

DIFERENCIAS GENÉTICAS Y ESTRUCTURA DE POBLACIONES DE *Capsicum* spp. CON SECUENCIAS SIMPLES REPETIDAS (SSRs)

Yasmín Araceli Gálvez-Muñoz¹, María Esther Cea-Migenes², Régulo Ruíz Salazar³, Guillermo Castañón-Nájera¹, Luis Latournerie-Moreno⁴ y Moisés Ramírez-Meraz⁵

RESUMEN

Entre las Solanáceas, *Capsicum* spp. es un género de hortalizas muy importante a nivel mundial, y cultivada extensamente en México. El objetivo del trabajo fue conocer la relación, diversidad y estructura genética de 14 poblaciones de *Capsicum* spp. (seis del estado de Tabasco y cinco de Tamaulipas, México, y tres de Cuba). Los cuatro oligonucleótidos identificaron 202 alelos, 38 de ellos fueron polimórficos. El mayor número de alelos (65) los amplificó el oligo *HpmsCaSIG19* y *Hpms1-274* detectó el menor número de alelos (35), la media de alelos fue de 50,5. La estructura genética de las poblaciones se estimó con los índices de fijación F. El valor de la diversidad entre regiones (Φ_{IRT}) fue 0,264, lo que significa que las poblaciones presentaron 73,6% de variación entre ellas. Se encontró alta diversidad entre subpoblaciones dentro de regiones ($\Phi_{IPR}=0,412$). El Φ_{IPT} (análogo del F_{ST})=0,567, puede interpretarse como alta diferenciación en las frecuencias génicas de las poblaciones evaluadas. El análisis clúster clasificó a las 14 poblaciones a una distancia de 11 en cinco grupos. Los clústeres I y III fueron formados por cuatro poblaciones cada uno, mientras que dos poblaciones por cluster se observaron en el clúster II, IV y V. En este análisis, la población Cachucha (Cach) de Cuba no se relacionó con las retrocruzas Habanero x Amashito (RCHaAm) y Garbanzo x Habanero (RCGaHa), tampoco a la población Habanero de Tabasco, México.

Palabras clave adicionales: *Capsicum* spp., diversidad genética, marcadores SSRs, poblaciones de Chile, relaciones filogenéticas

ABSTRACT

Genetic differences and population structure of *Capsicum* spp. populations with simple sequences repeat markers (ssrs)

In the Solanaceae family, *Capsicum* spp. is a worldwide important vegetable genus, and widely cultivated in Mexico. The objective of this research was to know the genetic relation, genetic diversity, and genetic structure of fourteen populations of *Capsicum* spp. (six from Tabasco, five from Tamaulipas, Mexico, and three from Cuba). The four oligonucleotides identified 202 alleles, 38 of them were polymorphics. The majority of alleles (65) were amplified by oligo *HpmsCaSIG19*, and *Hpms1-274* detected a small amount of alleles (35); the average of alleles was 50,5. The genetic structure of the population was estimated with the F fixation indices. The value of the diversity between regions (Φ_{IRT}) was 0,264, this means that the populations presented 73,6% of variation between them. High diversity was found among subpopulations and inside regions ($\Phi_{IPR}=0,412$). The Φ_{IPT} (analog of F_{ST})=0,567, can be interpreted as high differentiation in the genic frequency of the populations that were evaluated. The cluster analysis classified the fourteen populations at a distance of 11 in five groups; the clusters I and III were formed by four populations on each one, while, two populations per cluster were observed in the clusters II, IV, and V. In this analysis, the population Cachucha of Cuba was not related with the backcrosses Habanero x Amashito (RCHaAm) and Garbanzo x Habanero (RCGaHa), and it was not related to the Habanero population of Tabasco Mexico.

Additional Keywords: *Capsicum* spp., chili populations, genetic diversity, phylogenetic relations, SSR markers

INTRODUCCIÓN

En la familia de las Solanáceas, el género *Capsicum* reviste gran importancia, y es

extensamente cultivado en México. De acuerdo con el SNICS (2017) las especies de Chile que se cultivan son *C. annum*, *C. chinense* Jacq., *C. pubescens*, *C. frutescens* y *C. bacatum*, y

Recibido: Mayo 30, 2023

Aceptado: Noviembre 11, 2023

¹División Académica de Ciencias Biológicas-Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. e-mail: yasminaraceli-gm@hotmail.com; guillermo.castanon@ujat.mx (autor de correspondencia)

²Universidad Agraria de La Habana "Fructuoso Rodríguez Pérez". San José de Las Lajas, Mayabeque, Cuba. e-mail: mceamigenes@gmail.com

³Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Reynosa, Tamaulipas, México. e-mail: regulo.ruiz@docente.ujat.edu.mx

⁴Instituto Tecnológico de México. Conkal, Yucatán, México. e-mail: sayilhabil@yahoo.com.mx

⁵Campo Experimental Las Huastecas, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Tampico, Tamaulipas, México. e-mail: mramirezzm@yahoo.com.mx

alrededor de 25 silvestres y semicultivadas. De las especies cultivadas, *annuum* es la más importante en el Mundo, y en México se han identificado 64 tipos diferentes de chile. La importancia de estudiar la diversidad y estructura genética de *Capsicum* spp., se debe a que con ello se contribuye a la conservación y al uso sostenible de este importante recurso fitogenético (Pérez et al., 2015). El chile también es importante por ser un alimento que posee alto nivel nutricional, se consume en fresco, se usa como condimento y/o especia, además, tiene importancia económica y cultural (Campos et al., 2015; Konishi et al., 2019; Guzmán et al., 2020). El centro de origen de *Capsicum* aún en estos días es incierto. No obstante, a Mesoamérica (México y Guatemala principalmente) se le considera como centro de origen y domesticación de *Capsicum annuum* (Kraft et al., 2014; Annupama et al., 2018). La especie *C. annuum* agrupa numerosas variantes las cuales se encuentran diferenciadas entre sí por características como tamaño, forma, color, aroma, sabor y grado de pungencia del fruto, entre otros (Bobadilla et al., 2017).

Distintos aspectos de variabilidad tales como diversidad genética y estructura poblacional de *Capsicum* spp. se han estudiado principalmente con base a caracteres morfológicos y con marcadores moleculares (Taranto et al., 2016; Xiao et al., 2016; Gu et al., 2019).

Entre los marcadores moleculares empleados en *Capsicum* spp. para determinar la diversidad genética y la estructura de poblaciones silvestres, semi silvestres, criollas o cultivadas se reportan los AFLP, RAPDs, RFLP, ISSR, SNP y SSRs (Ibarra et al., 2015; Alayachew et al., 2017; Kuria et al., 2018). Otro grupo de marcadores moleculares que también se han empleado en estas plantas lo integran ScoT, RAMPO, ESTPs, COS, ACGMs, GSTs y RGAs (Haralayya y Asha, 2017; Igwe et al., 2019). De acuerdo con Aranguren et al. (2005), los marcadores microsatélites o secuencias simples repetidas (SSRs), se diferencian de la mayoría de los marcadores moleculares mencionados en que estos son marcadores co-dominantes, lo que permite detectar la presencia de los dos alelos y por ende determinar la naturaleza homocigótica o heterocigótica de un individuo; además de un alto nivel de polimorfismo que le permite detectar mayor número de loci, y de ser fáciles de

interpretar y analizar. Es por ello quizá, que en los últimos años los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSRs) son de los marcadores más usados en estudios de ADN tanto en *Capsicum* como en otras especies de importancia económica.

El objetivo del presente trabajo fue conocer la relación, la diversidad, y la estructura genética de 14 poblaciones de *Capsicum* spp. con marcadores de secuencias simples repetidas (SSRs).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material genético. El material experimental estudiado fueron 14 poblaciones de chile (*Capsicum* spp.), entre ellas se encuentran silvestres, criollas, semi-comerciales, comerciales y retrocruzas. De las poblaciones evaluadas, seis son de Tabasco y cinco de Tamaulipas, México, y tres de Cuba. El germoplasma cubano se incluyó en la investigación por el hecho de que aparentemente la variedad Cachucha (Cach) es el progenitor del Habanero, variedad comercial que se siembra ampliamente en el Sur-Sureste de la república mexicana; y el Ají Caribe (AC), población de Cuba, la cual guarda cierta similitud morfológica con Pico de Paloma (PP) de Tabasco, México (datos no publicados). El Cuadro 1 expone el nombre común de cada población, la especie a que pertenece, el acrónimo y el origen geográfico en dónde se colectó cada una de ellas.

Siembra de las poblaciones. Las poblaciones se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades en el año 2017; antes de la siembra las charolas se desinfectaron con cloro al 5 %. El sustrato empleado para germinar las poblaciones fue Peat-Moss (Cosmopeat). Una vez terminada la siembra, las charolas se colocaron dentro de un invernadero de malla antiáfidos ubicado en la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, localizada a los 17°59' N y 92°58' W, 9 msnm. El sitio experimental presenta clima cálido húmedo, con lluvias fuertes en la temporada calurosa, y temperatura media anual de 27 °C (Ruíz et al., 2012).

Extracción de ADN. Para la extracción del ADN se empleó el procedimiento propuesto por Dellaporta et al. (1983), para ello, posterior a los 35 días después de la germinación (ddg) de cada una de las poblaciones se cortaron 4 plántulas, y

Gálvez et al. Diferencias genéticas y estructura de poblaciones de *Capsicum* spp.

de cada una de ellas se tomaron 12 hojas jóvenes. De esas hojas (48 en total por población), se hicieron tres repeticiones de 0,5 g de follaje fresco. El material vegetal (hojas) se maceró en un mortero con pistilo de porcelana y nitrógeno

líquido, todo el procedimiento realizado en el Laboratorio de Genómica Molecular de la DACBIOL. En el Cuadro 2, se presentan los cuatro marcadores moleculares SSRs que fueron empleados en el presente estudio.

Cuadro 1. Nombre común y origen de las poblaciones de chile (*Capsicum* spp.) de los estados de Tabasco y Tamaulipas, México, y Cuba.

Población	Origen	Acrónimo	Especie
Pico de Paloma	Ejido Vicente Guerrero, Tabasco, México	PPVG	<i>C. frutescens</i> L.
Pico de Paloma	Ejido Cerro Blanco, Tabasco, México	PPCB	<i>C. frutescens</i> L.
Garbanzo	Ejido el Porvenir, Tabasco, México	Gar	<i>C. annuum</i> L.
Retrocruza Habanero x Amashito	DACBIOL, Tabasco, México	RCHaAm	<i>C. chinense</i> Jacq. x <i>C. annuum</i> L.
Retrocruza Garbanzo x Habanero	DACBIOL, Tabasco, México	RCGaHa	<i>C. annuum</i> L. x <i>C. chinense</i> Jacq.
Habanero	Villahermosa, Tabasco, México	Hab	<i>C. chinense</i> Jacq.
Ozulamero	Tamaulipas, México	Ozu	<i>C. annuum</i> L.
Chilpaya Tabasco	Tamaulipas, México	ChiTab	<i>C. annuum</i> L.
Piquín Huasteco	Tamaulipas, México	PiqHuas	<i>C. annuum</i> L.
Piquín	Tamaulipas, México	Piq	<i>C. annuum</i> L.
Chile Huerta	Tamaulipas, México	ChiHue	<i>C. annuum</i> L.
Chay	La Habana, Cuba	Chay	<i>C. annuum</i> L.
Cachucha	La Habana, Cuba	Cach	<i>C. chinense</i> Jacq.
Ají Caribe	Santiago de las Vegas, Cuba	AC	<i>C. frutescens</i> L.

Cuadro 2. Descripción de los marcadores moleculares secuencias simples repetidas (SSRs) usados en 14 poblaciones de *Capsicum* spp. de Tabasco y Tamaulipas, México, y Cuba.

Locus	Unidad repetitiva	Iniciador (Delante/Reversa)	Tm (°C)	TF (Pb)
<i>Hpms1-106</i>	(AAAAAT) ₄	HEX: tccaaactacaagcctgcctaacc/ ttttgcattattgagtcccacagc	53	158-164
<i>Hpms1-143</i>	(AG) ₁₂	6-FAM: aatgctgagctggcaaggaaag/ tgaaggcagtaggtggggagtg	53	220-232
<i>Hpms1-274</i>	(GTT) ₇	HEX: tcccagaccctcgtgatag/ tcctgctcctccacaactg	56	162-180
<i>HpmsCaSIG19</i>	(CT) ₆ (AT) ₈ (GTAT) ₅	HEX: catgaatttcgtcttgaaggctcc/ aagggtgtatcgtacgcagcctta	54	216-223

Tm= Temperatura de fusión del primer, TF: Tamaño del fragmento.

La amplificación de los marcadores en el ADN de cada muestra poblacional evaluada se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa múltiple (PCR-múltiple), donde la mezcla de reacción fue de 25 μL , de los cuales 16,375 μL correspondieron a agua libre de nucleasas ($\text{H}_2\text{O}+\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$), 1 μL de iniciadores (0,5 μL iniciador sentido, 0,5 μL iniciador anti sentido), 5 μL 5X Green buffer, 0,5 μL de dNTP's, 0,125 μL de Taq polimerasa (5 U μL^{-1}) y 2 μL de ADN. La amplificación del ADN se llevó a cabo bajo las siguientes condiciones de PCR: desnaturalización inicial de 4 min a 94 °C, 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 65 °C, 2 min a 72 °C y una extensión final de 12 min a 72 °C. La evaluación de la cantidad y calidad del ADN se llevó a cabo en geles de agarosa al 1.2 %; para ello se usó una solución amortiguadora de ácido bórico de sodio al 1X o solución SB como medio conductor para electroforesis de ADN (Brody y Kern, 2004).

Los productos amplificados por PCR se colocaron en geles de agarosa al 1.2% y fueron aislados mediante la aplicación de 160 voltios (V) y una corriente de 50 miliamperes (mA) por un periodo de 100 min. La visualización de los geles fue en un transiluminador de luz ultravioleta. El peso molecular de los fragmentos de ADN obtenidos se determinó mediante el marcador de 100-1000 pares de bases ADN Ladder (Promega). Se usó la escala binaria de 0 (ausencia) y 1 (presencia) para cuantificar las bandas.

Análisis estadístico. Las bandas de ADN observadas en los geles permitieron formar la matriz binaria (0,1); el 0 se asignó a la ausencia de amplicón, y el 1 a la presencia de éste. El análisis molecular de varianza (AMOVA), se realizó con el paquete estadístico GenAlEx V6.5 (Peakall y Smouse, 2012) para estimar la variabilidad genética entre regiones, entre poblaciones y dentro de poblaciones (Balzarini et al., 2010). Los estadísticos de fijación Φ_{RT} , Φ_{PR} y Φ_{PT} (análogo de F_{ST}), se calcularon de acuerdo a Wright (1965) para determinar la estructura genética de las poblaciones evaluadas. La relación filogenética entre las poblaciones se determinó con el paquete Statistical Analysis System – SAS v2009 (Cary, NC, USA). El dendrograma de las poblaciones evaluadas se efectuó por el método de ligamiento completo por agrupamiento de promedios aritméticos no ponderados UPGMA

(por sus siglas del inglés) mediante la distancia euclidiana.

El análisis de inferencia bayesiana se realizó con el programa Structure 2.3.4 (Pritchard et al., 2012), donde todos los individuos de las 14 poblaciones se analizaron juntos mediante un modelo de coancestría mixto con frecuencias alélicas correlacionadas con los parámetros 450,000 periodos de rodaje y 400,000 repeticiones de cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC) después de los periodos de rodaje. El número óptimo de poblaciones con el cual se puede representar la diversidad genética total de las muestras estudiadas fue determinado mediante el software en línea Structure Harvester (Earl y vonHoldt, 2012) con el cual se obtuvieron los estadísticos LnP(D) y $\Delta K=5$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los cuatro marcadores empleados en esta investigación determinaron 202 alelos (38 loci polimórficos) con un promedio de 50,5 alelos. El número más alto de alelos (65) los amplificó el oligo *HpmsCaSIG19* y el menor número (35) correspondieron a *Hpms1-274*. Los alelos encontrados en esta investigación superan a lo conseguido en los estudios desarrollados por De Jesus et al. (2019) con 25 marcadores, y Tizar et al. (2020) con 15 marcadores, con variedades de *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum* y *C. annuum*, originarias de Brasil e Indonesia respectivamente. Los resultados hallados en el presente trabajo también superaron a lo encontrado en *Capsicum* por Hussein y Mahdi (2016), quienes en 22 cultivares de Chile con seis marcadores SSRs detectaron 33 bandas (24 de ellas polimórficas). También resultaron superiores a lo reportado por Gu et al. (2018), quienes detectaron un promedio de 15,83 alelos con cada uno de los marcadores empleados. Por su parte, Patel et al. (2011), Dhaliwal et al. (2014) y Sharmin et al. (2018) encontraron similar número de alelos en sus investigaciones con Chile a los identificados en la presente investigación. Mientras que Nicolaï et al. (2013), reportó mayor número de alelos (510) que los registrados en el trabajo en cuestión, pero con 28 marcadores. Empero, el promedio de alelos detectados fue similar en ambas investigaciones. Por otro lado,

Gálvez et al. (2021) utilizaron los mismos cuatro marcadores evaluados en 21 poblaciones de *Capsicum* spp. y encontraron que HpmsCaSIG19 amplificó 73 bandas y Hpms1-274 solo 45, valores superiores a los de la presente investigación, lo cual que se atribuye al número mayor de poblaciones evaluadas. Lo anterior sugiere que para futuras evaluaciones se podría suprimir el uso del marcador HpmsS1-274.

De acuerdo con los resultados de los investigadores citados y al comparar los de ellos con los obtenidos en esta investigación, se podría establecer que el número de alelos y el polimorfismo de éstos, va a estar determinado por los marcadores probados, y el germoplasma evaluado en cada trabajo, a la reproducción sexual ya que ésta permite la combinación de diferentes alelos al presentarse la fertilización; si bien *Capsicum* es considerada una planta autógama, se tienen reportes que puede haber hasta un 30% de alogamia, lo que contribuye a la diversidad genética de las poblaciones. Lo anterior se sustenta en lo reportado por Alayachew et al. (2017), quienes utilizaron cinco oligonucleótidos ISSR, con los cuales obtuvieron 37 bandas, y de ellas 35 (94,6%) fueron polimórficas. Esta diferencia en el número de alelos encontrados en cada investigación es posible que se deba a que en el presente trabajo nueve de las 14 poblaciones estudiadas son silvestres o semi silvestres, y en las investigaciones citadas los germoplasmas ensayados fueron principalmente variedades e híbridos comerciales. Además, de que los cuatro iniciadores probados en la presente investigación se seleccionaron con base en los resultados que reportaron sobre ellos Contreras et al. (2011), y los mismos fueron evaluados en sus trabajos por Toledo et al. (2016), e Ibarra et al. (2015). En relación al contenido de información polimórfica (PIC) promedio de los cuatro iniciadores fue de 0,70, similar al 0,77 reportado por Ibarra et al. (2015); pero superior al PIC=0,535 hallado por Leite et al. (2016) con 12 marcadores SSR del tipo CAMS. La posible respuesta a esta discrepancia de resultados es a las colecciones de *Capsicum* evaluadas, al número y/o al tipo de marcadores evaluados en cada investigación.

El análisis molecular de varianza (AMOVA) (Cuadro 3) muestra que el 26,0 % de la diversidad

genética se detectó entre regiones. La variación entre poblaciones fue 31,0%, y el mayor porcentaje de variación (43,0 %) correspondió a dentro de poblaciones (el Chile es considerado una planta autógama, pero se ha observado que en condiciones de campo el cruzamiento entre poblaciones de una misma especie, y entre especies ocurre fácilmente). Así mismo, Kuria et al. (2018) y Castañón et al. (2014) con AFLP, encontraron que regiones, entre poblaciones y dentro de poblaciones detectaron 2, 58 y 41 %; y 26, 31 y 43 % de varianza molecular, respectivamente, que en su mayoría son porcentajes inferiores a los reportados en el presente trabajo. Singh et al. (2013), al evaluar variedades de arroz en diferentes regiones en India, encontraron que la diversidad para regiones fue de 1 %, lo que representa un valor muy bajo. Lee et al. (2020), en su trabajo con la especie *Lintela edodes*, encontraron que para regiones la variación fue de 1%, mientras que entre y dentro de cepas (poblaciones), los valores fueron 66 y 33 %, respectivamente. El valor de 33 % fue inferior mientras que el 66 % fue superior a los porcentajes de variación aquí reportados. Islam et al. (2016), en su evaluación de 171 colecciones de *C. annuum*, encontraron que el porcentaje de varianza explicada entre y dentro de accesiones fue de 45 y 54 %, lo cual indica que el porcentaje de varianza entre poblaciones y dentro de poblaciones en su investigación supera a los porcentajes de varianza encontrados por nosotros, aunque se debe considerar que en su estudio dichos autores no estimaron la varianza de regiones; esto debió tener un efecto de diferencia entre las varianzas (entre y dentro de poblaciones) encontradas en las dos investigaciones, y no el número de accesiones o poblaciones de Chile evaluadas. Otra posible explicación a estas discrepancias, con respecto a los porcentajes de variación detectados en las diferentes investigaciones, puede deberse al germoplasma, a las especies evaluadas, al sistema reproductivo de *Capsicum* spp. o al tipo de marcadores usados en cada investigación, y posiblemente al número de poblaciones o accesiones evaluadas, lo cual se sustenta en lo reportado por Ibarra et al. (2015).

Cuadro 3. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) de poblaciones de *Capsicum* spp. de Tabasco y Tamaulipas, México, y Cuba evaluadas con cuatro marcadores secuencias simples repetidas (SSRs)

FV	GL	SC	CM	% VarEst	% VarEst
Regiones	2	18,344	9,172	0,493	26,0
Poblaciones/Regiones	11	27,656	2,514	0,568	31,0
Dentro de Poblaciones	28	22,667	0,810	0,810	43,0
Total	41	68,667		1,218	100

FV= Fuente de variación, GL= Grados de libertad, SC=Suma de cuadrados, CM=Cuadrados medios, VarEst= Varianza Estimada, %VarEst= Porcentaje de varianza estimada, $\Phi_{RT}=0,264^{**}$, $\Phi_{PR}=0,412^*$, $\Phi_{PT}=0,567^{**}$, $n_m=0,191$ número de alelos efectivos.

Los estadísticos F de Wright mostraron valores altos, el $\Phi_{RT}=0,264$, se interpreta que la diversidad entre Regiones es grande entre el total de Poblaciones. En tanto que el estadístico $\Phi_{PR}=0,412$ entre subpoblaciones dentro de Regiones es alto, y el Φ_{PT} (análogo de F_{ST})=0,567 indica que las Poblaciones evaluadas presentaron alta diferenciación genética, la que puede ser aprovechada con la aplicación de métodos de mejoramiento genético para generar nuevos cultivares de Chile. Valor muy superior al reportado por Pacheco et al. (2012), quienes obtuvieron un $F_{ST}=0,280$ para las poblaciones silvestres y criollas que evaluaron con siete marcadores del tipo EPMS. Toledo et al. (2016), reportaron el valor del índice F_{ST} de 0,308, y Castañón et al. (2014) con marcadores AFLP encontraron un valor de F_{ST} (Φ_{PT}) = 0,373, indicando que la diferenciación genética fue grande entre las poblaciones evaluadas en su investigación, pero también inferior al encontrado en el presente trabajo.

El análisis clúster (Figura 1) con distancia Euclidiana igual a 11, las poblaciones evaluadas formaron cinco grupos bien definidos. El clúster I agrupó a las poblaciones Ozu (Ozulamero), Piq (Piquín), y PiqHuas (Piquín Huasteco) del estado de Tamaulipas, a ellas se les unió la población PPVG (Pico de Paloma Vicente Guerrero) de Tabasco. Mientras que las poblaciones PPCB (Pico de Paloma Cerro Blanco) de Tabasco y Cach (Cachucha) de Cuba, formaron el Clúster II. Carvalho et al. (2017) en Brasil, encontraron en su trabajo con datos moleculares que las poblaciones evaluadas de *C. chinense* y *C. frutescens* se agruparon, y que esa asociación se dio por el parentesco entre las variedades evaluadas, resultado de la polinización cruzada de las poblaciones de cada especie. En el clúster III, se

juntaron las poblaciones ChiTab (Chilpaya Tabasco), ChiHue (Chile Huerta), Habanero y AC (Ají Caribe), las dos primeras de Tamaulipas, la tercera de Tabasco, la cuarta y última de Cuba. Este agrupamiento se debe a que *C. annum*, *C. chinense* y *C. frutescens*, son especies muy relacionadas, y también a que mostraron contenido de ADN similar. Las últimas cuatro poblaciones del total de las evaluadas en este trabajo formaron los clústers IV y V. Éstas son Gar (Garbanzo), RCHaAm (retrocruza Habanero x Amashito), RCGaHa (retrocruza Garbanzo x Habanero) y Chay.

Por lo anterior, sería conveniente realizar una investigación en la que se incluyan a las poblaciones Cachucha (Cach) y Habanero (Hab), con el propósito de confirmar si el primero (Cachucha) dio origen al segundo (Habanero). El haber encontrado que la población Pico Paloma Cerro Blanco (PPCB) de Tabasco presentará similitud molecular con Cachucha (Cach), coincide con lo afirmado por De Jesús et al. (2019). Por lo que continúa la duda de que Cachucha (Cach), sea el progenitor de Habanero, cómo lo proponen algunos investigadores.

Con relación a la estimación de la estructura poblacional de las 14 accesiones de *Capsicum* spp bajo un modelo mixto con frecuencias alélicas correlacionadas (Figura 2) se encontró, de acuerdo al análisis del valor de probabilidad [LnP (D)] realizado con el software en línea Structure Harvester, que la estructura genética de *Capsicum* spp. se agrupa en cinco subpoblaciones ($\Delta K=5$). Pero sólo las poblaciones Habanero (Hab), Chile Huerta (ChiHue) y Chilpaya Tabasco (ChiTab), fueron agrupadas con ambos análisis (Clúster y Structure). Al comparar los resultados del análisis de la estructura poblacional se encontró cierto grado de similitud a lo reportado por Taranto et al.

Gálvez et al. Diferencias genéticas y estructura de poblaciones de *Capsicum* spp.

(2016), quien obtuvo en su estudio un valor de $\Delta K=3$ por lo que las poblaciones evaluadas formaron tres clústeres o grupos. Mientras que los trabajos de González et al. (2014); y Lee et al. (2016), difieren del presente ya que indican valores de $\Delta K=6$ y $\Delta K=10$, lo que pudiera ser explicado por el origen del germoplasma de Chile que se empleó en ambas investigaciones, el cual

es principalmente procedente de Asia y Europa; aunque en el caso de Lee et al. (2016) las accesiones se agruparon de acuerdo con la especie a que pertenecen, caso contrario a la del presente trabajo. Ello posiblemente se debe a que la mayoría de las 14 poblaciones evaluadas en esta investigación son silvestres.

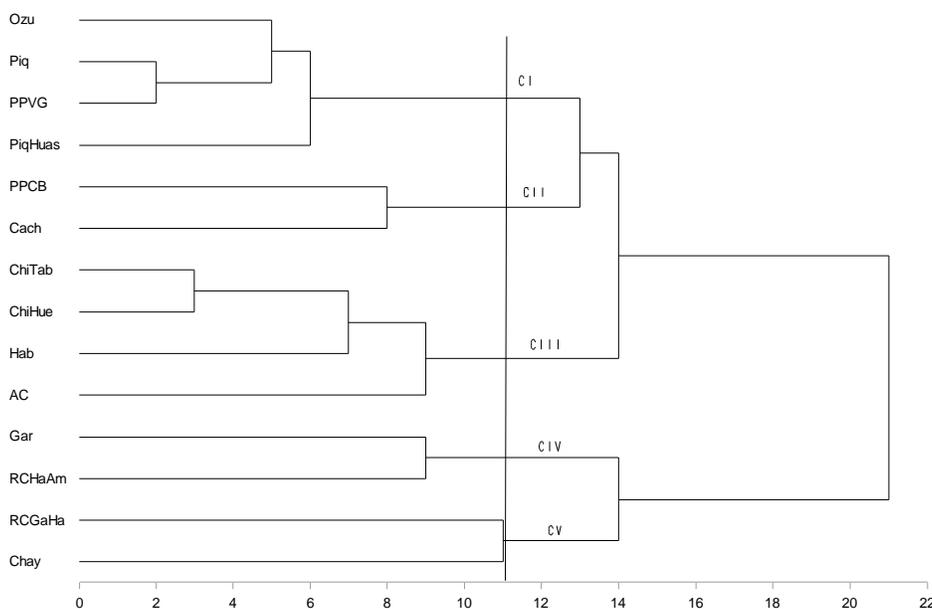


Figura 1. Análisis clúster de ligamiento completo basado en la distancia Euclidiana de 14 poblaciones de *Capsicum* spp.

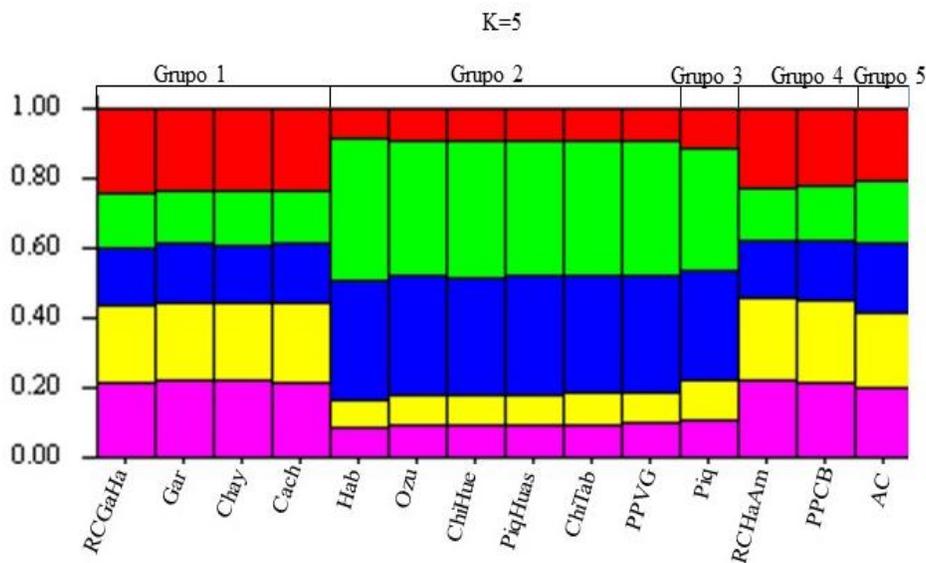


Figura 2. Estructura genética estimada para las poblaciones de *Capsicum* spp, con secuencias simples repetidas (SSRs), cada color representa una subpoblación.

CONCLUSIONES

El análisis con los marcadores de secuencias simples repetidas (SSRs) indica que hay mucha variabilidad en las poblaciones de *Capsicum* spp. comparadas dado por un alto número de heterocigotes en ellas. Las diferencias genéticas entre las poblaciones evaluadas son importantes porque se puede explotar ésta mediante algún método de selección. La agrupación en el clúster de cuatro poblaciones (una de Tabasco y tres de Tamaulipas), es posible que se deba al flujo génico de *Capsicum* que ha ocurrido entre las variantes de Chile de dos regiones de la república mexicana. Lo que también se puede interpretar como una diferenciación de las poblaciones por su origen geográfico. La población Cachucha (Cach) de Cuba, mostró similitud con la retrocruza Garbanzo x Habanero (RCGaHa), pero no con la retrocruza Habanero x Amashito (RCHaAm), ni con Habanero, de acuerdo con el análisis en Structure. En el clúster no hubo similitud alguna de Cachucha (Cach) con las poblaciones mencionadas.

LITERATURA CITADA

1. Alayachew, A.S., D.M. Atnafu y S.A. Gedefa. 2017. Genetic diversity study of Ethiopian hot pepper cultivars (*Capsicum* spp.) using Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) marker. *J Plant Mol. Breed.* 5(2): 27-37.
2. Annapama, D.A., N. Brajendra y M. Dinachandra. 2018. Genetic diversity analysis in chilli (*Capsicum annuum* L.) found in Manipur using RAPD Markers. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(10): 257-262.
3. Aranguren-Méndez, J.A., R. Román-Bravo, W. Isea, Y. Villasmil y J. Jordana. 2005. Los microsatélites (STR's), marcadores moleculares de ADN por excelencia para programas de conservación: una revisión. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.* 13(1): 1-6.
4. Balzarini, M., C. Bruno, A. Peña, I. Teich y J. Di Rienzo. 2010. Estadística en Biotecnología. Aplicaciones en Info-Gen. Encuentro Grupo Editor. Editorial Brujas 1ª Edición. Córdoba, Argentina. 223 p.
5. Bobadilla-Larios, V., E. Esparza-Ibarra, L. Delgadillo-Ruiz, P. Gallegos-Flores y J. Ayala-Lujan. 2017. Variedades de Chile (*Capsicum annuum* L.) identificadas mediante marcadores RAPD. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 20(3): 465-473.
6. Brody, J.R. y S.E Kern. 2004. Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. *Biotechniques* 36(2): 214-216.
7. Campos, A.L., T.N. Marostega, N.S.S. Cabral, K.L. Araújo, M.E. Serafim, S. Seabra-Júnior et al. 2015. Morphoagronomic and molecular profiling of *Capsicum* spp. from southwest Mato Grosso, Brazil. *Genetics and Molecular Research* 15(3): 1-12.
8. Carvalho, S.I.C., L.B. Bianchetti, C.F. Ragassi, C.S.C. Ribeiro, F.J.B. Reifschneider, G.S.C. Buso y F.G. Faleir. 2017. Genetic variability of a Brazilian *Capsicum frutescens* germplasm collection using morphological characteristics and SSR markers. *Genetics and Molecular Research.* 16 (3): 1-18.
9. Castañón-Nájera, G., M. Ramírez-Meraz, N. Mayek-Pérez, A.C. García y R. Ruíz-Salazar. 2014. Molecular comparison of wild and commercial chilies from Tamaulipas and Tabasco, Mexico. *Pak. J. Bot.* 46(6): 2101-2106.
10. Contreras-Toledo, A.R., H. López-Sánchez, A. Santacruz-Varela, E. Valadez-Moctezuma, V.H. Aguilar-Rincón, T. Corona-Torres y P. Antonio-López. 2011. Diversidad Genética en México de variedades nativas de Chile 'poblano' mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana.* 34(4): 225-232.
11. Dhaliwal, M.S., A. Yadav y S.K. Jindal. 2014. Molecular characterization and diversity analysis in chilli pepper using simple sequence repeats (SSR) markers. *African Journal of Biotechnology.* 13(31): 3137-3143.
12. Dellaporta, S.L., J. Wood y J.B. Hicks. 1983. Una minipreparación de ADN vegetal: versión II. Reporte de biología molecular de plantas. 1(14): 19-21.
13. De Jesus, R., G.N. Santos, A.S. Piccin, T.W.A. Balsalobre, F.C. Sala y M.S.

- Carnerio. 2019. Characterization of pepper accessions using molecular markers linked to pungency and SSR. *Horticultura Brasileira* 37: 152-160.
14. Earl Dent, A. y M. vonHoldt Bridgett. 2012. Structure Harvester: a website and program for visualizing Structure output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*. 4(2): 359-361.
 15. Gálvez, Y.A., M.E. Cea, J.M. Leshner, L. Latournerie-Moreno, E. Martínez-Moreno, J.L. Martínez y G. Castañón-Nájera. 2021. Comparación molecular de poblaciones de chile (*Capsicum* spp.) de Tabasco y Chiapas, México. *Bioagro* 33(1): 3-12.
 16. González-Pérez, S., A. Garcés-Claver, C. Mayor, L.E. Sáenz de Miera, O. Fayos, F. Pomar et al. 2014. New Insights into *Capsicum* spp. Relatedness and the Diversification Process of *Capsicum annuum* in Spain. *Plos One* 9(12): 1-23.
 17. Gu, X.Z., Y.C. Cao, Z.H. Zhang, B.X. Zhang, X.M. Zhang, H.P. Wang y L.H. Wang, 2019. Genetic diversity and population structure analysis of *Capsicum* germplasm accessions. *Journal of Integrative Agriculture* 18(6): 1312-1320
 18. Guzmán, F.A., S. Moore, M.C de Vicente y M.M Jahn. 2020. Microsatellites to enhance characterization, conservation and breeding value of *Capsicum* germplasm. *Genet Resour Crop Evol* 67: 569-585.
 19. Haralayya, B. y I.S. Asha. 2017. Molecular Marker Application in *Capsicum* spp: A Supplement to Conventional Plant Breeding. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6(11): 3840-3855.
 20. Hussein, I.A. y S.S. Mahdi. 2016. SSR-PCR technique for detecting the genetic diversity of *Capsicum annuum* L. in local and imported samples in Iraq. *Ibn Al-Haitham J. for Pure & Appl. Sci.* 22: 25-52.
 21. Ibarra-Torres, P., E. Valadez-Moctezuma, M. Pérez-Grajales, J. Rodríguez-Campos y M.E. Jaramillo-Flores. 2015. Inter and intraspecific differentiation of *Capsicum annuum* and *Capsicum pubescens* using ISSR and SSR Markers. *Scientia Horticulturae*. 181: 137-146.
 22. Igwe, D.O., C.A. Afiukwa, G. Acquaaah y G.N. Ude. 2019. Genetic diversity and structure of *Capsicum annuum* as revealed by start codon targeted and directed amplified minisatellite DNA markers. *Hereditas* 156(32): 1-13.
 23. Islam, Md.A., P. Sinha, S. Sundar, N.M. Singh, B. Neog y T.S. Bhushan. 2016. Analysis of genetic diversity and population structure in *Capsicum* landraces from North Eastern India using TE-AFLP markers. *Plant Mol. Biol. Rep.* 34: 869-875.
 24. Konishi, A., N. Furutani, Y. Minamiyama y A. Ohyama. 2019. Detection of quantitative trait loci for Capsanthin content in pepper (*Capsicum annuum* L.) at different fruit ripening stages. *Breeding Science* 69: 30-39.
 25. Kraft, K.H., C.H. Brown, G.P. Nabhan, E. Luedeling, J.deJ. Luna R., G.C. d'Eeckenbrugge et al. 2014. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *PNAS* 111: 6165-6170.
 26. Kuria, M.W., V.W. Ngumi, P.K. Njenga, L.N. Wangai y M. Esther. 2018. Assessing Genetic diversity of an endangered medicinal plant, *Strychnos henningsii* (Gilg.) in Nine Populations in Kenyan counties as revealed by ISSR Markers. *International Journal of Innovative Research and Knowledge* 3(12): 81-94.
 27. Lee, H.Y., S. Moon, H.S. Ro, W.C. Chung y H. Ryu. 2020. Analysis of genetic diversity and population structure of wild strains and cultivars using genomic SSR markers in *Lentinula edodes*. *Mycobiology* 48(2): 115-121.
 28. Lee, H.Y., N.Y. Ro, H.J. Jeong, J.K. Kwon, J. Jo, Y. Ha et al. 2016. Genetic diversity and population structure analysis to construct a core collection from a large *Capsicum* germplasm. *BMC Genetics* 17: 142-154.
 29. Leite, P.S., R. Rodrigues, R.N.O. Silva, S. Pimenta, A.M. Medeiros, C.S. Bento y L.S.A. Gonçalves. 2016. Molecular and agronomic analysis of intraspecific variability in *Capsicum baccatum* var. pendulum accessions. *Genetics and Molecular Research* 15(4): 1-16.
 30. Nicolai, M., M. Cantet, V. Lefebvre, A.M. Sage-Palloix y A. Palloix. 2013. Genotyping

- a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genet Resour Crop Evol* 60: 2375-2390.
31. Pacheco-Olvera, A., S. Hernández-Verdugo, V. Rocha-Ramírez, A. González-Rodríguez y K. Oyama. 2012. Genetic diversity and structure of pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern Mexico analyzed by microsatellite markers. *Crop Sci.* 52(1): 231-241.
 32. Patel, A.S., N. Sasidharan y A.G. Vala. 2011. Research article genetic relation in *Capsicum annuum* L. cultivars through microsatellite markers: SSR and ISSR. *Elec J Plant Breed.* 2(1): 67-76.
 33. Peakall, R. y P.E. Smouse. 2012. GenAlEx 6.501: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics.* 28: 2537-2539.
 34. Pérez-Castañeda, L.M., G. Castañon-Nájera, M. Ramírez-Meraz y N. Mayek-Pérez. 2015. Avances y perspectivas sobre el estudio del origen y la diversidad genética de *Capsicum* spp. *Filogenia y Diversidad en Capsicum* 2(4): 117-128.
 35. Pritchard, J.K., X. Wen y D. Falush. 2012. Documentation for structure software: Version 2.3.4. University of Chicago, Chicago. <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>
 36. Ruíz-Álvarez, O., R. Arteaga-Ramírez, M.A. Vázquez-Peña, R.E. Ontiveros-Capurata y R. López-López. 2012. Balance hídrico y clasificación climática del estado de Tabasco, México. *Universidad y Ciencia.* 28(1): 1-14.
 37. Sharmin, A., H.Md. Ekramul, H.Md. Masudul y F. Khatun. 2018. Molecular diversity analysis of some chilli (*Capsicum* spp.) genotypes using SSR Markers. *American Journal of Plant Sciences* 9: 368-379.
 38. Singh, N., D.R. Choudhury, A.K. Singh, S. Kumar, K. Srinivasan, R.K. Tyagi, et al. 2013. Comparison of SSR and SNP Markers in Estimation of Genetic Diversity and Population Structure of Indian Rice Varieties. *PLoS ONE* 8(12): 1-14.
 39. SNICS (Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas). 2017. Chile (*Capsicum* spp.). Generalidades de la Red Chile. <https://www.gob.mx/snics/acciones-y-programas/chile-capsicum-spp> (consulta de noviembre, 2023).
 40. Taranto, F., N. D'Agostino, B. Greco, T. Cardi y P. Tripodi. 2016. Genome-wide SNP discovery and population structure analysis in pepper (*Capsicum annuum*) using genotyping by sequencing. *BMC Genomics* 17: 943-955.
 41. Tizar, T.R., N.N.D. Ayu, K. Nugroho, D. Saptadi, H. Kurniawan y P.D. Lestari. 2020. Analisis Keragaman Genetik dan Pengembangan Profil Sidik Jari DNA 20 Varietas Cabai Lokal Indonesia Berdasarkan Marka SSR. *J. AgroBiogen* 16(2): 45-58.
 42. Toledo-Aguilar, R., H. López-Sánchez, A. Santacruz-Varela, E. Valadez-Moctezuma, P. Antonio-López, V.H. Aguilar-Rincón et al 2016. Characterization of genetic diversity of native 'Ancho' chili populations of Mexico using microsatellite markers. *Chilean J. of Agricultural Research* 76(1): 18-26.
 43. Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420.
 44. Xiao-min, Z., Z. Zheng-hai, G. Xiao-zhen, M. Sheng-li, L. Xi-xiang, J. Chadœuf, A. Palloix, W. Li-hao y Z. Bao-xi. 2016. Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *J. of Integ Agric.* 15(9): 1991-2001.