

EL BANCO DE GERMOPLASMA DE CHILE EN EL CAMPO EXPERIMENTAL ZACATECAS

LUIS ROBERTO REVELES-TORRES, RODOLFO VELÁSQUEZ-VALLE



SAGARPA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PECUARIA Y ALIMENTACIÓN



inirap
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Centro de Investigación Regional Norte Centro
Campo Experimental Zacatecas
Calera de V.R, Zacatecas. Diciembre 2016
Folleto Técnico No. 80
ISBN: 978-607-37-0685-8

SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN

M.A. JOSÉ EDUARDO CALZADA ROVIROSA
Secretario

LIC. JORGE ARMANDO NARVÁEZ NARVÁEZ
Subsecretario de Agricultura

M.C. MELY ROMERO CELIS
Subsecretario de Desarrollo Rural

M.C. RICARDO AGUILAR CASTILLO
Subsecretario de Alimentación y Competitividad

INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS

DR. LUIS FERNANDO FLORES LUI
Director General

DR. RAÚL G. OBANDO RODRÍGUEZ
Coordinador de Investigación, Innovación y Vinculación

M. C. JORGE FAJARDO GUEL
Coordinador de Planeación y Desarrollo

MTRO. EDUARDO FRANCISCO BERTERAME BARQUÍN
Coordinador de Administración y Sistemas

CENTRO DE INVESTIGACIÓN REGIONAL NORTE CENTRO

DR. HOMERO SALINAS GONZÁLEZ
Director Regional

DR. FRANCISCO JAVIER PASTOR LÓPEZ
Director de Investigación

ING. RICARDO CARRILLO MONSIVÁIS
Director de Administración

DR. FRANCISCO GPE. ECHAVARRÍA CHÁIREZ
Director de Coordinación y Vinculación en Zacatecas

EL BANCO DE GERMOPLASMA DE CHILE EN EL CAMPO EXPERIMENTAL ZACATECAS

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina
Delegación Coyoacán
México, D.F.
C.P. 04010 México, D.F.
Teléfono (55) 3871-8700

ISBN: 978-607-37-0685-8

Primera Edición: Diciembre 2016

No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, fotocopia o por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito a la institución.

Cita correcta:

Reveles-Torres L.R. y Velásquez-Valle, R. 2016. El banco de germoplasma de chile en el Campo Experimental Zacatecas. Folleto Técnico Núm 80. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 33 páginas.

CONTENIDO

Introducción.....	1
Caracterización de germoplasma	3
Variación genética del germoplasma	11
Estudio molecular del germoplasma	21
Estimación de la variabilidad genética	22
Importancia del recurso chile	24
Literatura Citada	27

EL BANCO DE GERMOPLASMA DE CHILE EN EL CAMPO EXPERIMENTAL ZACATECAS

Luis Roberto Reveles-Torres¹
Rodolfo Velásquez-Valle ¹

INTRODUCCIÓN

Los recursos fitogenéticos son la base para el desarrollo de cultivos agrícolas y silvícolas necesarios para la producción de alimentos y otros satisfactores. Son además, fuente de nuevas opciones alimentarias, productivas y de resistencia a factores adversos. Los recursos fitogenéticos contribuyen a mantener el equilibrio del agro-ecosistema, ya que son elementos indispensables para la sostenibilidad de los sistemas de producción y son un legado de seguridad para la alimentación y bienestar de las generaciones futuras. Estos recursos son un material constituido por ADN a través de semillas, varetas, propágulos etc., con un alto valor ecológico, económico y social. Estos recursos son importantes por su uso actual y potencial, y además de ser considerados como una reserva de la biodiversidad, conforman un patrimonio para la humanidad.

¹ Investigadores de los programas de Recursos Genéticos y Sanidad Forestal y Vegetal del Campo Experimental Zacatecas.

En México se han diseñado estrategias relacionadas con la conservación de los recursos fitogenéticos, las cuales incluyen:

- Fortalecimiento de la formación y actualización del tipo de investigadores requeridos para la conservación integral de los recursos fitogenéticos.
- Fortalecimiento del trabajo institucional en regiones y temáticas poco atendidas.
- Fomento de la investigación interdisciplinaria sobre conservación *in situ*.
- Creación y difusión de la base de datos nacional sobre los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura.
- Conservación de las especies emparentadas y silvestres involucradas en la evolución de los recursos fitogenéticos en México.
- Apoyo al mejoramiento participativo de los recursos fitogenéticos considerados prioritarios en cada región.

La conservación *ex situ* consiste en generar y aplicar modelos que permitan aprovechar sustentablemente las plantas nativas y cultivadas, presentes en el agroecosistemas, utilizadas estas en la alimentación y la agricultura, conformando con ello bancos de germoplasma.

Considerando a México como uno de los centros mundiales de origen y diversidad genética, y al INIFAP como la institución Nacional con el mayor acervo de los recursos fitogenéticos conservados *ex situ*, se convergen las acciones que garantizan la conservación, estudio y utilización de la biodiversidad del germoplasma de los cultivos con importancia económica actual y potencial para beneficio de los agricultores Mexicanos y del mundo en general.

Así, el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.) es un recurso fitogenético importante para el estado de Zacatecas, ya que este es el principal Estado productor de chile para secado del país.

CARACTERIZACION DE GERMOPLASMA

La importancia y el valor de un banco de germoplasma recae en la caracterización morfológica de los materiales fitogenéticos, esto es una actividad que permite la selección de los materiales más promisorios para su posterior utilización en programas de mejoramiento. De acuerdo al Consejo Internacional de Recursos Fitogenéticos (IBPGR, 1980), la caracterización consiste en registrar todas aquellas rasgos distintivos que son altamente heredables, que pueden verse fácilmente y que son expresadas en todos los ambientes. Según Engels (1979), las descripciones

morfológicas, agronómicas, fisiológicas, etc. de una caracterización deberían ser acompañadas de información relacionada con prácticas culturales, condiciones ambientales, etc. y además, las colecciones que se describen deben crecer bajo condiciones uniformes para asegurar de esta manera que las diferencias registradas sean típicas de los materiales bajo esas circunstancias. Muestra de ello, es la descripción de colectas de chile bajo un mismo lote (Figura 1).



Figura 1. Descripción de colecciones de chile en campo de evaluación de descriptores.

En documentación genética, cada término descriptivo se llama “descriptor”, tal puede ser el "número de introducción", "color del fruto", “forma de la hoja”, “tipo de crecimiento”, etc. El valor o grado de un descriptor se llama estado del descriptor. Si el descriptor se refiere a una caracterización cuantitativa, como la longitud del fruto o rendimiento, el estado del descriptor se expresa en la unidad de medida usada (cm, mm, g), o la medida puede codificarse para facilitar el almacenamiento de datos.

Cuando el descriptor se refiere a una caracterización cualitativa, como color o forma, los estados del descriptor se pueden basar en una tabla de colores o definiciones geométricas, respectivamente. Estos términos pueden codificarse si fuera conveniente. El estado del descriptor de una característica particular se registra con “0” cuando está ausente o no puede medirse; por otra parte, se expresa como "+", cuando se encuentra presente pero no se le da grado (Programa de Recursos Fitogenéticos INIFAP 1987).

Muchos estudios de la diversidad genética en el género *Capsicum* están basados en el conocimiento de la variación de caracteres morfológicos con el uso de métodos descriptivos y técnicas moleculares. Por medio de la descripción morfológica se ha encontrado por ejemplo variaciones en caracteres relacionados con la arquitectura de la planta (Pardey et al., 2006)

y con la variación en fruto de chile manzano (*C. pubescens*) (Chávez y Castillo, 1999).

Trabajos efectuados apoyan la importancia del género *Capsicum* en el mundo y han proporcionado aportes significativos en el conocimiento del género. Así, se ha determinado que las características de color y forma del fruto son de poco valor taxonómico debido a la variación que existe dentro de la misma especie (Smith y Heiser, 1951). Sin embargo dentro de este aspecto, según Rodríguez y colaboradores (2005) el color de las manchas en la corola de las flores, es una característica que ayuda a separar la especie *Capsicum baccatum* de las demás especies.

Según Pickersgill (1968) la posición del fruto es una característica distintiva entre materiales silvestres y domesticados, ya que las poblaciones silvestres presentan la posición del fruto erecto, mientras que en los materiales cultivados con mayor grado de domesticación la posición del fruto es colgante.

El color de la corola de las flores, es una característica, que usada con otras características discriminantes, se emplea para delimitar especies. Así, en estado fresco la flor de la especie *C. annuum* tiene una coloración blanca lechosa, la flor de la especie

C. frutescens es de color blanco-verde y la flor de la especie *C. chinense* blanco-verde o blanco-mate. Las manchas en la corola es una característica propia de la especie *C. baccatum* y pueden ser amarillas, café o pardas. La especie *C. pubescens* tiene la corola de color morada. Además esta especie presenta frutos con semillas negras y rugosas (IBPGR, 1983; Smith y Heiser, 1951).

La producción de chiles secos en México; el chile guajillo (*C. annuum*), es uno de ellos, y se usa principalmente para la elaboración de pastas para moles que se incorporan en diferentes platillos regionales. Los estados donde más se cultiva este tipo de chile son Zacatecas y Durango y, en menor escala, San Luis Potosí, Chihuahua, Aguascalientes y Jalisco (Bravo et al., 2006).

A pesar de la importancia que tiene los chiles secos, en particular los tipos guajillos, como recursos genéticos y como principal fuente de ingreso de los productores de la región Centro–Norte de México, los estudios relacionados con su diversidad son escasos. En consecuencia, se conoce poco de la variación de los caracteres de interés agronómico, la que al parecer es alta y de gran utilidad para su mejoramiento, de manera que en la literatura sólo existe referencia de algunos aspectos generales del cultivo (Laborde y Pozo, 1984; Bravo et

al.,2006), de algunas variedades (Ramiro, 2001) y de estudios del color y contenido de pigmentos (Moreno *et al.*,2006).

El tener bajo resguardo esta diversidad genética implica una gran responsabilidad ya que se tienen que realizar acciones que garanticen la conservación de las muestras en óptimas condiciones, para lo cual es necesario realizar trabajos en diferentes líneas de investigación entre las que destacan los bancos de germoplasma para la conservación *ex situ* (Figura 2).



Figura 2. Cámara de conservación de germoplasma de Chile.

Un banco de germoplasma es el sitio donde almacenan colecciones de material genético en forma de semillas, tejidos o células reproductivas de plantas para su conservación e intercambio. Estos Bancos surgieron por la actual o inminente pérdida del material en el campo y la indigencia de disponer una fuente constante y confiable de germoplasma para las necesidades de investigación (Figura 3).



Figura 3. Banco de germoplasma del Campo Experimental Zacatecas.

La mayoría de ellos se componen de muestras obtenidas a través de colecciones de exploración de plantas o de donaciones hechas por otros institutos.

Los bancos de germoplasma resguardan la fuente de variabilidad requerida por los mejoradores de plantas para el desarrollo de cultivares, pues le permiten al agricultor superar las limitaciones naturales a fin de obtener mayores beneficios de su actividad, así como asegurar la fuente contra la erosión genética (Beeching *et al.*, 1994). Los estudios de la diversidad genética dentro de estos bancos de genes son una de las herramientas que ayudan a tener un control más efectivo sobre la erosión genética.

Permiten definir los patrones de variación que determinan la incorporación de individuos a programas de mejoramiento genético, ya sea por sus características promisorias o por susceptibilidad a condiciones bióticas o abióticas, facilitando la incorporación de genes y el establecimiento de la mejor estrategia reproductiva. Es así como, la cuantificación de la variación en general y especialmente dentro de los bancos de germoplasma debe definirse como un complejo que está asociado a un conjunto de caracteres de diferente naturaleza, escalas de medición y resolución.

VARIACIÓN GENÉTICA DEL GERMOPLASMA

La fuente de variación de las plantas se encuentra en el conjunto de genes que ellas poseen y el espectro de esta variabilidad dentro de las especies cultivadas y sus silvestres, es comúnmente mantenido en estos bancos de germoplasma. La importancia del mantenimiento de estos recursos radica en la medición y caracterización de dicha diversidad (Cordeiro et al., 2003), y la efectividad en la exploración varía con el tipo de carácter evaluado, así como por rasgos de naturaleza biométrica, los cuales están codificados por un gran número de genes distribuidos en el genoma, permitiendo explorar mejor la variabilidad que en aquellos de herencia mendeliana. Sin embargo es complejo, tedioso e impreciso el reconocimiento y enumeración de los diversos genotipos en cada uno de los *loci* que definen este tipo de caracteres, debido a que la variación se manifiesta como diferencias imperceptibles, y a la presencia de los efectos pleiotrópicos y epistáticos, e inclusive al mismo control poligénico (Bretting y Widrelechner, 1995).

Los bancos de germoplasma tienen como objetivo preservar la diversidad de los recursos fitogenéticos de las especies cultivadas y sus especies relacionadas y corregir la uniformidad derivada de las prácticas de mejoramiento genético que han reducido la base genética de los cultivos y que causan la

indefensión de la poblaciones ante el ataque de patógenos para el que no existe resistencia (Martín, 2002).

El término germoplasma se refiere al material que se conserva como semillas, cultivo de tejido o plantas establecidas en colecciones de campo que reúne la variabilidad genética intra-específica de los materiales genéticos que pueden perpetuar una especie o una población de un organismo (Graur y Wen-Hsiung, 2000). Además de las funciones de conservación y mantenimiento, los bancos de germoplasma tienen un papel importante en la gerencia de los recursos fitogenéticos ya que su propósito no solo se limita a la conservación de especies sino que también incluye funciones tales como la documentación, caracterización, evaluación de la variabilidad genética, estudios filogenéticos y lo más importante como es el mejoramiento de caracteres deseables y la multiplicación y distribución del germoplasma (Graur y Wen-Hsiung, 2000). La obtención de caracteres deseables y su mejoramiento demanda un conocimiento apropiado de la diversidad genética del germoplasma.

La diversidad genética se puede definir como el grado en el cual el material hereditario diferencia internamente a una colección de plantas. El material hereditario de una planta abarca su ADN genómico y citoplasmático. El material hereditario puede

diferenciarse en el nivel de las secuencias del ADN (alelos) y en el nivel de las combinaciones de alelos (genotipos) (Avise, 2004). La diversidad genética tiene una estructura multidimensional compleja y se basa en la semejanza entre pares de individuos valorada a través de caracteres que son compartidos (similitud genética). Como resultado de la asociación considerable entre los caracteres en colecciones de plantas, es posible describir la estructura de la diversidad genética a un cierto grado describiendo estas colecciones y sus relaciones.

El estudio de la diversidad genética entre el germoplasma de una especie tiene importantes aplicaciones tales como: identificación de líneas o poblaciones que deben ser mantenidas para preservar el máximo de la diversidad genética en el banco de genes; relación genética entre líneas o poblaciones -de gran utilidad en la toma de decisiones sobre qué individuos usar para hacer nuevas combinaciones genéticas, contribuyendo por ende a maximizar la respuesta heterótica (Beeching *et al.*, 1994 y Chavarriga-Aguirre *et al.*, 1999); el estudio completo de la fuente de genes de los cultivos (Smartt, 1981; Porter *et al.*, 2005); y la diversidad específica de la fuente de genes (Prakash *et al.*, 2005). Los grupos que resultan de las descripciones basadas en los diferentes marcadores permiten el estudio de la

asociación entre los caracteres o la estructura multi-locus de los grupos (Porter *et al.*, 2005).

Como ha sido mencionado, el estudio de la diversidad genética se basa en el grado de similitud entre individuos lo que permite la formación de grupos homogéneos que comparten un patrón o una estructura de diversidad particular. En este sentido, para medir la diversidad genética, se han empleado dos enfoques básicos el agrupamiento basado en los datos del pedigrí y el basado en marcadores genéticos (Avisé, 2004).

Para el agrupamiento basado en marcadores genéticos se han empleado diferentes tipos de marcadores. La descripción morfológica de órganos vegetativos y reproductivos y rasgos agronómicos clásicos (descripción fenotípica) los cuales han sido de gran utilidad para la caracterización y evaluación de recursos genéticos. Adicionalmente se consideran datos sobre susceptibilidad a factores de estrés, patógenos y enfermedades. Estos marcadores agromorfológicos pueden ser definidos como atributos de las plantas fácilmente cuantificables e identificables, los cuales pueden o no ser altamente heredables y estar controlados por uno o pocos genes, lo que permite una discriminación rápida de fenotipos (Lowe *et al.*, 1996). No obstante, presentan limitaciones que dificultan su medición y restringen la información genética recuperable, como son los

efectos pleiotrópicos, desconocimiento de su base genética, tipo de herencia y su alta susceptibilidad a la influencia del medio ambiente como es el caso de los caracteres de interés agronómico (Pan *et al.*, 2004). Este último aspecto conocido como la variación adaptativa es cuantificada a través de ensayos regionales donde se evalúa la respuesta de distintos genotipos creciendo en las mismas condiciones, con lo que se minimiza la influencia ambiental; a la vez, el ensayo se repite en diferentes localidades para determinar la variación de un mismo genotipo en distintos ambientes (interacción genotipo-ambiente). Estos ensayos se establecen para recoger información sobre parámetros genéticos como la heredabilidad o los coeficientes de variación genética aditiva; sin embargo, su aplicabilidad es solo en cultivos de importancia económica por lo cual conseguir información para otras especies no comerciales es poco probable (Primack y Kang, 1989).

Otro tipo de marcadores son los asociados a características de la estructura y morfología de los cromosomas (marcadores citogenéticos), estos marcadores son de poco uso dada la complejidad y dificultad de medición (Islam-Faridi *et al.*, 2002). En los últimos años, el empleo de marcadores producto de la utilización de técnicas bioquímicas y moleculares, ha permitido complementar la información obtenida utilizando caracteres agromorfológicos. Dentro de esas técnicas se encuentran los

metabolitos secundarios, proteínas, marcadores de ADN y secuencias de ADN. A través del uso de los marcadores moleculares es posible estimar la diversidad genética neutral.

Su evaluación es más compleja que los caracteres morfológicos pero la influencia ambiental es menor y permiten hacer comparaciones entre individuos de una misma especie, entre especies, establecer relaciones de paternidad y parentesco, relaciones filogenéticas y analizar procesos de migración y deriva genética en las poblaciones. Los marcadores moleculares pueden ser clasificados según el tipo de molécula utilizada y la técnica en: los basados en el análisis de proteínas-análisis isoenzimático, polimorfismo posicional de péptidos, y los basados en el análisis del ADN. De estos los más popularizados son los marcadores de ADN ya que permiten la recolección de gran cantidad de información genética porque al tener su origen en variaciones individuales en la secuencia común del ADN, cubren todo el genoma, posibilitan su evaluación en estadios muy tempranos a partir de muestras mínimas que no destruyen el individuo, no presentan interacciones intergénicas, tienen mayor reproducibilidad y mayor control genético porque son de herencia simple (Avice, 2004).

Los marcadores de ADN se dividen en dos grandes grupos: los revelados mediante hibridación con sondas marcadas y los

obtenidos mediante amplificación por PCR (Polymerase Chain Reaction). Los diferentes tipos de marcadores se distinguen por su capacidad de detectar polimorfismos en loci únicos o múltiples y son de tipo dominante o co-dominante (Awise, 2004; Garoia *et al.*, 2007). Entre los más usados para caracterizar y evaluar la variabilidad genética existente en los bancos de germoplasma se encuentran los RFLP “Restriction Fragment Length Polymorphism” (Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción)(Lu *et al.*, 1994a, b; Besse *et al.*, 1997); RAPD “Randomly Amplified Polymorphic DNA” (ADN polimórfico amplificado aleatoriamente) (Harvey y Botha, 1996; Burner *et al.*, 1997; Vijayan *et al.*, 1999); AFLP “Amplified Fragment Length Polymorphism” (Fragmentos amplificados de polimorfismos de longitud) (Besse *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1999); SSR “Simple Sequence Repeat” (Repetición de secuencias simples) (Cordeiro *et al.*, 2000, 2003; Da Silva, 2001); SNP “Single Nucleotide Polymorphism” (Polimorfismo de secuencias simples) (Grivet *et al.*, 2001; Cordeiro *et al.*, 2006); TRAP “Target Region Amplification Polymorphism” (Polimorfismos amplificados de regiones blanco) (Alwala *et al.*, 2006).

A diferencia de los marcadores de ADN, la utilización de marcadores proteicos está limitada por su reducido número que no cubre toda la extensión del genoma, por sus interacciones o modificaciones postranscripcionales, y por su diferente

expresión en distintos tejidos (Awise, 2004). En el caso de las secuencias de ADN aunque su sigue siendo restringido ya que son muy pocas las especies a las que se les ha descrito el genoma (Hunter et al., 2004).

La aplicación de los marcadores de ADN a la evaluación de germoplasma ha facilitado la identificación de duplicados en los bancos, la clasificación de los materiales, el cálculo de la distancia genética entre entradas, la identificación de su origen geográfico y la determinación de puntos de máxima variabilidad. Esta información facilita el manejo de las colecciones de germoplasma ya que permite tanto elegir parentales donde buscar nuevos alelos para ampliar la base genética de sus materiales y como una explotación más adecuada de la heterosis (Lee, 1995; Awise, 2004).

El análisis de la diversidad genética dependerá del tipo de datos usados, podrán generarse clasificaciones entre otras; usando información basada en datos de pedigrí (si es conocido), marcadores agromorfológicos utilizando caracteres cualitativos o cuantitativos y marcadores moleculares. En cualquier caso, es posible esperar clasificaciones disimiles porque cada tipo de descriptor reflejará aspectos diferentes de la diversidad genética asociados al tipo de medición y a la resolución del marcador. Las divergencias entre los análisis basados en datos

agromorfológicos y los basados en datos moleculares se sustentan en que los cambios agronómicos y/o morfológicos no siempre están asociados a variaciones moleculares ya que responden a reglas y presiones evolutivas diferentes, estas incongruencias han originado polémicas respecto a qué tipo de datos pueden proveer de información adecuada para el análisis de la diversidad genética.

El principal argumento en favor de la utilización de caracteres moleculares es que son universales, abundantemente informativos y trabajan directamente con la base genética de la variación. Los estudios que incluyen caracteres morfológicos, en cambio, no permiten establecer diferencias en fases tempranas, son poco informativos ya que la lista de descriptores utilizados en los análisis raramente excede los 100 caracteres y adicionalmente son arbitrarios porque su codificación no sigue ningún criterio, sino que más bien está influenciada por la habilidad o experticia del responsable de la clasificación. Por otro lado, los caracteres agromorfológicos son la base de muchas características varietales que tienen un valor económico directo indudable. Por tanto, en general, estudios que incorporen descriptores morfológicos y marcadores moleculares proveerán una mejor descripción e interpretación de la diversidad genética de los individuos (Wilson et al., 1974, 1977; Hillis y Wiens, 2000; Demey et al., 2003).

Independientemente del marcador utilizado, la estructura de diversidad se puede representar adecuadamente en un modelo jerárquico, y si la información sobre los individuos es suficiente, será posible representarla usando técnicas de agrupamiento y/o clasificación (van Hintum, 1995). La literatura muestra que las técnicas más utilizadas para la caracterización agromorfológica, basada en variables cuantitativas, son el análisis de componentes principales y los dendrogramas, sobre matrices de distancias euclídeas.

Para la caracterización usando marcadores moleculares tanto dominantes como codominantes, la técnica de clasificación mayormente utilizada es el árbol generado por el algoritmo UPGMA “Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean” calculado sobre matrices de similaridad empleando los coeficientes de Jaccard o Dice. En los trabajos donde se estudian las relaciones entre diferentes marcadores, la amplia mayoría realizan repetidamente correlaciones entre matrices de distancias y/o similaridades para cuantificar la concordancia entre caracterizaciones (ISI Web of Knowledge 2008). Prácticamente ninguno de los métodos revisados incluye información sobre las variables responsables de la clasificación (Hillis y Moritz, 1990; Powell et al., 1996; Graur y Wen-Hsiung, 2000; Infante et al., 2006).

ESTUDIO MOLECULAR DEL GERMOPLASMA

Las bases fundamentales de la genética poblacional han sido bien establecidas hace ya bastante tiempo, sin embargo poco se ha hecho en cuanto a la caracterización de las colecciones de germoplasma si lo comparamos con los extraordinarios avances alcanzados por la biología molecular de las últimas décadas. La información cualitativa y cuantitativa sobre la diversidad, es un aspecto esencial de muchos campos en Biología, tanto fundamental como aplicada y en especial en el mejoramiento genético y en la conservación de los recursos fitogenéticos (Cornides, *et al*; 2003).

El objetivo de la conservación de los recursos genéticos de las plantas, es conservar tanto como sea posible la amplia base genética de las especies de plantas, con la expectativa de que se maximicen los cambios en el uso potencial de los genes (Bamberg y Del Rio, *et al.*, 2003).

Los marcadores moleculares evitan muchas de estas complicaciones pues permiten distinguir los materiales genéticos a nivel del ADN. Estos representan por lo tanto, un método eficiente y rápido para caracterizar la diversidad de las colecciones “*in situ*” y “*ex situ*” (Ford-Lloyd, 2001).

Dentro de éstas, la técnica de AFLP representa una de las metodologías más importantes para este estudio. En primer lugar, porque se pueden detectar decenas de marcadores polimórficos, lo que hace posible la construcción de un mapa genético con 200 – 300 marcadores con sólo 6 o 7 geles de alta resolución; en segundo lugar porque no requiere conocimiento previo del genoma en estudio, lo cual hace a la técnica muy adecuada para estudios de evaluación de germoplasma, de biodiversidad y estudios de relaciones genéticas y en tercer lugar por su alta repetibilidad comparada con otras técnicas como los RAPD's y RFLP's (Vos, et al, 1995).

ESTIMACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA

Históricamente los cultivares de importancia agronómica han sido discriminados e identificados a través del uso de varias características morfológicas como son: tipo de hoja, color de la flor, apariencia del brote, tipo de crecimiento y el comportamiento ante enfermedades; sin embargo, muchos de estos caracteres pueden variar drásticamente con las condiciones ambientales, por lo que en muchos casos el efecto del medio ambiente enmascara el efecto producido por los genes, de manera que el fenotipo no representa el potencial

genético real de la planta (Tanksley, et al. 1989, Sosinki y Douches, 1996).

Esta variación puede ser medida a través de caracteres morfoagronómicos y técnicas bioquímicas, los primeros están limitados por la imposibilidad de igualar los genotipos con los fenotipos, mientras que los segundos permiten efectuar una caracterización molecular de la cantidad y tipo de variabilidad genética entre especies estrechamente relacionadas (Suh et al. 1997, Franco e Hidalgo, 2003, Ross, 2007).

Con esto, el motivo de la creación del Banco de Germoplasma de Chile se estableció para cumplir los siguientes objetivos: 1) identificar los tipos de Chile cultivados y silvestres mediante colectas en la República Mexicana, 2) determinar la variación entre los tipos de colectados mediante análisis genéticos y bioquímicos, 3) creación de un banco de germoplasma que sirva como fuente de genes para fitomejoradores interesados en el desarrollo de variedades de Chile con alto potencial de rendimiento y características específicas de importancia económica.

IMPORTANCIA DEL RECURSO CHILE

Gran parte de México se encuentra situado en la región denominada Mesoamérica, zona que además de estar considerada como centro de origen o variabilidad de cerca de 50 especies cultivadas (Whyte, 1963; León, 1968; Harlan, 1975), es también una zona de domesticación y origen de la agricultura (Mac Neish, 1966; Flannery, 1985).

Dentro de esta región, la República Mexicana se ha señalado como centro de origen y diversidad de especies de gran importancia a nivel mundial, como son: maíz, frijol, calabaza, jitomate, algodón, cacao, vainilla, una gama de especies forrajeras y forestales y sobre todo, la especie que nos atañe como estudio: el chile (*Capsicum* spp).

El chile es considerado una de las primeras plantas cultivadas de Mesoamérica y la continuidad de su uso se confirma desde 7000 y 5000 años A.C. La palabra chile tiene su origen en el náhuatl “chilli” usada por los mexicanos en la época de la conquista; no hay evidencia de su existencia en otros continentes antes del descubrimiento de América (Solís, 1998). El género *Capsicum* es un género muy homogéneo, pero aún los botánicos no han llegado a un consenso con la división de las especies.

El chile del género *Capsicum*, de la familia Solanaceae, es uno de los cultivos originarios de Mesoamérica (Greenleaf, 1986; Pickergills et al., 1989), El número de especies silvestres que comprende el género *Capsicum* es de 20 a 23 (Eshbaugh, 1983; Morán et al., 2004; Milla, 2006). Otros señalan que son alrededor de 27 ó 30 (Loaiza et al., 1983; Hernández et al., 1999), y de ellas son solo cuatro o cinco las especies domesticadas de chile que se cultivan en el mundo.

México, como centro de domesticación, cuenta con las cinco especies cultivadas: *C. annuum* L. *C. chinense* Jackuin, *C. pubescens* Ruiz y Paven, *C. baccatum* Willdenow, var *pendulum*, y la semidomesticada *C. frutescens* L, y la silvestre *C. annuum* var. *glabriusculum* (Loaiza et al., 1983; Morán et al., 2004; Milla, 2006). De éstas especies, la primera es más ampliamente conocida y de mayor importancia por su amplia distribución mundial (Pickersgill, 1997) siendo México el principal centro de diversidad genética de *C. annuum*.

En la República Mexicana, es posible encontrar poblaciones silvestres de *C. annuum* y *C. frutescens*, que presentan gran variabilidad morfológica y genética (Hernández et al., 1999), y las especies *C. ciliatum* y *C. lan-ceolatum*. *Capsicum ciliatum* se encuentra en todo el país, con excepción del Noroeste, mientras

que *C. lanceolatum* ha sido reportada únicamente en los estados de Chiapas y Veracruz (Hernández *et al.*, 1998).

A pesar de su importancia, en el cultivo de chile (así como otras especies nativas de México) se han realizado muy pocos estudios por parte de investigadores, evolucionistas y agencias gubernamentales sobre la diversidad genética de los diferentes tipos de *Capsicum* en México (Pozo *et al.*, 1991), además, hay muy poca información sobre la diversidad dentro de cada especie (Chávez, 1994).

El chile es el saborizante más utilizado en México y a nivel mundial. Debido a la gran cantidad de tipos encontrados a lo largo de la República Mexicana y no presentes en otros lugares del mundo, es considerado centro de origen del género. Las especies dentro del género *Capsicum* reportadas en México son: *C. pubescens*, *C. chinense* y *C. frutescens*, misma que se creó, han sido introducidas de sus centros de origen por inmigrantes o conquistadores que llegaron a Mesoamérica hace cientos de años. Desde entonces, se han generado un sin número de cultivares dentro de cada especie, debido a la selección genética llevada a cabo por mismos agricultores, aunque no de forma metódica pero si con la buena intención de mejorar su “semilla”, lo que ha creado una variabilidad genética importante dentro de este género.

Con este antecedente, se ha creado la necesidad de mantener la debida variación genética ya sea *in situ* o en bancos de germoplasma para que sirvan como fuente de genes de importancia económica para el Chile y como acervo genético de conservación y preservación.

LITERATURA CITADA

- Alwala, S.; Suman, A.; Arro, J.A.; Veremis, J.C.; Kimbeng, C.A. (2006).** Target Region Amplification Polymorphism (TRAP) for assessing genetic diversity in sugarcane germplasm collections. *Crop Science*, 46:448-455.
- Avise, J.C. (2004)** *Molecular Markers, Natural History and Evolution*, 2nd edn. Sinauer Associates, 684 pp.
- Beeching, J.R.; Marmey, P.; Hughes, M.A.; Charrier, A. (1994).** *Evaluation of molecular approaches for determining genetic diversity in Cassava germplasm.* In: Proceedings of the second international Scientific Meeting. The Cassava Biotechnology Network. Bogor. Indonesia. pp 22-26.
- Besse, P.; McIntrey, C.L.; Burner, D.; Dealmeida, C.G. (1997).** Using genomic slot hybridization to assess intergeneric *Saccharum x Erianthus* hybrids (Andropogoneae-Saccharinae). *Genome*, 40:428-432.
- Bravo L. A.G.; Galindo G., G.; Amador R., M.D. (Comps.). (2006).** Tecnología de Producción de Chile Seco. Libro Técnico #5. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro. Campo Experimental Zacatecas. 221 p.

- Bretting, P.K.; Widrechner, M.P. (1995).** Genetic markers and horticultural germplasm management. *HortScience*, 30(7):1349-1356.
- Burner, D.M.; Pan, Y.B.; Webster, R.D. (1997).** Genetic diversity of North American and Old World *Saccharum* assessed by RAPD analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 44:235-240.
- Chavarriga-Aguirre, P.; Maya, M.; Tohme, J.; Duque, M.; Iglesias, C.; Bonierbale, M.; Kresovich, S.; Kochert, G. (1999).** Using microsatellites, isozymes and AFLPs to evaluate genetic diversity and redundancy in cassava core collection and to assess the usefulness of DNA-based markers to maintain germplasm collections. *Molecular Breeding*, 5:263-273.
- Chávez S. J. L.; Castillo G., F. (1999).** Variabilidad en caracteres morfológicos de colectas de chile manzano (*Capsicum pubescens* R y P). *Revista Fitotecnia Mexicana* 22: 27-41
- Cordeiro, G.M.; Taylor, G.O.; Henry, R.J. (2000).** Characterization of microsatellite markers from sugarcane (*Saccharum* sp.), a highly polyploid species. *Plant Science*, 155:161-168.
- Cordeiro, G.M.; Pan, Y.B.; Henry, R.J. (2003).** Sugarcane microsatellites for the assessment of genetic diversity in sugarcane germplasm. *Plant Science*, 165(1):181-189.
- Cordeiro, G.M.; Elliott, F.; McIntyre, C.; Casu, R.; Henry, R.J. (2006).** Characterisation of single nucleotide polymorphisms in sugarcane ESTs. *Theoretical and Applied of Genetics*, 113(2):331-343.
- Da Silva, J.A.G. (2001).** Preliminary analysis of microsatellites markers derived from sugarcane expressed sequence tags (ESTs). *Genetics and Molecular Biology*, 24 (1-4):155-159.
- Demey, J.R.; Zambrano, A.Y.; Fuenmayor, F.; Segovia, V. (2003).** Relación entre caracterizaciones molecular y morfológica en una colección de Yuca. *Interciencia*, 28(12):1-7.

- Eshbaugh, W.H. (1983).** The genus *Capsicum* (Solanaceae) in Africa. *Bothalia* 14: 845-848.
- Garoia, F.; Guarniero, I.; Grifoni, D.; Marzola, S.; Tinti, F. (2007).** Comparative analysis of AFLPs and SSRs efficiency in resolving population genetic structure of Mediterranean *Solea vulgaris*. *Molecular Ecology*, 16(7):1377-1387.
- Graur, D.; Wen-Hsiung, R.I. (2000).** *Fundamentals of Molecular Evolution*. Sinauer Associates Inc. USA. 481p.
- Greenleaf, W.H. 1986.** Pepper Breeding. In: J.B. Mark (Ed.). Breeding Vegetable Crops. Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Grivet, L.; Glaszmann, J.C.; Arruda, P. (2001).** Sequence polymorphism from EST data in sugarcane: a fine analysis of 6-phosphogluconate dehydrogenase genes. *Genetics and Molecular Biology*, 24:1-4.
- Harvey, M.; Botha, F.C. (1996).** Use of PCR-based methodologies for determination of DNA diversity between *Saccharum* varieties. *Euphytica*, 89:257-265.
- Hernández, V. S., P. Dávila A. y K. Oyama (1999).** Síntesis del Conocimiento Taxonómico, Origen y Domesticación del Género *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 64: 65-84.
- Hillis, D.M.; Wiens, J.J. (2000).** *Molecules versus morphology in systematics*. In: *Phylogenetic analysis of morphological data*. Wiens, J.J. (Ed). Smithsonian Institution Press. Washington. USA. pp 1-19.
- Hunter, B.F.; Hirsh, A.E.; Wall, D.P.; Eisen, M.B. (2004).** Coevolution of gene expression among interacting proteins. *Proceeding National Academy of Science of USA*, 101(24):9033-9038.

- International Board for Plant Genetic Resources. (1983).** Genetic Resources of Capsicum. IBPGR. AGPG/IBPGR/82/12. Rome, Italy. 49p.
- Islam-Faridi, M.N.; Childs, K.L.; Klein, P.E.; Hodnett, G.; Menz, M.A.; Klein, R.R.; Rooney, W.L.; Mullet, J.E.; Stelly, D.M.; Price, H.J. (2002).** A Molecular Cytogenetic Map of Sorghum Chromosome 1: Fluorescence in Situ Hybridization Analysis with Mapped Bacterial Artificial Chromosomes. *Genetics*, 161:345-353.
- Laborde C., J. A.; Pozo C., O. (1984).** Presente y Pasado del Chile en México. Publicación Especial No. 85. SARH, INIA. México, D. F. 80 p.
- Lee, M. (1995).** DNA markers and plant breeding programs. *Advances in Agronomy*, 55:265-341.
- Loaiza F., F., K. Ritland, J.A. Laborde-Cancino y S.D.Tanksley (1989).** Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. *Plant Systematics and Evolution* 165: 159-188.
- Lowe, A.J.; Hanotte, O.; Garino, L. (1996).** Standardization of molecular genetic techniques for the characterization of germplasm collection: the case of random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Plant Genetic Resources Newsletter*, 107:50-54.
- Lu, Y.H.; D'Hont, A.; Walker, D.I.T.; Rao, P.S.; Feldmann, P.; Glassmann, J.C. (1994).** Relationships among ancestral species of sugarcane revealed with RFLP using single copy maize nuclear probes. *Euphytica*, 78:7-18.
- Martín, A. (2002).** *Los marcadores genéticos en la Mejora Vegetal*. En: Genómica y Mejora Vegetal. Nuez, F.; Carrillo, J.M.; Lozano, R. (Eds). Mundi-Prensa. Sevilla. pp. 37-64.
- Milla, A. (2006).** *Capsicum* de capsas, cápsulas el pimiento. Pimientos, Compendios de Horticultura. Capítulo 2, pp. 21-31

- Morán, B. S.H., M. Ribero B, Y. García F. y P. Ramírez V. (2004).** Patrones isoenzimáticos de chiles criollos (*Capsicum annum* L.) de Yucatán, México. En: Chávez-Servia, J.L., Tuxill, J., Jarvis, D.I. (eds). pp. 83-89. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. Cali, Colombia.
- Moreno P., E DEL C.; Martínez D., M. T.; Reyes L., D.; Pérez M., C. A.; Peña L., A.; Espinosa R., P. (2006).** Intensidad de color y contenido de antocianinas en chile guajillo (*Capsicum annum* L.). Revista Chapingo Serie Horticultura 12: 125–130.
- Pan, Y.B.; Burner, D.M.; Legendre, B.L.; Grisham, M.P.; White, W.H. (2004).** An assessment of the genetic diversity within a collection of *Saccharum spontaneum* L. with RAPD-PCR. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51(1):895-903.
- Pardey C., R.; García D., M.; Vallejo C., F. A. (2006).** Caracterización morfológica de cien introducciones de *Capsicum* del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Revista Acta Agronómica 55: 1–9.
- Pickersgill, B. (1989).** Genetic resources of *Capsicum* for tropical regions. In: Tomatoe and peppers production in the tropics. Proceedings of the International Simposium on Integrated Management Practices. AVRDC. Tainan, Taiwan 21-26 march 1988.
- Pickersgill B. (1997).** Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. Revista Euphytica 96: 129–133.
- Porter, M.L.; Pérez-Losada, M.; Crandall, K.A. (2005).** Model-based multi-locus estimation of decapods phylogeny and divergence times. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 37(2):355-369.
- Pozo, C.D., S. Montes and E. Rendón. (1991).** Chile (*Capsicum spp.*). In: R. Ortega, G. Palomino, F.Castillo, V.A. González y M. Livera (eds). Avances en el estudio de los recursos genéticos de México. SOMEFI, Chapingo, Mex. pp. 217-238.

- Prakash, N.S.; Combes, M.C.; Dussert, S.; Naveen, S.; Lashermes, P. (2005).** Analysis of genetic diversity in Indian robusta coffee genepool (*Coffea canephora*) in comparison with a representative core collection using SSRs and AFLPs. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52(3):333-343.
- Primack, R.B., Kang, H. (1989).** Measuring Fitness and Natural Selection in Wild Plant Populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20:367-396.
- Ramiro C. A. (2001).** Guajillo San Luís y Guajillo INIFAP. Nuevas Variedades de Chile Mirasol para el Centro de México. Ed. INIFAP. San Luís Potosí, México. 25 p.
- Smartt, J. (1981).** Evolving gene pools in crop plants. *Euphytica*, 30(2):415-418.
- Smith, P.; Heiser, jr. (1951).** Taxonomic and genetic studies of the cultivated peppers, *Capsicum annuum* L. and *Capsicum frutescens* L. *American Journal of Botany* 38: 362-368 p.
- Solis, J. 1998.** Capsicum y Cultura: la historia del Chilli. 2 ed. México, DF. Fondo de cultura económica. 204 p.
- van Hintum, Th.J.L. (1995).** *Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants.* In: Core Collections of Plant Genetic Resources. Hodgkin, T.; Brown, A.D.H.; van Hintum Th.J.L. (Eds). IPGRI p 23-34.
- Vijayan, N.; Nair, S.; Screenivasan, T.V.; Mohan, M. (1999).** Analysis of genetic diversity and phylogeny in *Saccharum* and related genera using RAPD markers. *Genetic Resource and Crop Evolution*, 46:73-79.
- Wilson, A.C.; Sarich, V.M.; Maxson, L.R. (1974).** The importance of gene rearrangement in evolution: evidence from studies of rates of chromosomal, protein and anatomical evolution. *Proceeding National Academy Science*, 71:3028-3030.

Wilson, A.C.; Carlson, S.S.; White, T.J. (1977). Biochemical evolution. *Annual Review Biochemistry*, 46:473-639.

Xu, M.L.; Melchinger, A.E.; Lübberstedt, T. (1999). High-resolution mapping of loci conferring resistance to sugarcane mosaic virus in maize using RFLP, SSR, and AFLP markers. *Molecular General Genetics*, 261:574-581.

REVISIÓN TÉCNICA Y EDICIÓN

Dr. Manuel de Jesús Flores Najera
INIFAP Zacatecas

M.C. Candelario Serrano Gómez
INIFAP Aguascalientes

DISEÑO DE PORTADA

Luis Roberto Reveles Torres

Código INIFAP

MX-0-310311-11-02-11-09-80

Grupo Colegiado del CEZAC

Presidente: Dr. Jaime Mena Covarrubias

Secretario: Dr. Francisco G. Echavarría Cháirez

Comisión Editorial y Vocal: Dr. Manuel de Jesús Flores Najera

Vocal: Dr. Luis Roberto Reveles Torres

Vocal: Dr. Guillermo Medina García

Vocal: Ing. Manuel Reveles Hernández

Vocal: MC. Mayra Denise Herrera

La presente publicación se terminó de imprimir en el mes de
Diciembre de 2016 en "Paus" Impresiones, Calle Real del Calvario
#125, Col. Real de Calera. C. P. 98500, Calera de V. R.,

Zacatecas, México.

Tel. (478) 98 5 22 13

Su tiraje constó de 500 ejemplares

CAMPO EXPERIMENTAL ZACATECAS

DIRECTORIO

Dr. Francisco Gpe. Echavarría Cháirez
Director de Coordinación y Vinculación

Dr.	Guillermo Medina García	Agrometeorología y Modelaje
MC.	Nadiezhdá Y. Ramírez Cabral*	Agrometeorología y Modelaje
Dr.	Manuel de Jesús Flores Nájera	Carne de Rumiantes
Dr.	Alfonso Serna Pérez	Fertilidad de suelos y nutrición vegetal
Ing.	José Ángel Cid Ríos*	Fríjol y Garbanzo
MC.	Juan José Figueroa González	Fríjol y Garbanzo
MC.	Mayra Denise Herrera	Fríjol y Garbanzo
Dr.	Jorge A. Zegbe Domínguez	Frutales
MC	Valentín Melero Meraz	Frutales
Ing.	Manuel Reveles Hernández	Hortalizas
MC.	Miguel Servin Palestina	Ingeniería de Riego
Dra.	Raquel Cruz Bravo	Inocuidad de Alimentos
MC	Enrique Medina Martínez	Maíz
MC.	Francisco A. Rubio Aguirre	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Dr.	Ramón Gutiérrez Luna	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Ing.	Ricardo A. Sánchez Gutiérrez	Pastizales y Cultivos Forrajeros
Dr.	Luis Roberto Reveles Torres	Recursos Genéticos: Forestales, Agrícolas, Pecuarios y Microbianos
Dr.	Jaime Mena Covarrubias	Sanidad Forestal y Agrícola
Dr.	Rodolfo Velásquez Valle	Sanidad Forestal y Agrícola
MC.	Blanca I. Sánchez Toledano *	Socioeconomía

* Becarios

WWW.INIFAP.GOB.MX

SAGARPA
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,
PESCA Y ALIMENTACIÓN



inifap

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias