ***
T-28	5,784.07 **	2,045.65 ab	2.8 : 1.0	7,829.72	117,445.80 ***
T-44	4,934.22 ***	2,794.08 a	1.8 : 1.0	7,728.30	115,924.50 ***
T-4	6,490.98 abcde	1,162.56 ab	5.6 : 1.0	7,652.64	114,789.60 ***
T-14	5,431.94***	1,988.75 ab	2.7 : 1.0	7,420.69	111,310.35 ***
T-29	5,287.14 ***	2,060.38 ab	2.6 : 1.0	7,347.52	110,212.80 ***
T-20	5,310.37 ***	1,910.68 ab	2.8 : 1.0	7,221.05	108,315.75 ***
T-12	5,056.36 ***	2,148.57 ab	2.4 : 1.0	7,204.93	108,073.95 ***

Colecta	CAP ($\mu\text{g g}^{-1}$)	DH (μg)	CAP:	CTOT	USP
T-5	6,256.61**	899.37 ab	7.0 : 1.0	7,155.98	107,339.70 ***
T-25	5,243.10 ***	1,873.85 ab	2.8 : 1.0	7,116.95	106,754.25 ***
T-3	5,567.33 **	1,453.07 ab	3.8 : 1.0	7,020.40	105,306.00 ***
T-7	5,000.99 ***	1,991.20 ab	2.5 : 1.0	6,992.19	104,882.85 ***
T-9	5,172.89 ***	1,509.98 ab	3.4 : 1.0	6,682.87	100,243.05 ***
T-6	5,656.72 **	966.56 ab	5.9 : 1.0	6,623.28	99,349.20 ***
T-41	4,028.13 cdefgh	2,149.04 ab	1.9 : 1.0	6,177.17	92,657.55 bcdefghi
T-15	4,294.88	1,567.08 ab	2.7 : 1.0	5,861.96	87,929.40 cdefghi
T-39	3,848.33 defgh	1,403.79 ab	2.7 : 1.0	5,252.12	78,781.80 defghi
T-26	3,291.34 efgh	1,792.98 ab	1.8 : 1.0	5,084.32	76,264.80 efghi
T-23	3,238.42 efgh	1,578.60 ab	2.1 : 1.0	4,817.02	72,255.30 fghi
T-18	3,010.63 fgh	1,528.29 ab	2.0 : 1.0	4,538.92	68,083.80 ghi
T-32	2,226.48 gh	1,061.14 ab	2.1 : 1.0	3,287.62	49,314.30 hi
T-17	1,310.99 h	482.83 b	2.7 : 1.0	1,793.82	26,907.30 i
Media	5,709.30	1,980.78			115,351.30
C.V	13.77	22.69			14.42
DMS	3,320.89	1,897.90			70,234.14

CAP=Capsaicina; DH=Dihidrocapsaicina; CAP: DH= proporción; USP= Unidades Scoville de Picor; DMS= Diferencia Mínima Significativa (Tukey, $P \leq 0.05$). Medias con las mismas letras, son estadísticamente iguales, (*) abcdef, (**) abcdefg, (***) abcdefgh. C.V. Coeficiente de variación. DMS=Diferencia mínima significativa

Con respecto al contenido de capsaicinoides de los 22 grupos de Chile que se formaron con base a forma de los frutos a partir de 11 colectas de Chile Tabaquero, hubo diferencias significativas entre grupos ($P < 0.0001$). Los grupos de frutos de forma alargada en general presentaron los mayores contenidos de capsaicinoides que fluctuaron de 120,704 a 218,263 USP, en tanto los grupos de Chile de forma triángulo chico y grande, tuvieron valores de 72,501 a 154,186 USP. Las muestras de fruto alargado que sobresalieron por su mayor contenido de capsaicinoides fueron las de colectas T-8, T-21, T-30, T-10, T-27, T-16 y T-2 y las muestras de frutos chico de las colectas T-20 y T-30 y la muestra de frutos triángulo grande de la colecta T-27 tuvieron contenidos menores a 100,000 USP (Cuadro 8).

Cuadro 8. Concentración de capsaicinoides en frutos de chile tabaquero con base a forma del fruto de 11 colectas de chile tabaquero.

Colecta	FFR	USP¹	USP²	FRL (cm)	FRD (cm)
T-8	Alargado	218,263.87 a	141,533.75	3.28	0.80
T-21	Alargado	201,234.21 ab	144,245.10	3.29	0.80
T-30	Alargado	189,562.51 ab	121,311.10	3.80	0.60
T-10	Alargado	173,685.88 abc	139,905.65	4.00	0.90
T-27	Alargado	165,441.91 abcd	136,414.60	3.52	0.85
T-16	Alargado	163,982.93 abcd	118,704.10	2.95	0.71
T-2	Alargado	161,785.35 abcd	134,259.00	3.35	0.87
T-10	Triangular chico	154,186.57 bcde	139,905.65	2.29	0.85
T-24	Triangular chico	147,885.79 bcdef	158,704.75	2.28	0.81
T-20	Triangular grande	146,741.36 bcdef	108,315.85	2.40	0.85
T-24	Alargado	145,867.22 bcdef	158,704.75	2.98	0.89
T-8	Triangular grande	144,722.98 cdef	141,533.75	2.00	0.81
T-12	Alargado	129,655.20 cdefg	108,073.95	4.15	0.90
T-40	Triangular grande	123,851.92 cdefg	120,708.95	2.22	0.77
T-40	Alargado	120,704.70 cdefg	120,708.95	2.88	1.02
T-21	Triangular grande	120,239.03 cdefg	144,245.10	2.23	0.88
T-30	Triangular grande	116,661.11 cdefg	121,311.10	2.28	0.82
T-16	Triangular grande	115,441.89 cdefg	118,704.10	2.28	0.79
T-12	Triangular chico	106,853.99 defg	108,073.95	1.81	0.78
T-30	Triangular chico	99,744.51 efg	121,311.10	1.00	0.59
T-27	Triangular grande	94104.19 fg	136,414.60	2.53	0.92
T-20	Triangular chico	72,501.99 g	108,315.85	1.57	0.80
Media		141,505.40		2.69	0.82
C.V.		10.35			
DMS		59,475.75			

FFR=Forma del fruto, USP= Unidades Scoville de Picor, ¹Contenido promedio de USP con base a la forma del fruto. ²Contenido promedio de USP de los frutos por colecta; FRL= Longitud promedio de fruto de plantas de plantas analizadas; FRD= Diámetro promedio de frutos de plantas analizadas. Medias con las mismas letras, son estadísticamente iguales; DMS= Diferencia Mínima Significativa (Tukey, P≤0.05).

A excepción de las colectas T-24 y T-40, dentro de cada colecta, el contenido de capsaicinoides en los grupos de frutos de tipo alargados, fueron superiores al de los grupos triangulo grande y chico (Cuadro 8).

En cuanto al contenido de capsaicinoides por grupo, los de forma alargada tuvieron un valor promedio de capsaicinoides de 167,018.38 USP, y estos fueron estadísticamente superiores a los que presentaron los grupos de chile de fruto triangular grande (123,108.93 USP) y chico (116,234.57 USP). De esta forma, las colectas que presentaron las menores concentraciones de capsaicinoides (T-17, T-32 y T-18), no presentan frutos de forma alargada.

2.7 CONCLUSIONES

El contenido de capsaicinoides de los chiles tipo Tabaquero fue muy variable, el cual fluctúa de 26,907.30 a 163,592.40 USP. Destacan por su mayor contenido las colectas T-42, T-24 y T-33 y las colectas de menor concentración T-41, T-15, T-39, T-26, T-23, T-18, T-32 y T-17. En cuanto a la concentración de acuerdo a la forma del fruto, los de tipo alargado tuvieron los valores más altos (167,018.38 USP) y, los de forma triangular grande (123,108.93 USP) y triangular chico (116,234.57 USP) los menores, las colectas T-18, T-32 y T-17 no presentaron frutos de forma alargada.

CAPÍTULO III. EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA DE CHILE TABAQUERO A *Phytophthora capsici* LEO

3.1 RESUMEN

La marchitez del chile causada por *Phytophthora capsici* LEO, es un factor limitante para la producción de chile en México, las pérdidas ocasionadas van de 60 a 100%. Las poblaciones nativas, son un reservorio de genes de resistencia a diversas enfermedades que deben ser exploradas para identificar germoplasma como fuente de resistencia, por lo que, siendo México un país con una gran diversidad de chiles nativos, existe la posibilidad de encontrar alguna fuente de resistencia a la enfermedad *Phytophthora capsici* LEO. En el presente estudio, se evaluó bajo condiciones de invernadero, la resistencia a *P. capsici* de 48 colectas de chile nativo tabaquero. Como testigos susceptibles se utilizaron las variedades comerciales Tampiqueño 74 y California Wonder, y la Línea 41-1 como testigo resistente. Los materiales fueron inoculados con la cepa de *P. capsici* PCT-17. Se realizaron mediciones de severidad a los 3, 7, 10, 14 y 21 días después de la inoculación (ddi). La escala con la que se midió la severidad fue de 0 a 6. Con la severidad a los 3, 7 y 10 ddi se obtuvo el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Se realizó un análisis de varianza y una comparación de medias, en los que se observaron diferencias significativas entre los materiales. Se identificaron, con respecto a los testigos susceptibles, plántulas dentro de las colectas donde había un retraso en la presencia de síntomas y plántulas sin síntomas igual al testigo resistente. Estas plántulas pueden ser utilizadas en un programa de mejoramiento genético de resistencia a *P. capsici*.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, chile nativo, severidad, marchitez del chile.

EVALUATION OF THE RESISTANCE OF TABAQUERO PEPPER TO *Phytophthora capsici* LEO

3.2 ABSTRACT

Pepper wilting caused by *Phytophthora capsici* LEO, is a limiting factor for pepper production in Mexico, losses ranging from 60 to 100%. Native populations are a reservoir of resistance genes to various diseases that must be explored to identify germplasm as a source of resistance, so, being Mexico a country with a great diversity of native chili peppers, there is the possibility of finding some source of resistance to the disease *Phytophthora capsici* LEO. In the present study, the resistance to *P. capsici* of 48 harvests of native tabaquero pepper was evaluated under greenhouse conditions. As susceptible controls, the commercial varieties Tampiqueño 74 and California Wonder were used, and Line 41-1 as a resistant control. The materials were inoculated with the *P. capsici* isolate PCT-17. Severity measurements were made at 3, 7, 10, 14 and 21 days after inoculation. The scale with which severity was measured was from 0 to 6. The area under the disease progression curve (ABCPE) was obtained. An analysis of variance and a comparison of means were performed, in which significant differences between the materials were observed. With respect to susceptible controls, seedlings were identified within the collections where there was a delay in the presence of symptoms and seedlings without symptoms equal to the resistant control. These seedlings can be used in a genetic improvement program for resistance to *P. capsici*.

Key words: *Capsicum annuum*, native chili, severity, pepper wilting.

3.3 INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* spp., pertenece a la familia *Solanaceae* (Trejo y Rivera, 2018) y cinco de las especies dentro de este género son cultivadas: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens* (Pickersgill, 1989). *C. annuum* es la especie más importante, y México es su principal centro de domesticación o (Pickersgill, 2007). El chile es la hortaliza de mayor importancia económica en el mundo (Ortiz *et al.*, 2010), se consume como fruto fresco, deshidratado o procesado en distintos tipos de comidas, sus capsicinoides tienen uso medicinal y sus frutos maduros son una fuente importante de pigmentos (Castro *et al.*, 2012; Ortiz *et al.*, 2010). En 2020, México se ubicó como el segundo productor de chile a nivel mundial y uno de los principales exportadores, con una producción de más de tres millones de toneladas (FAO, 2022; SIAP, 2022).

La diversidad de chiles en el país se compone por más de 64 tipos adaptados a diferentes regiones. Por la superficie cultivada y su comercialización en México y Estados Unidos los tipos de chile de mayor importancia son: ancho, mulato, guajillo, jalapeño y serrano (Rodríguez, 2018). Por otro lado, los tipos puya, de árbol, copi, nanche, cora, de agua, huacle, taviche, costeño, tusta, tabaquero, cascabel, entre otros, son de menor importancia a los anteriores y algunos de ellos utilizados principalmente a nivel regional y local (Aguilar *et al.*, 2010).

Entre los factores que limitan la producción de chile se encuentran factores adversos tales como las enfermedades, donde la marchitez del chile, causada por *Phytophthora capsici*, es una de la más importantes (Guigón y González, 2004), este fitopatógeno puede infectar las raíces, flores, tallos, hojas y frutos del chile provocando el tizón foliar, la pudrición de frutos y la pudrición de raíz y tallo (Castro *et al.*, 2012; Erwin y Ribeiro, 1996), además es el agente causal más agresivo con pérdidas de 60 a 100 % (Ramírez y Méndez, 2018; Méndez *et al.*, 2015).

Las estrategias de manejo que se han desarrollado para el control del *P. capsici*, no han sido completamente efectivas, cuando se presentan condiciones ambientales como: alta humedad y temperatura, factores que favorecen el desarrollo de la enfermedad (Castro *et al.*, 2012). Para su control se han utilizado fungicidas, prácticas

culturales, aplicación de materia orgánica, métodos de solarización del suelo con plástico (Chávez et al., 1995), y antagonistas para el control biológico (Bautista et al., 2014; Lozano et al., 2014), sin resultados 100% efectivos. El uso de variedades resistentes es la alternativa más efectiva y ambientalmente amigable para el control de *P. capsici*. (Ogundiwin et al., 2005).

Con el desarrollo de variedades resistentes se puede obtener un mejor rendimiento del cultivo y reducción en el uso de fungicidas que son potencialmente perjudiciales para el medio ambiente (Ogundiwin et al., 2005). Para desarrollar estas variedades es necesario contar con materiales con características de resistencia, tales como son las poblaciones nativas de Chile (Palma et al., 2017).

En la actualidad el Chile serrano CM-334, que fue reportado inicialmente por Guerrero y Laborde (1980), del antes Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) en México, ha mostrado una resistencia universal a los aislamientos de *P. capsici* (Castro et al., 2012; Glosier et al., 2008; Oelke et al., 2003; Sy et al., 2008). Además, se han reportado accesiones de Chile con cierto nivel de resistencia, por ejemplo "PI 201232", "PI 201234", "Fyuco", "Línea 29 (Barksdale et al., 1984; Ortega et al., 1991; Roig et al., 2009) y las líneas "41-1", "33.3", "34.1" y "35.3", estas últimas cuatro líneas fueron además resistentes a los nemátodos agalladores *M. incognita* y *N. aberrans*. (Gómez et al., 2017; Palma et al., 2017; Villar et al., 2022).

Las poblaciones nativas representan un reservorio de genes de resistencia a diversas enfermedades que debe ser explorado para identificar germoplasma como fuente de resistencia (Morán et al., 2010; Laborde y Pozo, 1984), y aprovecharlas de una forma eficaz en programas de mejoramiento genético (Villar et al., 2022). Uno de estos tipos de Chile es el Tabaquero, de importancia regional que, ha sido poco estudiado, y que se cultiva en una superficie de 144.5 ha (SIAP, 2022), en áreas tropicales y subtropicales de la Sierra Mazateca y Cuicateca baja, Papaloapan, Chinantla y Mixe Bajo (López y Castro, 2006). Con base a lo anterior el objetivo del presente trabajo fue la evaluación de la resistencia a *P. capsici* de 48 accesiones de Chile tabaquero del estado de Oaxaca.

3.4. OBJETIVO E HIPÓTESIS

3.4.1 Objetivos

- Evaluar la resistencia a *Phytophthora capsici* LEO de 48 accesiones de chile tabaquero del estado de Oaxaca.

3.4.2 Hipótesis

- Existe variabilidad en respuesta al ataque de *Phytophthora capsici* LEO en las colectas de chile tabaquero.

3.5 MATERIALES Y MÉTODOS

3.5.1 Material vegetal

Se utilizaron 48 colectas de chile tabaquero (T-1 a T-48), las cuales fueron colectadas en los Municipios: San Bartolomé Ayautla (47 colectas) y San Pedro Teutila (1 colecta) del estado de Oaxaca (Figura 5). Como testigo resistente se utilizó la línea de chile nativo tipo Serrano 41-1 y como testigos susceptibles las variedades comerciales tipo Serrano Tampiqueño 74 y pimiento California Wonder.

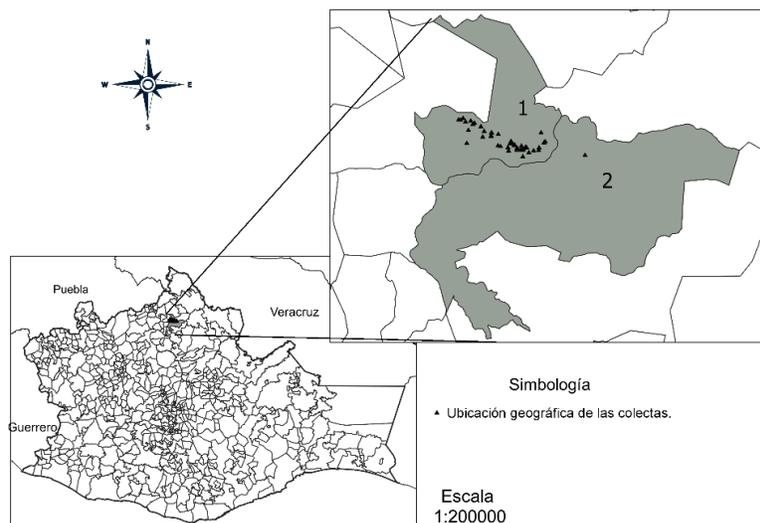


Figura 5. Sitios de colecta de chile tabaquero en los Municipios de San Bartolomé Ayautla (1) y San Pedro Teutila (2), Oaxaca.

3.5.2. Incremento del aislamiento de *Phytophthora capsici*

Se utilizó la cepa PCT-17 de *Phytophthora capsici* que fue proporcionada por la Dra. Sylvia Fernández Pavía, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Con el objetivo de asegurar la patogenicidad del aislamiento, éste se inoculó en plántulas de la variedad susceptible California Wonder, a las cuales se les eliminó el ápice y sobre éste se colocaron segmentos de 5 mm de diámetro del medio de cultivo que contenía la cepa PCT-17. Posteriormente se envolvió con toallas de papel húmedas y papel aluminio, esto con la finalidad de conservar la humedad y generar condiciones favorables para el desarrollo de *P. capsici*. Después de 5 días se procedió a cortar con un bisturí secciones de 5 mm del tallo de la zona del avance de la necrosis, las secciones se desinfestaron con cloro al 4% durante 30 segundos y se enjuagaron con agua destilada estéril, y luego se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo agar. Las cajas se incubaron a 28°C durante 5 días. Posteriormente se realizaron cortes del medio y se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo agar-jugo V8® y se incubaron a 28°C durante 10 días. A cada caja Petri se le agregaron 10 mL de solución isotónica de cloruro de sodio AMSA® al 0.9 % por 10 min; posteriormente, se decantó la solución y el medio de cultivo de cada caja se dividió en cuatro porciones, y se transfirieron a cajas Petri de vidrio (dos partes por caja).

A cada caja se adicionó agua destilada estéril cubriendo el medio del cultivo con micelio y se expusieron a luz blanca continua a 24 °C por 48 h para promover la formación de esporangios. Posteriormente, las cajas con esporangios recibieron un choque térmico de 4 y 28 °C por 40 min en cada temperatura, para promover la liberación de zoosporas en el medio acuoso. El líquido de cada caja se colectó en un vaso de precipitado para cuantificar el número de zoosporas por mL con ayuda de una cámara de Neubauer. La suspensión se ajustó con agua destilada estéril a una concentración de 1×10^5 zoosporas mL⁻¹.

3.5.3 Evaluación de la resistencia

Las semillas de cada colecta y los testigos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (Cloralex®) al 1 % por 2 min, después se enjuagaron tres veces con agua destilada. De cada material se sembraron, en 10 vasos de unicel de 290 ml de capacidad, dos semillas por vaso. El sustrato empleado estuvo compuesto por tierra y peat moss en una relación 4:1 respectivamente. Con la finalidad de tener una plántula por vaso, cuando estas presentaron el primer par de hojas verdaderas, se eliminó una plántula de aquellos vasos que presentaban dos.

El manejo de las plantas durante su crecimiento consistió en: riegos según las necesidades de las plantas, la aplicación de enraizador a los ocho días después de emergidas y la fertilización se realizó semanalmente con aplicaciones de la solución nutritiva Ultrasol® (inicial, 15-30-15 de N-P-K). Cuando las plántulas presentaron de tres a cuatro pares de hojas verdaderas, se procedió a la inoculación, una hora antes de la inoculación se aplicó a las plántulas un riego a saturación con el objetivo de crear un microambiente de alta humedad para favorecer la infección y, posteriormente, se aplicó 1 mL de la suspensión de zoosporas en la base del tallo.

Para evitar posibles escapes, ocho días después de la inoculación se realizó una reinoculación con la misma concentración 1×10^5 zoosporas mL^{-1} a las plántulas que aún no presentaban síntomas. Para determinar la resistencia de los materiales, se registró la variable severidad de la enfermedad en las plántulas, utilizando la escala de valores de 0 a 6 propuesta por Sanogo (2006), con las siguientes modificaciones, 0= Plantas completamente sanas sin ningún síntoma, 1= Necrosis en la base sin rodear al tallo, 2=Necrosis en la base que rodea al tallo, 3=Necrosis que rodea al tallo con <50% de defoliación. 4=Necrosis que rodea el tallo con >50% de defoliación, 5= Planta marchita y 6=Planta completamente muerta.

Los registros de severidad se realizaron a los 3, 7, 10, 14 y 21 días después de la inoculación (ddi). Con la información de severidad, se calculó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) mediante el método de integración trapezoidal (Campbell y Madden, 1990), utilizando para ello los valores de severidad de las fechas

3, 7 y 10 ddi, dado que, en esta última fecha, todas las plántulas de los testigos susceptibles presentaron valores de severidad de 6 (plantas muertas).

3.5.4 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza y la comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$) de acuerdo al modelo estadístico completamente al azar con dos repeticiones (cinco plantas por repetición). Se utilizó para el análisis el software estadístico R Project versión 4.2.1. (R Core Team, 2022).

3.6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 48 colectas evaluadas de chile tabaquero manifestaron los síntomas típicos causados por el oomiceto *Phytophthora capsici*: necrosis en el tallo, defoliación, marchitamiento y muerte de las plántulas. Por otro lado, con base a los resultados del análisis de varianza, se encontraron diferencias altamente significativas ($P < 0.0001$) en ABCPE entre colectas (Cuadro 9), lo que demuestra que, en este tipo de chile nativo, existe variación en caracteres de interés como lo es la resistencia a patógenos, tal como lo han observado en el patosistema chile – *Phytophthora capsici* en otros tipos de chile (Candole *et al.*, 2010; Gómez *et al.*, 2017; Villar *et al.*, 2022).

Cuadro 9. Análisis de varianza del ABCPE de la severidad de *P. capsici* en 48 colectas de chile tabaquero.

	GL	SC	CM	F-value	P>F
Colecta	50	2614.82	52.3	3.85	<0.0001
Error	51	693.02	13.59		
Total	101	3307.84			

Como se puede observar en el Cuadro 10, y tal como se esperaba, los valores de ABCPE en los testigos susceptibles, Tampiqueño 74 y California Wonder fueron los más altos (32.04 y 30.58 respectivamente), resultados similares en susceptibilidad lo obtuvieron Reyes *et al.* (2021) y Villar *et al.* (2022), en tanto que, al igual que los resultados de Gómez *et al.* (2017) y Villar *et al.* (2022), la Línea 41-1, testigo resistente, presentó el menor valor de la variable (0). En cuanto a los resultados de ABCPE que se observaron en las colectas de chile tabaquero, se puede apreciar que todas presentaron

áreas intermedias entre los testigos susceptibles y resistente, sin embargo, no hubo diferencias estadísticas entre los valores de ABCPE de 36 colectas y los testigos susceptibles, con áreas que fueron desde 16.4 a 26.3.

Por otro lado, las colectas T-36, T-33, T-12, T-1, T-5, T-3, T-41, T-2, T-39 y T-42, presentaron los valores de ABCPE más pequeños, y fueron estadísticamente iguales al testigo resistente, con áreas que van de 11.0 a 15.65. La variación de los valores de ABCPE observados, puede deberse a que el chile tabaquero es un tipo de chile nativo que a simple vista presenta una amplia diversidad en forma de planta y de fruto y, por tanto, debe de presentar una amplia variación genética. Resultados similares los obtuvo Retes *et al.* (2020) en una evaluación de 32 materiales nativos, donde observó diferentes niveles de resistencia.

Para determinar el nivel de resistencia de los materiales a *P. capsici*, en el caso de la evaluación de colectas, el ABCPE hace referencia al comportamiento promedio de las mismas, sin embargo, en algunas evaluaciones han considerado el porcentaje de plantas infectadas, tal es el caso de, Kim *et al.* (2010), quienes clasificaron 300 materiales evaluados en resistente (0% de plantas muertas), moderadamente resistente (20 % de plantas muertas), susceptible (20.1 a 90% de plantas muertas) y altamente susceptible (> 90.1% de plantas muertas), encontrando a los 28 ddi cinco materiales resistentes. Por otro lado, Reyes *et al.* (2021), realizó evaluaciones de cuatro materiales criollos de chile pasilla inoculadas con cinco aislados de *P. capsici*, y clasificó a los materiales en resistente (>90 % de plantas sanas), moderadamente resistente (61-90% de plantas sanas), tolerante (41-60% de plantas sanas, moderadamente tolerante (30-40% de plantas sanas) y susceptible (<30% de plantas sanas), encontrando materiales moderadamente resistentes, tolerantes, moderadamente tolerantes y susceptibles a los 20 ddi.

De esta forma, si se considera la clasificación utilizada por Kim *et al.* (2010), tendríamos que, a los 10 ddi nueve colectas de chile tabaquero serían clasificadas como susceptibles y 39 como altamente susceptibles, en tanto que, a los 21 ddi todas las colectas quedarían clasificadas como altamente susceptibles. Así mismo, con base a la clasificación de Reyes *et al.* (2021), a los 10 ddi dos colectas de chile tabaquero se

clasificarían como: tolerantes, dos moderadamente tolerantes y 44 susceptibles; y a los 14 ddi las 48 colectas se clasificarían como susceptibles.

Al igual que en la presente investigación, Reyes *et al.* (2021) utilizaron el testigo susceptible California Wonder, sin embargo, entre las dos evaluaciones hubo una diferencia en la muerte de las plántulas de 10 días, lo que se puede atribuir a las diferentes concentraciones de inóculo y distintos aislamientos utilizados, tal como lo mencionan Barkadale *et al.* (1984) y Su *et al.* (2014), que a medida que aumenta la concentración del inóculo y, entre más agresivo sea el mismo, los síntomas se manifiestan más rápido.

Cuadro 10. Comparación de medias del ABCPE de 48 colectas de chile tabaquero (*Capsicum annum*).

Genotipo	ABCPE	Genotipo	ABCPE	Genotipo	ABCPE
Tampiqueño 74	32.04 a	T-44	20.35 abc	T-31	16.85 abc
California Wonder	30.58 ab	T-24	20.25 abc	T-9	16.70 abc
T-48	26.30 abc	T-30	19.70 abc	T-38	16.55 abc
T-23	24.90 abc	T-16	19.65 abc	T-35	16.40 abc
T-26	24.85 abc	T-37	19.40 abc	T-10	16.10 bc
T-47	24.35 abc	T-6	19.40 abc	T-36	15.65 bcd
T-46	24.30 abc	T-13	19.20 abc	T-34	15.60 bcd
T-7	23.05 abc	T-22	19.10 abc	T-33	14.25 cd
T-28	22.70 abc	T-17	18.80 abc	T-12	14.10 cd
T-43	22.10 abc	T-21	18.60 abc	T-1	14.05 cd
T-18	22.05 abc	T-32	17.80 abc	T-5	14.05 cd
T-15	21.90 abc	T-4	17.65 abc	T-3	14.00 cd
T-19	21.70 abc	T-29	17.60 abc	T-41	13.60 cd
T-27	21.65 abc	T-14	17.25 abc	T-2	12.55 cd
T-25	21.45 abc	T-11	17.15 abc	T-39	12.00 cd
T-45	21.20 abc	T-8	17.05 abc	T-42	11.00 cd
T-20	20.35 abc	T-40	16.95 abc	Serrano 41-1	00.00 d
DMS	15.71				

Medias con las mismas letras, son estadísticamente iguales.

DMS=Diferencia mínima significativa (Tukey, $P \leq 0.05$).

No obstante lo anterior, la variación de la resistencia entre colectas, determinada a través de la variable ABCPE, no fue la única variación observada (Cuadro 10 y Figura 6), ya que, dentro de cada colecta, hubo variación en la severidad de las diferentes plántulas, de tal forma que, se observaron plántulas más susceptibles que las plántulas de los testigos susceptibles, por ejemplo, hubo plantas muertas en las colectas T-16 y T-43 a los 7 ddi. Por otro lado, a excepción de las colectas T-2, T-3, T-32, T-33 y T-34, todas las demás colectas tuvieron plántulas tan susceptibles como los testigos susceptibles, es decir, alcanzaron un valor de severidad de 6 (plántulas muertas) a los 10 ddi.

De la misma manera, todas las colectas tuvieron plantas que murieron 14 o 21 ddi, por lo que se puede decir que hubo un retraso en el desarrollo de la enfermedad. Finalmente, las colectas T-16, T-24, T-40, T-41, T-42 y T-45 presentaron plántulas con una severidad de 0, igual que el testigo resistente.

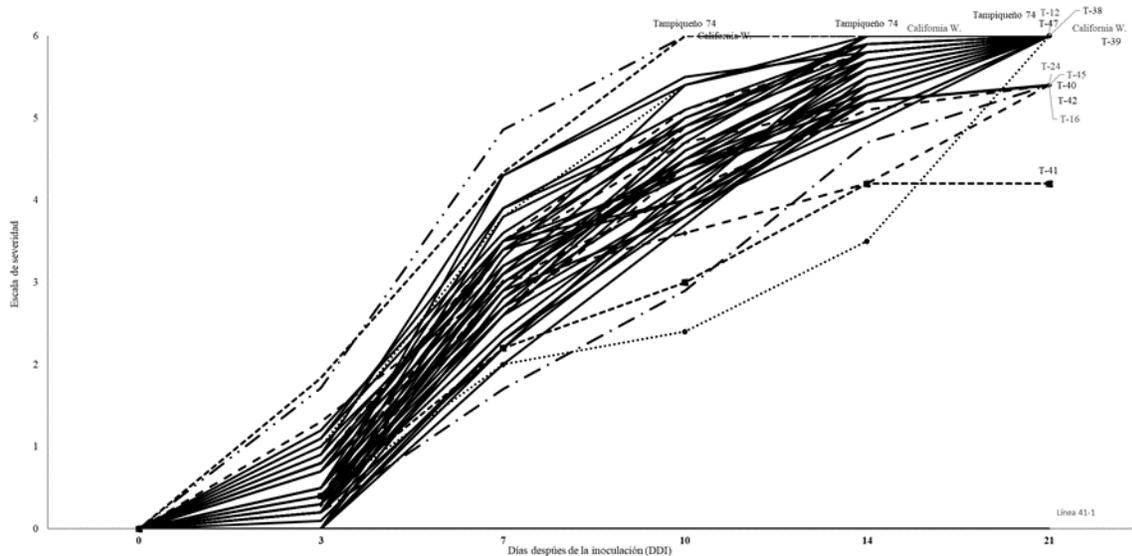


Figura 6. Severidad promedio de la marchitez a los 3, 7, 14 y 21 ddi de 48 colectas de Chile Tabaquero.

De acuerdo a lo anterior, si se considera en el presente trabajo las formas de clasificar los materiales por su resistencia tal como lo indican Kim *et al.* (2010) y Reyes *et al.* (2021), se determinaría que las colectas de Chile Tabaquero son susceptibles, por

lo que estaríamos ignorando aquellas plántulas dentro de las colectas con un nivel superior en resistencia a las de los testigos susceptibles.

La resistencia de las plantas a patógenos se ha clasificado, en forma general, como específica y general (vertical y horizontal, según Vanderplank, 1968). La primera es aquella resistencia mediada por la interacción entre los genes R y Avr que conduce a una expresión fenotípica discreta (enfermedad o no enfermedad), también denominada resistencia cualitativa (Burbano, 2020). La segunda es aquella resistencia que no impide el desarrollo del patógeno, es más bien una resistencia parcial condicionada por varios genes, denominada también como resistencia cuantitativa (Burbano, 2020). Con base a las definiciones anteriores, en esta evaluación de chile tabaquero, encontramos plantas dentro de las colectas que se ajustarían a estos dos tipos de resistencia.

En las colectas T-2, T-3, T-32, T-33 y T-34 el desarrollo de la enfermedad fue lenta (Figura 7), las plántulas murieron 14 ddi y 21 ddi (4 a 11 días después que plántulas de los testigos susceptibles), es posible encontrar genes menores de resistencia, que estén determinando la aparición lenta de los síntomas. En un programa de mejoramiento para resistencia parcial, estas colectas podrían ser incluidas, para buscar mediante recombinaciones, el mayor retraso posible de la enfermedad, de tal forma que, permita combinarse la resistencia con otros métodos de control, por ejemplo, en el manejo integrado de la enfermedad, donde combinan la rotación de cultivos, incorporación de materia orgánica, solarización del suelo con plástico transparente (Chávez *et al.*, 1995).

Las colectas de chile tabaquero T-16, T-24, T-40, T-41, T-42 y T-45, presentaron plántulas sin síntomas, estas también podrían ser utilizadas en un programa de mejoramiento, obviamente, con los estudios previos sobre la genética de su resistencia. Estas cinco colectas podrían ser clasificadas como materiales con presencia de genes mayores por la ausencia de síntomas, no obstante que Chávez y Zavaleta (2019), mencionan de la no presencia de genes R en el género *Capsicum*.

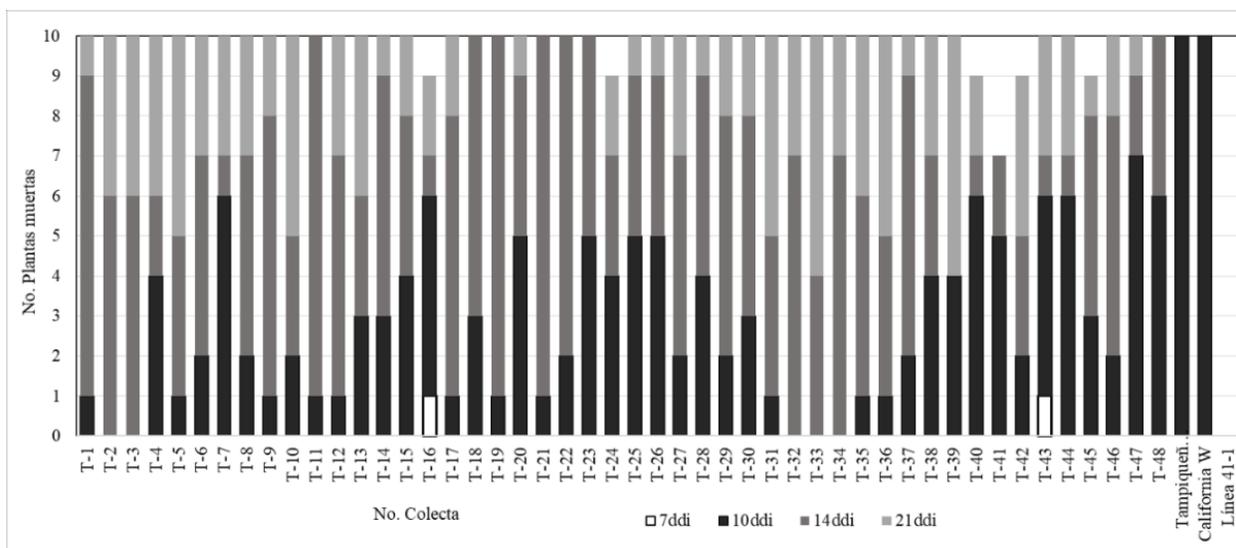


Figura 7. Número de plantas muertas de las colectas de chile tabaquero y los testigos a los 7, 10, 14 y 21 días de después de la inoculación (ddi).

3.7 CONCLUSIONES

Las colectas de chile tabaquero presentaron valores menores de severidad de la enfermedad que los testigos susceptibles. Destacaron las colectas T-36, T-33, T-12, T-1, T-5, T-3, T-41, T-2, T-39 y T-42, con un nivel de resistencia similar al testigo resistente. En todas las colectas hubo plántulas que murieron de 4 a 11 días después de la muerte de las plántulas de los testigos susceptibles, lo que puede atribuirse a una característica genética que retrasa de la enfermedad. Las colectas T-16, T-24, T-40, T-41, T-42 y T-45 presentaron plántulas tan resistentes como las plántulas del testigo resistente. Las colectas antes mencionadas pueden ser utilizadas en un programa de mejoramiento genético de resistencia a *P. capsici*.

CONCLUSIONES GENERALES

Las colectas de Chile "Tabaquero" evaluadas en este estudio, presentaron variabilidad en la caracterización morfológica, en el contenido de capsaicinoides y en la resistencia genética a *Phytophthora capsici*. De las 47 características evaluadas, en 26 de ellas se observó variabilidad morfológica. Las características más distintivas entre las colectas fueron: largo y ancho de la hoja; largo y grosor del pedúnculo; largo, diámetro y forma de fruto, y peso de fruto. Dentro de las colectas se presentaron tres formas de fruto: alargado, triangular grande y triangular chico. Las colectas se agruparon en 3 grupos, en el Grupo I se concentraron 5 colectas, en el Grupo II 15 colectas y 24 colectas en el Grupo III. Por otro lado, en el contenido de capsaicinoides las concentraciones fueron muy variables, que oscilaron de 26,907.30 a 163,592.40, destacaron tres colectas con las mayores concentraciones de estos compuestos T-42, T-24 y T-33 y las de menor concentraciones T-41, T-15, T-39, T-26, T-23, T-18, T-32 y T-17. Los frutos de forma alargada presentaron las mayores concentraciones de estos alcaloides y las T-18, T-32 y T-17 no presentaron esta forma de frutos. El comportamiento de las colectas a *Phytophthora capsici* fue variable entre y dentro colectas, presentaron menores valores de severidad de la enfermedad que los testigos susceptibles. Las colectas T-36, T-33, T-12, T-1, T-5, T-3, T-41, T-2, T-39 y T-42, presentaron un nivel de resistencia similar al testigo resistente. Hubo presencia de plántulas en las colectas que murieron de 4 a 11 días después de la muerte de las plántulas de los testigos susceptibles, lo que puede atribuirse a una característica genética que retrasa de la enfermedad. Las colectas T-16, T-24, T-40, T-41, T-42 y T-45 presentaron plántulas tan resistentes como las plántulas del testigo resistente.

LITERATURA CITADA

- Acosta, R. G. F. y Chávez S. N. 2003 Arreglo topológico y su efecto en rendimiento y calidad de la semilla de chile jalapeño. *Agricultura Técnica en México*. 29:49-60.
- Aguilar, R. V. H.; Corona, T. T. y Morán, B. S. H. 2006. Chiles nativos (*Capsicum* spp, Solanaceae) de los estados de Puebla y Morelos. In: *Avances de Investigación de la Red de Hortalizas del SINAREFI*. P López L, S Montes H (eds). Libro Científico Núm. 1. Campo Experimental Bajío INIFAP. Celaya, Guanajuato, México. pp: 28-47
- Aguilar, R. V. H.; Corona, T. T.; López, L. P.; Latournerie, M.L.; Ramírez, M. M., Villalón, M. H. y Aguilar, C. J. A. 2010. Los Chiles de México y su Distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INIFAP, IT Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114 p.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1998. Capsaicinoids in capsicums and their extractives. Liquid chromatographic method. *Oficial Methods of Analysis of AOAC International*. V. 2. 43: 13-15.
- Barchenger, W. D. and Bosland, W. P. 2019. *Wild Chile Pepper (Capsicum L.) of North América*. Springer Nature Switzerland AG. 2: 225-242.
- Barksdale, T.H.; Papavizas, G. S. and Johnston, S.A. 1984. Resistance to foliar blight and crown rot of pepper by *Phytophthora capsici*. *Plant Disease*. 68(6):506–509.
- Betts, T. A. 1999. Pungency quantitation of hot pepper sauces using HPLC. *Chem. Education* 76: 240–244.
- Bautista, C. J.; Huerta, L. M. y García, E. R. 2014. Antagonistas a *Phytophthora capsici* inoculados en sustratos de germinación de *Capsicum annuum* Leonian y *Mucuna deeringiana* Bort. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 18(2): 95-114.
- Bosland, P. W. and E. J. Votava. 2012. *Peppers: Vegetable and Spice Capsicums*. CABI Publishing New York, USA. 2nd Edition. 230 p.
- Burbano, F. O. 2020. Resistencia de plantas a patógenos: una revisión sobre los conceptos de resistencia vertical y horizontal. *Revista Argentina de Microbiología*. 52(3): 245-255.
- Butcher, J. D.; Crosby, K. M.; Yoo, K. S.; Patil, B. S.; Ibrahim, A. M. H.; Leskovar, D. I. and Jifon, J. L. 2012. Environmental and genotypic variation of capsaicinoid and flavonoid concentrations in habanero (*Capsicum chinense*) peppers. *HortScience* 47(5): 574-579
- Campbell, C. L. and Madden, L. V. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Wiley and Sons, New York. 532 p.
- Campos, H. N., Jaramillo, F. M. E., Téllez, M. D. and Alamilla, B. L. 2018. Effect of traditional dehydration processing of pepper jalapeno rayado (*Capsicum*

annuum) on secondary metabolites with antioxidant activity. CYTA-Journal of Food. 16(1): 316-324.

- Candole, B. L.; Conner, P. J. and Ji, P. 2010. Screening *Capsicum annuum* accessions for resistance to six isolates of *Phytophthora capsici*. HortScience 45(2): 254-259.
- Castro, R. A.; Fernández, P. S. P. y Osuna, Á P. 2012. Mecanismos de defensa del chile en el patosistema *Capsicum annuum-Phytophthora capsici*. Revista Mexicana de Fitopatología. 30:49-65.
- Castañón-Nájera, G.; Latournerie-Moreno, L.; Mendoza-Elos, M.; Vargas-López, A. y Cárdenas-Morales, H. 2008. Colección y caracterización de chile (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México. Phytón-Revista Internacional de Botánica Experimental, 77, 189-202.
- Castellón, M. E.; Carrillo, R. J. C.; Chávez, S. J. L. y Vera, G. A. M. 2014. Variación fenotípica de morfotipos de chile (*Capsicum annuum* L.) nativo de Oaxaca, México. Revista Internacional de Botánica Experimental. 83:225-236.
- Cázares, S. E.; Ramírez, V. P.; Castillo, G. F.; Soto, H. M.; Rodríguez, G. M. T. y Chávez, S. J. L. 2005. Capsaicinoides y preferencia de uso en diferentes morfotipos de chile (*Capsicum annuum* L.) del centro-oriente de Yucatán. Agrociencia 39:627-638.
- Chávez, A. J. J.; Zavaleta, M. E. y Téliz, O. D. 1995. Control integrado de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) ocasionado por el hongo *Phytophthora capsici* LEO. en la Región de Valsequillo, Puebla, México. Fitopatología 30(1):47-55.
- Chávez, D. I. F. y Zavaleta, M. E. 2019. Comunicación molecular en el patosistema *Capsicum* spp. – *Phytophthora capsici*. Mexican Journal of Phytopathology. 37(2): 251-278.
- Collins, M. D.; Meyer, L. and Bosland, P.W., 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in capsicum using high performance liquid chromatography. HortScience 30 (1): 137–139.
- Cruz-Pérez, A. B.; González-Hernández, V. A.; Soto-Hernández, R. M.; Gutiérrez-Espinosa, M. A.; Gardea-Béjar, A. A. y Pérez-Grajales, M. 2007. Capsaicinoides, Vitamina C y Heterosis durante el desarrollo del fruto de Chile manzano. Agrociencia. 41 (6): 627-635.
- Cui, Z.; Carter, E. T.; Burton, W. J. and Wells, R. 2001. Phenotypic diversity of modern Chinese and north American soybean cultivars. Crop Science 41:1954-1967.
- De la Cruz-Lázaro, E.; Márquez-Quiroz, C.; Osorio-Osorio, R.; Preciado-Rangel, P., y Márquez-Hernández, C. 2017. Caracterización morfológica *in situ* de chile silvestre Pico de paloma (*Capsicum frutescens*) en Tabasco, México. Acta Universitaria, 27(2): 10-16.

- Erwin, D. and Ribeiro, O. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathological Society. USA. 562 p.
- Eshbaugh, W.H. 1980. The taxonomy of the genus *Capsicum* (Solanaceae). *Phytologia* 47:153-166.
- FAO. 2022. FAOSTAT. Estadísticas de cultivos y productos de ganadería 2020. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. 5 de noviembre de 2022.
- Gavilán, G. N.; Tito, R. and Gamarra, M. N. 2018. Capsaicinoids and pungency in *Capsicum chinense* and *Capsicum baccatum* fruits. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 48(3): 237-244.
- Giuffrida, D.; Dugo, P.; Torre, G.; Bignardi, C.; Cavazza, A.; Corradini, C. and Dugo, G. 2013. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. *Food Chemistry* 140:794–802.
- Glosier, B. R.; Ogundiwin, E. A.; Sidhu, G.S.; Sischo, D. R. and Prince, J. P. 2008. A differential series of pepper (*Capsicum annuum*) lines delineates fourteen physiological races of *Phytophthora capsici*. *Euphytica* 162:23–30.
- Gómez, R. O.; Corona, T. T. and Aguilar, R. V. H. 2017. Differential response of pepper (*Capsicum annuum* L.) lines to *Phytophthora capsici* and root-knot nematodes. *Crop Protection* 92:148–152.
- Guerrero, M. A. and Laborde, J. A. 1980. Current status of pepper breeding for resistance to *Phytophthora capsici* in Mexico. Synopses of the IVth Meeting of the Capsicum. Working Group of Eucarpia I.V.T. Wageningen, The Netherlands. pp: 52-56.
- Guigón-López, C. y González-González, P. A. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el Sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:49-56.
- Guigón, L. C. y González, G. P. A. 2004. Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 22(1):117-124.
- Hall, R. D.; Holden, M. A. and Yeoman M. M. 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.
- Hernández, H.J.; Becerra, N.C. y Arcos, G.C. 1991. Identificación de daños causados por fitopatógenos en el cultivo de chile jalapeño. *Memorias del XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. p. 25 Puebla, Puebla, México

- Hernández-Verdugo, S.; Guevara-González, R. G.; Rivera-Bustamante, R. F.; Vázquez-Yanes, C., y Oyama, K. 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum* spp.) como recursos genéticos. Boletín de la Sociedad Botánica de México 62: 171 - 181.
- Hernández-Verdugo, S.; Porras, F.; Pacheco-Olvera, A.; López-España, R. G.; Villarreal-Romero, M.; Parra-Terraza, S. y Osuna-Enciso, T. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. Polibotánica 33:175-191.
- Hernández, V. A.E. 2013. Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Revista Bio Ciencias 2(3): 113-118.
- IPGRI (International Plant Genetic Resources). 1995. Descriptores para *Capsicum* spp. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Centro Asiático para el Desarrollo e Investigación Relativo a los Vegetales y Centro Agronómico Tropical de Investigación. Roma, ITA.
- Kim J. S.; Kim W. I.; Jee, H. J., Gwang, J. G., Kim, C. K. and Shim, C. K. 2010. Evaluation of resistance in hot pepper germplasm to Phytophthora blight on biological assay. Korean J. Hort. Sci. Technol. 28(5):802-809.
- Kosuge, S. and Furuta, M. 1970. Studies on the pungent principle of *Capsicum*. Part XIV: Chemical constitution of the pungent principle. Agricultural and Biological Chemistry. 34, 248–256.
- Laborde, C. J. A. y Pozo, C. O. 1984. Presente y Pasado del Chile en México. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Publicación Especial No. 85. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (SARH-INIA), México. 80 p.
- López, L. P. y Castro, G. F. H. 2006. La diversidad de los chiles (*Capsicum* spp., Solanaceae) de Oaxaca. In: Avances de Investigación de la Red de Hortalizas del SINAREFI. P López L, S Montes H (eds). Libro Científico Núm. 1. Campo Experimental Bajío INIFAP. Celaya, Guanajuato, México. pp:135-178.
- López, L. P. y Pérez, B. D. 2015. El chile huacle (*Capsicum annuum* sp.) en el estado de Oaxaca, México. Revista Agroproductividad 8(1):35-39.
- Lozano, A. N.; Guzmán, P. R. A.; Zavaleta, M. E. y Aguilar, R. V. H. 2015. Etiología y evaluación de alternativas de control de la marchitez del chile de árbol (*Capsicum annuum* L.) en la Vega de Metztlán, Hidalgo, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 33(1): 31-53.
- Martínez-Sánchez, D.; Pérez-Grajales, M.; Rodríguez-Pérez, J. E. y Moreno-Pérez, E. C. 2010. Colecta y caracterización morfológica de "chile de agua (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. Revista Chapingo Serie Horticultura 16(3): 169-176.

- Méndez, A. R.; Rodríguez, G. R.; Ramírez, M. M.; Álvarez O. M. G.; Vázquez, G. E.; Arcos, C. G.; Tenorio, P. V.; Hernández, D. S. y Mayek, P. N. 2015. Identificación de fuentes de resistencia a pudriciones de la raíz en germoplasma de chile serrano (*Capsicum annuum* L.), Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 6(7): 1507-1518.
- Mohammad, R., Ahmad, M. and Yook, H. L. 2013. An Amperometric Biosensor Utilizing a Ferrocene-Mediated Horseradish Peroxidase Reaction for the Determination of Capsaicin (Chili Hotness). Sensors. 13: 10014-10026.
- Montoya-Ballesteros, L. C., Gardea-Béjar, A., Ayala-Chávez, G.M., Martínez-Núñez, Y. Y. y Robles-Ozuna, L.E. 2010. Capsaicinoids and color in chiltepin (*Capsicum annuum* var. *aviculare*). processing effect on sauces and pickles. Revista Mexicana de Ingeniería Química 9:197-207.
- Morales, F. S. D.; Moreno, V. D.; Trinidad, D. J. S.; Vázquez C. F.; Ibáñez, M. F. y Tobar, R. J. R. 2020. Fenología y contenido de capsaicinoides en chile producidos en condiciones de invernadero. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 11(3): 663-675.
- Morán, B. S. H.; Aguilar, R. V. H.; Corona, T. T. y Zavaleta, M. E. 2010. Resistencia a *Phytophthora capsici* Leo. de chiles nativos del sur de Puebla, México. Revista Fitotecnia Mexicana 33(4):21-26.
- Morán-Bañuelos, S. H., V. H. Aguilar-Rincón, T. Corona-Torres, Castillo-González, F., Soto Hernández, R. M. y San Miguel-Chávez, R. 2008. Capsaicinoides en chiles nativos de Puebla, México. Agrociencia 42: 807-816.
- Moreno-Pérez, E. C.; Avendaño-Arrazate, C. H.; Mora-Aguilar, R.; Cadena-Iñiguez, J.; Aguilar-Rincón, V. H. y Aguirre-Medina, J. F. 2011. Diversidad morfológica en colectas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) del centro-norte de México. Revista Chapingo Serie Horticultura 17(1):23-30.
- Naresh, P.; Rao, V. K.; Reedy, B. L.; Reddy, C. A.; Venkatachalapathi, V. and Reddy, K. M. 2016. Genetic analysis for fruit biochemical traits (capsaicinoids and carotenoids) and dry fruit yield in chilli (*Capsicum annuum* L.). Industrial Crops and Products. 94: 920-931.
- Orellana, E. L.; García, A. L.E.; Olivas, G. I.; Ornelas, P. J. J. and Sepulveda, D. R. 2013. Capsaicinoids content and proximate composition of Mexican chili peppers (*Capsicum* spp.) cultivated in the State of Chihuahua. Cyta-Journal of Food. 11(2): 179-184.
- Ortega, G. R.; Palazón, E. C. and Cuartero, J. Z. 1991. Genetics of resistance to *Phytophthora capsici* in the pepper line 'SCM-334'. Plant Breeding. 107:50-55.
- Ortiz, R.; Delgado, F. F; Alvarado, G. and Crossa, J. 2010. Classifying vegetable genetic resources- A case study with domesticated *Capsicum* spp. Scientia Horticulturae 126:186-19.

- Oelke, L. M.; Bosland, P. W. and Steiner, R. 2003. Differentiation of race specific resistance to *Phytophthora* root rot and foliar blight in *Capsicum annuum*. Journal of the American Society for Horticultural Science. 128(2):213-218.
- Ogundiwin, E. A.; Berke, T. F.; Massoudi, M.; Black, L. L.; Huestis, G. Choi, D.; Lee, S. and Prince, P. J. 2005. Construction of 2 intraespecific linkage maps and identification of resistance QTLs for *Phytophthora capsici* root-rot and foliar-blight diseases of pepper (*Capsicum annuum* L.). Genome 48:698-711.
- Palma, M. E.; Aguilar, R. V. H.; Corona, T. T. y Gómez, R. O. 2017. Resistencia a *Phytophthora capsici* Leo. en líneas de chile huacle (*Capsicum annuum* L.). Rev. Fitotec. Mex. 40 (3):359–363.
- Paran, I. and Knaap, V. D. E. 2007. Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. Journal of Experimental Botany. 58(14). pp. 3841-3852.
- Pickersgill, B. 1989. Genetic resources of *Capsicum* for tropical regions. In: S.K. Green (Ed). Tomato and Pepper Production in the Tropics, pp. 1–9. Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of Plants in the Americas: Insights from Mendelian and Molecular Genetics. Annals of Botany 100: 925-940.
- Pozo, C. O. 1981. Descripción de tipos y cultivares de chile (*Capsicum* spp.) en México. Vol. 17. Folleto Técnico. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México.
- Ramírez, M. M. y Méndez, R. A. 2018. Mejoramiento genético de los chiles comerciales en México. Los chiles que le dan sabor al mundo. Aguilar, M. A.; Vásquez, D. M. A.; Katz, E. y Hernández, C. M. R. (Coord.). Universidad Veracruzana. pp: 286-300.
- Retes, M. J. E.; Aragón, R. W. A.; Márques, Z. I.; Cruz, L. I.; García, E. R. S. and Sy, O. 2020. Novel Sources of Resistance to *Phytophthora capsici* on Pepper (*Capsicum* sp.) Landraces from Mexico. Plant Pathol. J. 36(6):600–607.
- Reyes, T. A.; Rodríguez, A. G.; Luna, R. J. J.; Arreola, R. V.; Arriaga, S. K. L.; Gómez, D. N. and Fernández, P. S. P. 2021. Tolerance to Virulence Phenotypes of *Phytophthora capsici* in Pasilla Pepper Cultivars. HortScience 56(10): 1239–1243.
- R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>.
- Riva-Souza, E.M.; Rodrigues R.; Pombo, S. C.; Gonzaga, P. M.; Dos Santos B. C. and De Pina, M. F. 2009. Genetic parameters and selection for resistance to bacterial spot in recombinant F6 lines of *Capsicum annuum*. Crop Breeding and Applied Biotechnology 9: 108-115.

- Rodríguez, C. E. 2018. La diversidad genética de *Capsicum annuum* de México. Los chiles que le dan sabor al mundo. Aguilar, M. A.; Vásquez, D. M. A.; Katz, E. y Hernández, C. M. R. (Coord.). Universidad Veracruzana. pp: 52-67.
- Roig, J. M.; Occhiuto, P.; Piccolo, R. J. y Galmarini, C. R. 2009. Evaluación de resistencia a *Phytophthora capsici* Leo. en germoplasma argentino de pimiento para pimentón. Horticultura Argentina. 28(66): 5-9.
- Sanogo, S. 2006. Predispositional effect of soil water saturation on infection of chile pepper by *Phytophthora capsici*. HortScience 41(1):172-175.
- SIAP. 2017. Escala Scoville: ¿hasta cuántas unidades resiste?. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Consulta 19 de noviembre de 2022. <https://www.gob.mx/siap/articulos/escala-scoville-hasta-cuantas-unidades-resiste>
- SIAP. 2022. Panorama Agroalimentario 2021. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Ciudad de México. 214 p.
- SIAP. 2022. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. 10 de noviembre de 2022.
- Su, J. J.; Sun, A. S.; Kyoung, S. J.; Yong, H. C.; Jin, C. K. and Gyung, J. C. 2014. Resistance of chili pepper cultivars to isolates of *Phytophthora capsici*. Korean J. Hort. Sci. Technol. 32(1):66–76.
- Stipcovich, T.; Barbero, G.F.; Ferreiro G. M.; Palma, M. and Barroso, C. G. 2017. Fast analysis of capsaicinoids in Naga Jolokia extracts (*Capsicum chinense*) by high-performance liquid chromatography using fused core columns, Food Chemistry. 239: 217-224.
- Sy, O.; Steiner, R. and Bosland, P. W. 2008. Recombinant inbred line differential identifies race-specific resistance to *Phytophthora* root rot in *Capsicum annuum*. Phytopathology. 98(8):867–870.
- Trejo, S. D. y Rivera, R. B. 2018. El genoma del chile (*Capsicum annuum*). Los chiles que le dan sabor al mundo. Aguilar, M. A.; Vásquez, D. M. A.; Katz, E. y Hernández, C. M. R. (Coord.). Universidad Veracruzana. pp: 41-51.
- Vanderplank, J. E. 1968. Disease resistance in plants. Academic Press Inc. New York. 206 p.
- Vázquez-Flota, F.; Miranda-Ham M. de L.; Monforte-González, M.; Gutiérrez-Carbajal G.; Velázquez-García, C. y Nieto-Pelayo, Y. 2007. La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. Rev. Fitotec. Mex. 30 (4): 353 – 360.
- Vera, G., A. M.; Chávez, S. J.L. Carrillo, R. J.C. and López, G. M. 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(4):578-585.

Villar, L. H.; Corona, T. T.; Castillo, G. F.; Gómez, R. O.; Segura, L. O. y Aguilar R. V. H. 2022. Genética de la resistencia a *Phytophthora capsici* de la línea de Chile 41-1 (*Capsicum annuum*). Rev. Fitotec. Mex. 45 (2): 211-217.

Whiting, S., Derbyshire, E., Tiwari, B. K. 2012. Capsaicinoids and capsinoids. A potential role for weight management? A systematic review of the evidence. Appetite, 59: 341-348.

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

Zewdie, W. and Bosland, P. W. 2000. Evaluation of genotype, environment, and genotype-by-environment interaction for capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. Euphytica 111: 185-190.

Zhou, X.; Carter, T.E.; Cui, Z.; Miyazaki, S. and Burton, J. W. 2002. Genetic diversity patterns in Japanese soybean cultivars based on coefficient of parentage. Crop Science 42:1331-1342.