

Caracterización morfológica y molecular de la variabilidad genética del timpinchile (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum* sin. *aviculare*) en Chiapas

Morphological and molecular characterization of the genetic variability of timpinchile (Capsicum annum L. var. glabriusculum sin. aviculare) in Chiapas

REYNERIO ADRIÁN ALONSO BRAN¹, BEATRIZ ZAMBRANO CASTILLO, RICARDO QUIROGA MADRIGAL, MARÍA DE LOS ÁNGELES ROSALES ESQUINCA Y PILAR PONCE DÍAZ

RESUMEN

La investigación se realizó en Monterrey, municipio de Villacorzo, Chiapas con el propósito de caracterizar: 1) la variabilidad genética molecular del timpinchile, para determinar la diversidad presente en esa microrregión y 2) la variabilidad *in situ* debida a las condiciones de los sitios. Se utilizaron los descriptores para *Capsicum* basado en características cuantitativas y cualitativas. Se realizó un análisis discriminante y se evaluó por zonas la diversidad con los Índices de Margalef y Simpson. Se evaluó, además, la pendiente, altitud, apariencia y variabilidad observada en los sitios de muestreo. Para la extracción de ADN se utilizó el método de Asemota y el ADN genómico se amplificó mediante PCR para la obtención de 15 bandas polimórficas utilizando el iniciador UBC 862, esta información fue analizada con la ayuda del programa NTSYS, mediante la construcción de una matriz de similitud que generó un dendograma, y que mostró afinidad genética entre las accesiones estudiadas, al distinguirse un solo agrupamiento entre ellas. Los caracteres: longitud de antera, peso de mil semillas y longitud de pedicelo y placenta, presentaron mayor valor discriminante. Como resultado del análisis discriminante, se formaron cuatro grupos de caracteres de valor para la caracterización morfológica del timpinchile: frutos, hojas, arquitectura de la planta y flores. Los índices de riqueza de Margalef y de dominancia Simpson, fueron adecuados para evaluar la diversidad, la zona II fue la que mayor diversidad presentó. El trabajo en su conjunto permite afirmar que existe variabilidad baja e intermedia en pendiente y fuentes de recolección de plantas.

Palabras Clave: diversidad, descriptor, genes

ABSTRACT

The research took place in the community so called Monterrey, municipality of Villa Corzo, Chiapas, with the objective of characterizing: 1. the molecular genetic variability of timpinchile, to determine its diversity in this microregion and 2. variability *in situ* due to the conditions of recollection sites. Descriptors for *Capsicum* based on quantitative and qualitative characteristics were used. Discriminant analysis was conducted and assessed by zones with the diversity indices of Margalef and Simpson. Slope, altitude, appearance and observed variability in sampling sites were assessed. Asemota method was used for DNA extraction of and genomic DNA amplified by PCR to obtain 15 polymorphic bands using primer UBC 862. This information was analyzed with the NTSYS program through the construction of a similarity matrix which led a dendogram. Such a dendogram showed genetic affinity between the studied accessions, and assisted to distinguish a single grouping among them. Characters like anther length, seed weight and pedicel and placenta length showed the highest discriminant value. Discriminant analysis led to four groups of characters for the morphological characterization: fruits, leaves, architecture of plant and flowers. The Margalef and Simpson indices were appropriated to assess diversity. Zone II presented the greatest diversity. This research showed that there is low and intermediate variability in slope and plants sources of collection.

Keywords: diversity, descriptor, genes.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de chile (*Capsicum spp*) es uno de los más importantes en México y el mundo. Evidencia de ello es la gran variabilidad de formas cultivadas que se usan en el país, resultado de la amplia diversidad de ambientes agroecológicos y de culturas precolombinas. En la actualidad existe una extensa gama de chiles de diferentes formas, colores, aromas, sabores y tamaños que constituyen una valiosa contribución de México a la gastronomía mundial. Chiapas se localiza en una de la diez regiones con mayor biodiversidad en el planeta; entre sus recursos fitogenéticos nativos se encuentra el timpinchile (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill).

En la actualidad se cultivan cinco especies de *Capsicum*, de las cuales cuatro están presentes en México siendo nuestro país, además, reconocido como centro de origen y diversidad de *Capsicum annum*. Se considera que México es un sitio estratégico para la conservación y aprovechamiento de este recurso, por poseer un gran número de tipos de chiles de importancia comercial y/o regional en todo el país. Por otro lado, existe el pariente silvestre más cercano, *Capsicum annum* var. *glabriusculum* sin *aviculare*, conocido comúnmente por la población como timpinchile, con amplia distribución nacional, que presenta diversidad morfológica y genética en las regiones en donde se distribuye y forma parte importante de la economía local.

¹ Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agronómicas. Carretera Ocozacoautla-Villaflores, Chiapas, México. C.P. 30470. Correo-e: bran@unach.mx

Actualmente la diversidad presenta erosión genética como consecuencia de desastres y destrucción de áreas naturales, sustitución de variedades criollas, plagas y enfermedades, entre otras causas; que se manifiesta en pérdida de genes de interés agronómico y comercial. En 1979 la FAO lo propuso como un cultivo de alta prioridad para los estudios de conservación, por dos motivos fundamentales: por su importancia económica y por la pérdida en alto grado de la variabilidad natural considerando, además, a Mesoamérica (México y Centroamérica) como área de máxima prioridad para la exploración y estudio de estos recursos fitogenéticos. Dicha decisión se tomó en primer lugar por ser un género nativo de esta área geográfica y en segundo lugar, por la gran cantidad de especies silvestres que todavía hoy se siguen descubriendo (IPGRI, 2001).

La mayor parte de las colectas nacionales se han perdido, principalmente la especie en estudio. Aunado a lo anterior, en diversas regiones del estado de Chiapas, específicamente en la región Frailesca y el municipio de Villa Corzo, este morfotipo se encuentra amenazado por factores naturales de destrucción de su hábitat y otros adversos. Ante esta situación, es prioritaria la ejecución de programas de rescate, conservación y aprovechamiento sostenible de los recursos genéticos del género *Capsicum* a nivel nacional, estatal, regional y municipal, con vistas a preservar la especie y a mantenerla en condiciones naturales.

Es importante conocer las limitantes que se presentan para su conservación, características morfológicas que lo distinguen como el mejor chile y el conocimiento de las áreas en donde se reproduce. Así mismo, se debe realizar la caracterización de las zonas donde se ubican las poblaciones silvestres, para establecer las relaciones de las características de éstas con la supervivencia y desarrollo de las plantas.

Considerando esta situación en el ejido Monterrey, municipio de Villa Corzo, Chiapas, se realizó la caracterización morfológica *in situ* y molecular de la variabilidad genética del timpinchile; además, se caracterizaron los sitios y puntos de muestreo, teniendo en cuenta el medio ambiente relacionado con el estado de conservación de las plantas. La caracterización molecular se utilizó como herramienta para evaluar la diversidad de esta especie y compararla con las características morfológicas de acuerdo con los siguientes obje-

tivos: caracterizar *in situ* la variabilidad del chile silvestre timpinchile, las condiciones de los sitios o puntos de muestreo y caracterizar molecularmente su variabilidad genética.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el ejido Monterrey y zonas aledañas a la Sierra Madre de Chiapas, ubicados entre los 92° 25' 42" longitud oeste y 16° 13' 41" latitud norte y zonas colindantes del municipio de Villa Corzo, Chiapas, a una altitud de 580 msnm; se localiza, además, a 20 km de la cabecera municipal. Se puede apreciar durante la mayor parte del año un clima cálido subhúmedo, excepto en los meses de noviembre, diciembre y parte de enero, cuando disminuye la temperatura y se torna templado. El estudio se efectuó en el período comprendido entre agosto de 2009 y mayo de 2010 y se dividió en tres etapas:

- a) Caracterización morfológica *in situ* de la variabilidad del timpinchile.
- b) Caracterización de los sitios o puntos de muestreo.
- c) Caracterización molecular de la variabilidad genética del timpinchile.

En la caracterización morfológica se utilizaron los Descriptores morfológico-taxonómicos propuestos por el AVRDC-IPGRI-CATIE (1995) y se realizó en condiciones naturales de campo con el fin de deducir las distribuciones reales.

Para la caracterización *in situ* de los chiles encontrados en los puntos de muestreo, se evaluaron las características cuantitativas y cualitativas altamente discriminantes consideradas por el IPGRI. Las variables cuantitativas evaluadas a las plantas encontradas en cada punto de muestreo consistieron en: altura de la planta (cm); diámetro de la copa (cm); longitud del tallo (cm); diámetro del tallo (cm); longitud de hojas maduras (cm); diámetro de hojas maduras (cm); longitud de corola (cm); longitud de anteras (mm); longitud de filamento (mm); número de flores por axila; longitud de la placenta (cm); longitud de frutos (cm); diámetro de frutos (cm); peso de frutos (g); longitud del pedicelo (cm); espesor de la pared frutos (mm); diámetro de semillas (mm); peso de 1 000 semillas (g) y número de semillas por frutos, y las características cualitativas fueron: posición de la flor, color de la flor y de las anteras, exserción del estigma, color del fruto en estado maduro e intermedio y forma del fruto.

Para la clasificación e identificación de las muestras de plantas se utilizaron las claves taxonómicas de la FAO (1983). Con las variables cuantitativas se realizó un análisis discriminante (Franco e Hidalgo, 2003). Como parte del análisis discriminante se realizó la selección, paso a paso, de aquellas características que mayor aporte representaron en la discriminación entre las muestras obtenidas. Se determinaron las variables de mayor magnitud relativa dentro de cada función discriminante, considerando las que más contribuían a la discriminación.

Para determinar la diversidad de chiles silvestres *in situ*, se evaluó en todas las zonas de muestreo, la riqueza de especies o diversidad alfa y la diversidad beta o diversidad entre hábitat (Moreno, 2001). La riqueza de especies se midió mediante el Índice de Margalef, que mide la riqueza específica y el Índice de Dominancia de Simpson, que mide la estructura de la comunidad, según las siguientes fórmulas:

$$\text{Índice de Riqueza de Margalef: } R_M = \frac{(s - 1),}{\ln N}$$

donde: S es el número de morfotipos y N es el número total de individuos de todos los morfotipos.

Índice de Dominancia de Simpson: $\lambda = \sum P_i^2$, donde: P_i es el número de individuos de un morfotipo dado entre el número total de individuos.

Caracterización de los sitios o puntos de muestreo

Para determinar las áreas con los chiles en estudio a evaluar, se trazaron rutas de muestreos utilizando el mapa del estado de Chiapas editado por el INEGI (2000). Se realizó la caracterización de cada uno de los puntos de muestreo teniendo en cuenta el propio descriptor de *Capsicum* y se evaluó la latitud, longitud y altitud utilizando el Sistema de Posicionamiento Global (GPS); la procedencia de la colecta (huerto, terreno del campesino y bosque); total de muestras; número de plantas muestreadas en cada punto y la apariencia general de la población mediante un criterio descriptivo acerca de las condiciones aparentes de la población de plantas de chiles, considerándose como débiles las representadas por plantas pequeñas, enfermas o raquíticas; intermedias las representadas por plantas de tamaño medio y con bajos niveles de severidad por

fitopatógenos y vigorosas las representadas por plantas fuertes y sanas; la variabilidad observada se estimó considerando el número de morfotipos encontrados en el punto de muestreo a partir de las diferencias fenotípicas en las plantas muestreadas, según lo sugerido por Dewitt y Bosland (1996) y Hernández et al. (1999), clasificándola como alta, intermedia y baja. Para el conjunto de valores se definieron escalas, las cuales eran enmarcadas en un sistema de grado. En el caso de los caracteres cualitativos (apariciencia y variabilidad), se tomaron en cuenta de acuerdo con el Descriptor Internacional de *Capsicum*, de la siguiente forma: el número 3 se asignó a los valores más bajos o menor nivel del carácter y el número 7 al más alto o de mayor valor, el número 5 siempre expresa un nivel intermedio.

En el caso del carácter número de plantas por punto de muestreo se anotó el número real 1, 2 y 3, etc., con base en las plantas encontradas en cada punto.

La pendiente se expresó en porcentajes con los datos tomados con el nivel tipo "A", considerando cinco niveles de acuerdo con la FAO (1990): 1 (0-0,5), 2 (0,6-2,9), 3 (3-5,9), 4 (6-10,9), 5 (11-15,9), evaluándose el total de muestras por cada valor de la pendiente; se realizó una descripción de las plantas de Chile encontradas bajo condiciones de sombra y bajo el sol.

Se determinó la relación existente entre las variables correspondientes a las características de los puntos de muestreo, fuente de recolección, iluminación y con aquellas variables relacionadas con la planta (total de muestras, número de plantas por punto de muestreo, la apariencia general de la población de plantas y la variabilidad observada); también se evaluó la influencia de la altitud sobre la variabilidad observada. El procesamiento estadístico de la información obtenida se realizó mediante dos pruebas de Chi cuadrada, una para comparar el comportamiento de las variables relacionadas con la planta entre las características del sitio y otra para evaluar el comportamiento de las variables relacionadas con la planta, dentro de cada característica del sitio.

Para cada característica del sitio y la relacionada con la planta se utilizó una prueba de Chi cuadrada para analizar los niveles de cada factor; se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan para la comparación de proporciones.

Caracterización molecular de la variabilidad genética del timpinchile

Se realizó una selección de las 181 accesiones muestreadas en las diferentes zonas de la región en estudio, de éstas se tomaron 10 muestras al azar con una distancia entre ambas de 300 m para evitar la polinización cruzada, representativas del ejido Monterrey, municipio de Villa Corzo, Chiapas, por lo que finalmente se seleccionaron 8 muestras y 5 testigos.

Una vez obtenidos los frutos se extrajeron las semillas para luego ser escarificadas para estimular la germinación (Ramírez et al., 2002). Se utilizó ácido giberélico (AG3) en la presentación comercial de Biogib, a una concentración de 5 000 mgL⁻¹, se sumergieron las semillas durante 24 horas (López y Arroyo, 2006).

Siembra de accesiones de timpinchile

La siembra se realizó en el invernadero de la Facultad de Ciencias Agronómicas, se utilizaron charolas de unigel de 200 cavidades y el sustrato usado fue Cosmopeat®. La emergencia ocurrió a partir de los ocho días, algunas emergieron entre los 15 y 20 días después de la siembra, el trasplante se realizó cuando las plántulas tenían de 2 a 3 hojas verdaderas.

Se colectaron hojas verdaderas totalmente expandidas de plantas de aproximadamente un mes de edad. Las muestras colectadas se limpiaron con etanol al 70%, luego se pesaron (0,3 y 0,5 g) y se congelaron en nitrógeno líquido, para llevar a cabo el proceso de extracción de ADN mediante el método de Asemota (1995).

Amplificación de las muestras mediante ISSR-PCR

Para la amplificación de las diferentes muestras de ADN se utilizó 1 µL de ADN molde y un volumen final de reacción de 25 µL, en tubos para PCR estériles con una capacidad de 500 µL. Se utilizó el cebador ISSR UBC862 (secuencia AGCAGCAGCAGCAGC, Tm= 68.6 °C). La Taq polimerasa, el amortiguador de reacción y la mezcla de desoxirribonucleótidos (dNTP's) fueron de la compañía BIOLINE.

Las reacciones de amplificación se realizaron con un termociclador (ICYCLER) de Bio Rad, con una capacidad de 60 muestras. El programa utilizado fue: un paso inicial de 5 min a 94 °C,

seguido por 40 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 68.6 °C y 2 min a 72 °C, con una extensión final de 7 min a 72 °C, se añadió un paso a 4 °C para conservar fría la muestra antes de ser utilizada. Al terminar la reacción de PCR, a cada uno de los tubos con los productos de amplificación se añadieron 2 µL de amortiguador de carga y posteriormente se corrió una electroforesis en gel de agarosa al 2% en amortiguador TAE 1X.

Análisis de datos con Programa NTSYS (Matriz básica de datos)

Las bandas polimórficas o monomórficas obtenidas en el análisis fueron reproducidas en las diferentes repeticiones realizadas. Las bandas se evaluaron tomando el número 1 como bien si estaban presentes y 0 como ausencia. De esta forma se obtuvieron las diferentes matrices básicas de datos, identificando cada banda con una letra del abecedario, seguido de su tamaño molecular aproximado en pares de bases para el caso de intermicrosatélites.

Matriz de similitud

El análisis de la similitud se llevó a cabo mediante el coeficiente de asociación de Dice (D) (Dice, 1945; Sneath y Sokal, 1973; Nei-Li, 1979). Para obtener esta matriz de similitud se utilizó el programa SIMQUAL de NTSYS-pc ver. 2.2 (Rohlf, 1990).

Análisis de agrupamientos

El análisis de agrupamientos se realizó a partir de la matriz de similitud, mediante el procedimiento UPGMA (Sneath y Sokal, 1973), para obtener el dendograma fenético o fenograma y el programa SAHN-clustering de NTSYS-pc ver. 2.2. La representación gráfica de los agrupamientos en dendogramas se realizó mediante el programa TREE de NTSYS-pc ver. 2.2 (Rohlf, 1990).

Para evaluar la medida en que el fenograma representa los valores de la matriz de similitud, se obtuvo el coeficiente de correlación cofenética. Para ello se construyó, a partir de la matriz del dendograma obtenida con el programa SAHN-clustering de NTSYS-pc ver. 2.2, una nueva matriz simétrica conocida como matriz cofenética (Rohlf y Sokal, 1981), mediante el programa COPH de NTSYS-pc ver. 2.2 (Rohlf, 1990). Posteriormente se empleó el programa MXCOMP de NTSYS-pc ver. 2.2 para calcular la

correlación cofenética existente entre la matriz de valores cofenéticos y la correspondiente matriz de similitudes, mediante el coeficiente de correlación momento-producto (r) y la prueba de Mantel (estadístico Z), que sirven para medir el grado de relación que existe entre las matrices comparadas (Mantel, 1967).

Se utilizó el Programa SPSS versión 17.0 para el análisis discriminantes y los componentes principales se obtuvieron con el programa STATGRAPHIC versión 5.1. Se utilizó el programa COMPAPRO para las pruebas de Chi cuadrada y comparación de las medias a través de la prueba de Duncan y la caracterización del sitio en todas las variables evaluadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados preliminares de la caracterización *in situ* para caracteres cuantitativos indicaron que las poblaciones de plantas de timpinchile comprenden caracteres relacionados con la arquitectura de la planta, hojas, flores, frutos y semillas (Cuadro 1). La desviación estándar en la mayoría de las variables es baja, su dispersión se manifiesta con los valores bajos de las medias; sin embargo, para los descriptores: longitud de tallo y diámetro de copa, la desviación estándar presenta valores más altos, la inten-

sidad de estos caracteres se manifiesta en las poblaciones de plantas de esta especie.

Con relación al coeficiente de variación, los descriptores: longitud de tallo, diámetro de copa, espesor de la pared del fruto y altura de planta presentan resultados muy variables y el peso de mil semillas presenta un coeficiente de variación relativamente uniforme, lo que indica que la mayor parte de los caracteres en estudio presentan variación para la región del ejido Monterrey y Sierra Madre de Chiapas.

En el análisis estadístico se puede observar que los caracteres: longitud del tallo y diámetro de copa tienen un CV mayor a 50%, lo cual indica la más alta variabilidad en la especie; altura de la planta, diámetro del tallo, longitud y diámetro de hoja, longitud de la antera, peso del fruto, espesor del fruto y número de semillas por fruto tienen un CV mayor a 20%, con una variabilidad considerable dentro de la especie estudiada; así mismo, se observan nueve variables con un CV menor a 20%, presentando baja variabilidad respecto a estos caracteres. Al respecto, Franco e Hidalgo (2003) afirmaron que el grado de variabilidad de un carácter no indica necesariamente la magnitud de su utilidad desde el punto de vista del cultivo, ya que esto depende de los usos de la especie; para tal efecto, se cita que los niveles de variabilidad en los caracteres es-

Cuadro 1. Descriptores mínimos con estadísticos fundamentales

Variables	N	\bar{X}	Suma	Max	Min	D.E.	C.V.	E.S.
Altura de planta	181	84.92	15371.0	260	22	38.70	45.57	2.88
Longitud de tallo	181	7.68	1391.6	58	0.5	8.80	114.42	0.65
Diámetro de copa	181	76.18	13789.1	240	1.1	46.40	60.91	3.45
Diámetro de tallo	181	1.24	224.6	3.9	0.3	0.60	48.38	0.04
Longitud de hoja	181	7.72	1389.7	15.3	2	3.0	38.80	0.22
Diámetro de hoja	181	3.26	590.6	8.2	0.8	1.20	36.63	0.09
Longitud de corola	181	0.92	166.6	1.3	0.5	0.10	11.15	0.01
Longitud de antera	181	2.16	392.7	3.5	0.2	0.44	20.37	0.03
Longitud de filamento	181	4.24	768.5	6	1	0.75	17.67	0.06
Longitud de placenta	181	0.69	124.2	1	0.4	0.11	16.24	0.01
Longitud del fruto	181	0.79	142.1	1.1	0.5	0.12	14.78	0.01
Diámetro del fruto	181	0.56	100.7	0.75	0.4	0.07	12.10	0.01
Peso del fruto	181	0.21	37.5	0.3	0.1	0.05	22.77	0.01
Longitud del pedicelo	181	2.53	457.7	3.85	1.1	0.40	15.65	0.02
Espesor del fruto	181	0.85	154.2	3	0.3	0.38	45.18	0.03
Diámetro de semillas	181	3.50	633.7	5	0.3	0.44	12.52	0.04
Peso de mil semillas	181	3.49	630.9	3.6	3.3	0.06	1.66	0.01
Nº semillas por fruto	181	9.42	1705.0	18	2	2.79	29.50	0.21

tudiados manifiestan estabilidad en cuanto a los caracteres cuantitativos en esta región.

Se puede observar (Cuadro 2) que la determinación de las variables de mayor magnitud relativa, dentro de cada función discriminante, están agrupadas por flores, semillas y frutos, principalmente. De acuerdo con los coeficientes de las 17 funciones discriminantes canónicas estandarizados, se estima que en la función discriminante 15: longitud de antera, función discriminante 11: peso de mil semillas y en la función discriminante 16: longitud de pedicelo, son los que presentan una marcada influencia en la discriminación, de tal modo que las características de arquitectura de la planta del fruto y semilla se separaron del resto de manera significativa; mientras que para la función discriminante dos: diámetro de copa, contribuyó en mayor medida a determinar las características altamente heredables relacionadas con la planta; sin embargo, en la función discriminante 13: espesor de la pared del fruto, representa otra de las características del fruto que contribuye a la discriminación del timpinchile. Por lo tanto, las características de flores, semillas y frutos pueden influir en la identificación de este chile, lo que indica que es un carácter dominante heredable utilizado para estudios de mejoramiento genético.

Estos caracteres que influyeron en la discriminación se consideran sobresalientes porque representan la base genética obtenida *in situ*,

considerando que los caracteres que están relacionados con flores y semillas tienen influencia en la preservación de la especie. Lo anterior demuestra que estos caracteres son importantes para que esta variedad permanezca por años en la región, de tal forma que están representados en toda la planta; además, con los resultados obtenidos se presenta un nuevo conjunto de caracteres independientes que pueden utilizarse en estudios de variabilidad genética, búsqueda de genes de interés para el mejoramiento genético.

El análisis de las funciones discriminantes canónicas (Cuadro 3) efectuado en 17 caracteres evaluados, permitió explicar 52.1% de variabilidad en los 3 primeros niveles. El timpinchile, en el ejido Monterrey y zonas aledañas, incluyendo la Sierra Madre de Chiapas, está representado por un nivel intermedio de variabilidad, esto explica la baja presencia de este recurso fitogenético en la región, presentándose en pocos meses, por lo que es imprescindible establecer estrategias para su conservación (Méndez, 1999; Nuez et al., 2003).

Al realizar el análisis de los componentes principales para obtener el porcentaje de la varianza para las tres primeras funciones discriminantes se obtuvo 0.99 de variabilidad (Cuadro 4) sobresaliendo en el componente tres el carácter: longitud de tallo, tipos con características representativas originales de este morfotipo relacionados con arquitectura de la planta y en el

Cuadro 2. Correlación entre variables y función discriminante

	Función																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
DC	0.22	0.64	-0.14	0.02	0.11	0.00	0.13	0.20	-0.13	0.08	0.01	-0.20	-0.31	0.11	0.34	-0.00	0.02
LC	-0.04	-0.07	-0.00	0.53	-0.05	0.43	-0.35	0.21	0.03	0.10	0.06	0.07	-0.35	0.13	0.00	0.14	0.39
DT	0.13	0.23	-0.13	-0.08	0.45	0.51	0.42	0.18	-0.03	0.05	-0.04	0.06	-0.43	0.01	-0.03	-0.09	-0.08
LF	-0.08	-0.06	-0.11	0.42	-0.11	0.22	-0.13	0.09	-0.49	-0.23	0.05	0.15	0.34	0.29	0.27	0.27	0.12
DF	0.00	-0.01	0.08	0.18	0.21	-0.04	0.18	0.19	-0.17	0.52	0.32	-0.34	-0.28	0.22	0.11	0.15	-0.3
NSF	-0.00	0.09	0.09	0.06	0.13	-0.12	0.29	0.07	-0.35	0.49	0.29	-0.09	-0.25	-0.03	-0.15	0.30	0.45
PMS	-0.05	0.10	0.01	0.01	-0.11	0.17	0.23	-0.2	0.43	-0.04	0.69	0.03	0.01	0.12	0.29	0.11	0.19
LPL	0.02	-0.05	0.05	0.10	0.28	0.01	0.00	0.08	0.23	0.47	0.49	0.23	0.44	0.17	0.13	-0.21	-0.12
LF	-0.05	0.02	0.12	0.12	0.27	0.01	0.02	0.05	-0.24	0.47	0.48	0.20	-0.44	0.16	0.13	-0.2	-0.16
PF	-0.08	0.05	-0.12	0.23	-0.05	-0.01	0.20	-0.16	0.31	0.44	-0.43	0.45	-0.13	0.32	0.01	0.16	-0.08
EF	0.01	0.07	-0.04	-0.01	0.10	0.27	-0.23	0.02	-0.00	0.50	0.02	0.09	0.61	-0.35	0.21	0.13	-0.10
DS	0.09	-0.08	-0.05	0.46	-0.01	-0.05	0.30	0.06	-0.06	0.11	0.20	0.05	-0.07	-0.58	0.09	-0.19	-0.46
LA	-0.05	-0.07	0.03	0.02	-0.00	0.07	-0.07	0.11	-0.10	-0.12	-0.17	0.07	-0.13	-0.11	0.76	0.47	0.23
LP	-0.03	0.19	-0.01	0.00	-0.11	-0.11	-0.04	0.47	-0.17	-0.03	0.21	0.28	-0.07	0.00	-0.22	0.68	-0.17
DM	0.19	0.06	0.17	0.30	0.20	-0.19	-0.30	-0.45	-0.08	-0.12	-0.01	0.12	-0.06	-0.03	-0.11	0.56	-0.29
LT	0.06	0.00	0.20	0.22	0.32	-0.24	-0.03	0.18	0.28	-0.17	0.11	0.08	0.28	0.28	0.10	-0.54	0.33
LH	-0.03	0.01	-0.03	0.28	0.46	-0.29	-0.30	-0.34	-0.03	-0.09	0.08	0.03	-0.09	-0.16	0.12	0.54	-0.19

DC= Diámetro de copa. LC= Longitud de corola. DT= Diámetro de tallo. LF= Longitud de filamento. DF= Diámetro de fruto. NSF= Número de semillas por fruto. PMS= Peso de mil semillas. LPL= Longitud de placenta. LF= Longitud de fruto. PF= Peso de fruto. EF= Espesor de la pared del fruto. DS= Diámetro de semillas. LA= Longitud de antera. LP= Longitud de pedicelo. DM= Diámetro de semillas. LT= Longitud de tallo. LH= Longitud de hoja.

Cuadro 3. Porcentaje de variabilidad genética en el chile silvestre timpinchile

Función	Valores propios	Porcentaje de la Varianza	Acumulado %	Correlación canónica
1	8.027	24.5	24.5	0.943
2	5.406	16.5	41.0	0.919
3	3.629	11.1	52.1	0.885
4	2.340	7.1	59.2	0.837
5	2.086	6.4	65.6	0.822
6	1.913	5.8	71.4	0.810
7	1.539	4.7	76.1	0.779
8	1.290	3.9	80.1	0.751
9	1.126	3.4	83.5	0.728
10	1.012	3.1	86.6	0.709
11	.900	2.7	89.4	0.688
12	.822	2.5	91.9	0.672
13	.789	2.4	94.3	0.664
14	.652	2.0	96.3	0.628
15	.540	1.6	97.9	0.592
16	.385	1.2	99.1	0.527
17	.300	.9	100.0	0.481

Cuadro 4. Porcentaje de la varianza para las tres primeras funciones discriminantes canónicas y los caracteres que la componen

	Proporción	0.822	0.153	0.020	0.003	0.002	0.000
	Acumulado	0.822	0.975	0.995	0.998	0.999	1.000
Variable	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	
Altura de planta	-0.608	0.791	0.063	0.014	0.006	0.005	
Longitud de tallo	0.000	0.079	-0.996	0.001	0.028	0.004	
Diámetro de copa	-0.794	-0.606	-0.049	-0.002	-0.011	-0.002	
Diámetro de tallo	-0.006	0.000	0.006	0.006	0.052	-0.154	
Longitud de hoja	-0.004	0.015	-0.011	-0.889	-0.330	-0.117	
Diámetro de hoja	-0.003	0.009	0.001	-0.278	-0.143	0.222	
Longitud de corola	-0.000	-0.000	0.000	-0.005	0.002	0.056	
Longitud de antera	0.000	-0.004	0.006	-0.013	-0.013	0.248	
Longitud de filamento	0.001	-0.004	-0.001	-0.022	-0.030	0.904	
Longitud de placenta	-0.000	0.000	-0.002	-0.010	0.019	-0.004	
Longitud del fruto	-0.000	-0.000	-0.002	-0.011	0.021	-0.006	
Diámetro del fruto	-0.000	-0.000	0.000	-0.007	0.013	-0.002	
Peso del fruto	-0.000	-0.000	0.000	-0.001	-0.000	-0.001	
Longitud pedicelo	-0.002	-0.002	0.011	-0.028	0.025	0.136	
Pared del fruto	-0.001	-0.000	0.005	-0.002	-0.007	0.090	
Diámetro de semillas	-0.000	0.003	0.002	-0.021	0.012	0.057	
Peso mil semillas	-0.000	-0.000	-0.001	0.002	0.003	0.001	
Semillas por fruto	-0.007	-0.008	0.024	-0.359	0.930	0.030	

componente cinco sobresalen el carácter: semillas por fruto, en el componente seis destaca el carácter: longitud de filamento, está representado por plantas con características diferentes en las flores. El carácter: longitud de hoja representada en el componente cuatro por plantas con características de arquitectura de la planta, que incluyen a los caracteres: altura de la planta y diámetro de copa. La variación genética se manifiesta en el tallo, semillas y filamento, principalmente. El diámetro y la longitud de los frutos son caracteres correlacionados con el peso de éstos, poseen un alto valor discriminante y facilitan la identificación de los morfotipos. El tamaño del fruto es un carácter de herencia compleja, resultado de la interacción de varios genes, pero está sujeto a modificaciones considerables por los factores del medio ambiente (Bran, 2009).

El coeficiente de distancia representa la similitud como la proximidad de las variables o accesiones con respecto a las demás, son medidas de diferencias en las cuales los valores elevados indican una menor similitud.

En la Figura 1 se puede observar la distancia de las diferentes variables de timpinchile, donde los caracteres fenológicos forman grupos relacionados con: arquitectura de la planta, flores, frutos y semillas. El dendograma representado con la distancia Euclídeana, muestra el nivel de similitud con la longitud de la placenta y la del fruto. El primer carácter es de mucha importancia porque está correlacionado con el peso de los frutos, es en el que

se manifiesta la resistencia con relación al grosor de la placenta y semillas presentes, además, la vida de anaquel y es donde se almacena la mayor cantidad de capsicina que determina lo picante de los frutos (Bran, 2009). Estas tres variables son las que conservan las semillas y son las que guardan la información genética de la especie, además de ser la forma de conservación y dispersión.

La longitud y diámetro de las hojas, altura de la planta y el diámetro de copa se relacionaron con el diámetro del tallo. Es evidente que en condiciones favorables esta planta logra desarrollar una altura de 1.50 m y un grosor de tallo de más de 2 cm, así como un diámetro de copa de 2 m.

Los caracteres: longitud de la corola y longitud del filamento formaron grupos de gran valor genético, ya que en ambos se lleva a cabo la polinización. Estos caracteres influyen en el agrupamiento de los morfotipos en estudio y son características que pueden diferenciar a las especies de *Capsicum*.

La mayor dispersión fue presentada por los caracteres: diámetro, longitud y número de semillas por fruto, estos caracteres manifiestan representatividad del germoplasma alojado en el fruto y se demuestra que la base genética de este morfotipo está determinada por caracteres del fruto. Las características de este morfotipo en estudio utilizando caracteres cuantitativos como descriptores mínimos se muestran en el Cuadro 5 y forman parte de los resultados obtenidos en campo, representativos de esta especie en la región.

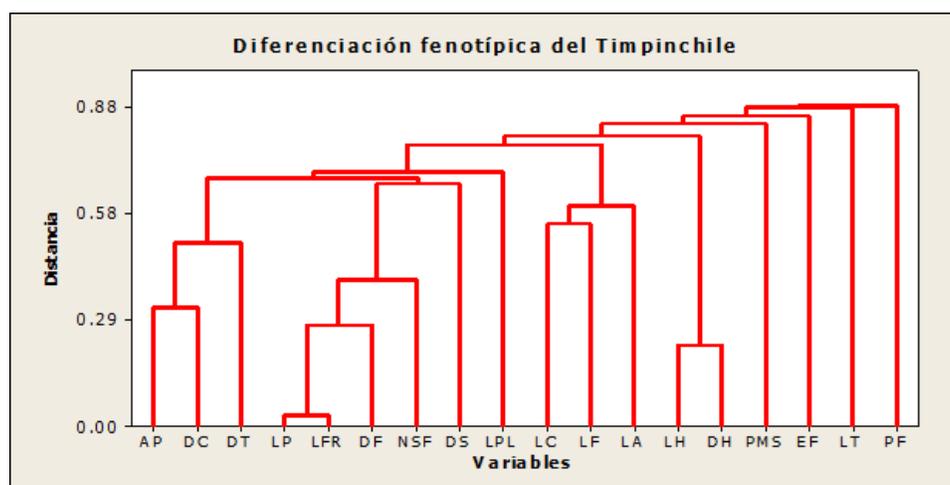


Figura 1. Diferenciación fenotípica del timpinchile con relación al coeficiente de distancia. *DC= Diámetro de copa. LC= Longitud de corola. DT= Diámetro de tallo. LF= Longitud de filamento. DF= Diámetro de fruto. NSF= Número de semillas por fruto. PMS= Peso de mil semillas. LPL= Longitud de placenta. LF= Longitud de fruto. PF= Peso de fruto. EF= Espesor de la pared del fruto. DS= Diámetro de semillas. LA= Longitud de antera. LP= Longitud de pedicelo. DM= Diámetro de semillas. LT= Longitud de tallo. LH= Longitud de hoja.

Cuadro 5. Descriptores mínimos representativos del timpinchile

Altura de planta	85 cm
Primera bifurcación	8 cm
Diámetro de copa	78 cm
Diámetro de tallo	1.5 cm
Longitud de hoja madura	8 cm
Diámetro de hoja madura	3 cm
Longitud de corola	1 cm
Longitud de antera	3 mm
Longitud de filamento	4 mm
Número de flores por axila	1
Longitud de la placenta	0.7 cm
Longitud del fruto	0.8 cm
Diámetro del fruto	0.6 cm
Longitud del pedicelo	3 cm
Diámetro de semillas	4 mm
Peso de mil semillas	0.3 g
Número de semillas por fruto	9

En la mayor parte de la región se realizaron estudios de indicadores de diversidad, y para ello se muestrearon cinco diferentes zonas, utilizando el Índice de Diversidad de Riqueza de Margalef, que señala que al obtener valores mayores a 4 ya se puede considerar que existe diversidad significativa o variabilidad. Los resultados obtenidos representados en el Cuadro 6 en cuanto a la diversidad de las zonas, indicaron que en todas las zonas en estudio existe diversidad de esta especie, sobresaliendo la zona II y la zona V. En la zona II se manifestó una alta riqueza de diversidad con respecto a las otras zonas de muestreo, donde se detectó un número

significativo de muestras, con altitudes que van de 650 a 750 m, y que indudablemente tienen influencia en la diversidad obtenida.

En cuanto al índice de Dominancia de Simpson, en el que el valor mínimo dentro de las zonas presenta mayor diversidad o variabilidad se puede notar una marcada dominancia en la zona II, los datos también son significativos en las zonas V y I, pero éstas con menor dominancia.

En el Cuadro 7 se observa que, de acuerdo con los niveles de pendiente en relación con la variabilidad, donde se ubicó el mayor número de plantas de timpinchile es en la pendiente cinco (11-15.9%), con un total de 85 plantas,

Cuadro 6. Diversidad de las poblaciones de timpinchile por zonas con relación a los niveles de altitud

Altitud	ZONAS				
	Z I	Z II	Z III	Z IV	Z V
650 - 700	0	77	6	0	0
701 - 750	22	40	0	0	0
751 - 800	0	0	0	7	0
801 - 850	0	0	0	2	14
851 - 900	0	0	0	0	13
Subtotal	22	117	6	9	27
Total	22	117	6	9	27
Rm*			33.8591766		
Rm*	4.040015	22.31628	0.961908	1.539053	5.001924
λ **	0.051653	0.001826	0.694444	0.308642	0.034294

*Rm = Índice de Riqueza de la diversidad de Margalef.

** λ = Índice de Dominancia de Simpson.

Cuadro 7. Niveles de pendiente con relación a la variabilidad observada

Pendiente	Variabilidad alta	Variabilidad intermedia	Variabilidad baja
(P1) 0-0,5	0	0	0
(P2) 0,6-2,9	0c	6 ^a	1b
(P3) 3-5,9	3c	7 ^a	7a
(P4) 6-10,9	1c	8b	12a
(P5) 11-15,9	2c	49b	85a

con variabilidad baja y 49 plantas en variabilidad intermedia.

Con relación a las características que presentaron las plantas en las fuentes de recolección con respecto a la variabilidad, se detectó la variabilidad baja e intermedia en el bosque con el mayor número de plantas (Cuadro 8); sin embargo, es probable que las condiciones climáticas existentes en ese hábitat limiten el desarrollo y crecimiento de las plantas de timpinchile. En este sentido es importante citar que la baja densidad de árboles y las quemas son factores que imposibilitan la variabilidad.

Otro de los indicadores característicos de las plantas es que se encuentran en condiciones favorables de conservación, por lo tanto, las condiciones que presentaron en cada una de las fuentes de recolección están agrupadas con relación a la reproducción bajo la sombra de los árboles, aunque las condiciones de cada zona son diferentes, en cuanto a temperaturas inter-

medias que disminuyen y favorecen su desarrollo. De esta forma se observa en la Figura 2 que en el terreno del campesino presenta una apariencia débil, sin embargo, en el bosque tiene una apariencia intermedia y en menor proporción vigorosa. Las condiciones erráticas de la precipitación están influyendo en la erosión genética de esta especie, por lo que es preciso realizar estudios profundos para determinar con exactitud su estado de reproducción y de supervivencia.

Con respecto a la apariencia de las plantas y su relación con los niveles de pendiente, se observa en el Cuadro 9 que en la pendiente (P5) presenta el mayor número de plantas y una correlación positiva entre el nivel de pendiente y la reproducción de plantas; sin embargo, en el mismo nivel con relación a la apariencia intermedia destaca en menor proporción el número de plantas encontradas. El hábitat del timpinchile se encuentra en las partes más altas de los ejidos

Cuadro 8. Características de las fuentes de recolección de plantas con relación a la variabilidad

	Variabilidad alta	Variabilidad intermedia	Variabilidad baja
Huerto	0c	10a	2b
Terreno de campesino	5c	31a	30b
Bosque	1c	48b	54a

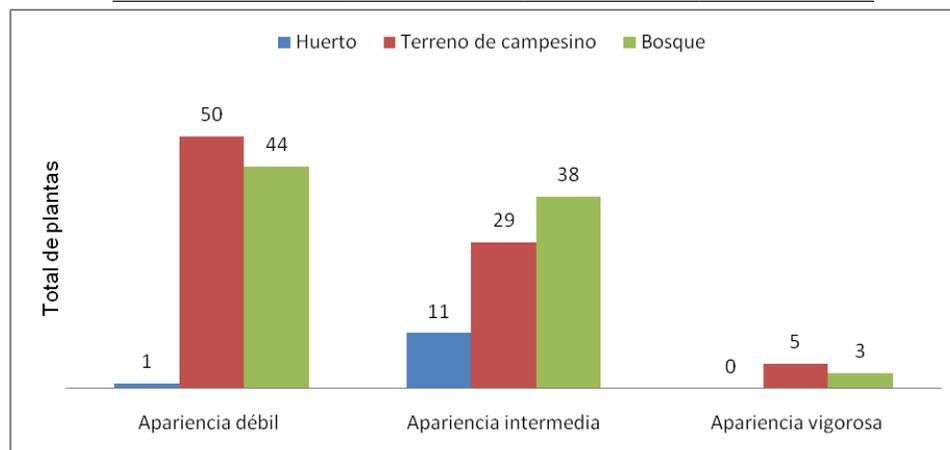


Figura 2. Apariencia de las plantas con relación a los sitios

Cuadro 9. Apariencia de las plantas con relación a los niveles de pendiente

Pendiente	Apariencia débil	Apariencia intermedia	Apariencia vigorosa
(P1) 0-0.5	0	0	0
(P2) 0.6-2.9	2b	5a	0c
(P3) 3-5.9	7b	9a	1c
(P4) 6-10.9	15 ^a	5b	1c
(P5) 11-15.9	71 ^a	59b	6c

Monterrey y Frailesca, más allá de la Sierra Madre de Chiapas.

Para el caso de las flores, en este Chile las principales características cualitativas fueron: la posición de las flores, color del filamento, color de la antera, color de la corola y la exserción del estigma. Según Franco e Hidalgo (2003), las principales características identificables en los chiles silvestres son las morfológicas, con estos caracteres se describen e identifican las especies, los cuales en su gran mayoría tienen una alta heredabilidad.

El color de la flor fue en su mayoría de color blanco, característica distintiva de los *Capsicum annuum*; esto, debido a que de las 181 muestras tomadas sólo seis plantas presentaban flores de color blanco verdoso.

La característica cualitativa de posición de la flor se manifiesta en la mayor parte de los chiles silvestres, es un carácter dominante en cada una de las especies que lo conforman. Para la especie en estudio se manifiesta de manera significativa. Con los muestreos realizados se pudo observar que la posición de la flor en las plantas de Chile es de manera erecta (91%), 9% de las plantas presentaron flores con una posición intermedia. Con respecto a lo anterior, Bran et al. (2008) observaron que 92% de las muestras caracterizadas de chiles silvestres presentaron flores de posición erecta y 8% intermedia; la posición de la flor es considerada una característica principal que identifica a esta especie (Andrews, 1995).

Para el timpinchile se observaron 3 colores diferentes con respecto al de las anteras, sobresaliendo en éstas el color azul pálido con 67% del total de las muestras y con 27 % las anteras de color morado. Bran et al. (2008) observaron que específicamente el timpinchile (*C. annuum*) se caracteriza por poseer flores con anteras de color azul pálido al observar que 59% de las muestras obtenidas presentaron ese color.

El estigma es la parte de las flores que recibe el polen durante la polinización. La exserción del

estigma se encontró que en 97% de las muestras son de manera exserta, tan sólo 1% de las flores presentaban estigma a nivel de las anteras y 2% de las flores tenían el estigma inserto. La importancia de este carácter cualitativo radica en que se considera la parte donde se lleva a cabo la polinización cruzada y la mayoría de los morfotipos encontrados mantienen este carácter representativo de los silvestres (Onus y Pickersgill, 2004).

El color del fruto intermedio de la planta de timpinchile (Figura 3) se presentó en 43% de color anaranjado, 38% de color morado y 19% de color amarillo, de acuerdo con el muestreo realizado. Bran et al. (2008) afirmaron que el color intermedio, para la mayoría de los chiles silvestres, es anaranjado; sin embargo, la presencia de colores morados indica que algunos frutos mantienen cierto grado de antocianina, frecuentemente encontrados en los morfotipos de timpinchile que además presentaron color anaranjado. Los otros morfotipos manifestaron cinco colores: verde, amarillo, anaranjado, rojo claro y rojo; pero los chiles silvestres en estudio, además de los cinco colores se le agrega el color morado.

El color verde o intermedio es debido a la alta concentración de clorofila, que al madurar se torna de color rojo causado por una alta cantidad de pigmentos rojos (Licopersinas). El color de los frutos a tenerse en cuenta será aquel que cubra la mayor parte de éste, ya que muchas veces el color no es homogéneo y presenta zonas más oscuras o más claras que otras.

En cuanto al color del fruto maduro se observaron tres colores característicos: el rojo, rojo claro y rojo oscuro, dominando en 71% el color rojo y en 27% se puede observar un color rojo claro.

En el ejido Monterrey se pueden encontrar frutos de timpinchile de tres formas diferentes, que son: casi redondo, ovoide y alargado. Para esta región las muestras obtenidas indicaron que 65% de las plantas muestreadas presentaron

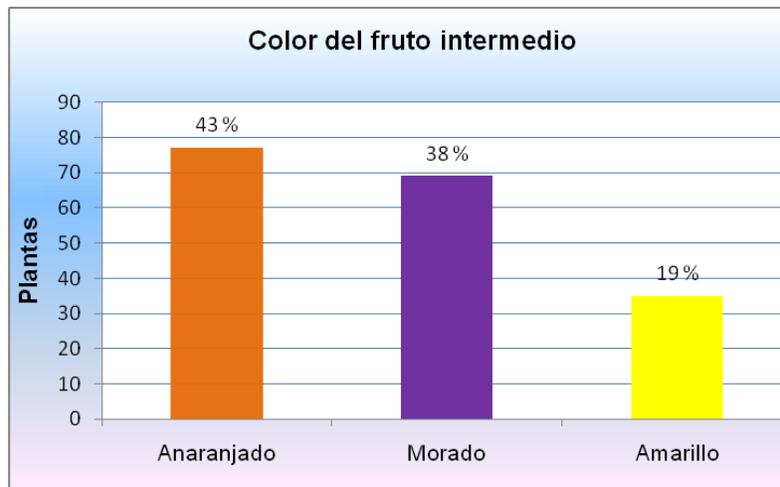


Figura 3. Color del fruto intermedio.

frutos casi redondos, 24% de las plantas frutos de forma ovoide y sólo 11% frutos de forma alargada. De acuerdo con estas características, muchos campesinos le atribuyen el nombre como la forma que representa el fruto y lo relacionan con la forma redonda o bolita. Realmente, la forma verdadera de este fruto es ovoide, se relaciona con la forma de un huevo. Las formas características de estos chiles también son bastante conocidas por Long (1998), quien manifestó que el timpinchile o bolita es conocido como el chile de Chiapas.

Se puede observar en el electroforegrama, que la extracción de ADN con el método de Asemta (1995) aseguró la obtención de un ADN de buena calidad y cantidad, tal como se observa en la Figura 4. Al respecto, Solís (2008) obtuvo también buenos resultados al realizar la extracción de ADN probando tres métodos diferentes, resultando más eficiente el protocolo de CTAB.

En la Figura 5 se puede observar la amplificación de todas las muestras de ADN del timpinchile utilizando el cebador ISSR UBC 862, obteniendo

15 muestras y ocho bandas polimórficas. Este sistema de amplificación fue utilizado por Solís (2008) aportando patrones electroforéticos analizables en 16 de 22 muestras, obteniendo 12 bandas polimórficas, en las que el rango de tamaños moleculares explorados varió entre 220 y 2 000 pares de bases.

Se realizó la matriz básica de datos con base en los electroforegramas obtenido de la amplificación de las muestras de ADN. En la matriz de ceros y unos se distingue la menor ausencia de la banda de 220 pb y la mayor presencia de la banda de 450 pb, aproximadamente.

Matriz de similitud

Los resultados obtenidos de la matriz de similitud (Cuadro 10) señalan la correlación que existe en las diferentes muestras obtenidas, al compararlas se distingue un alto grado de similitud en la muestras colectadas en el ejido Monterrey (ABCDE) y el ejido Fraileasca (FGH), con promedios de 0.750 a 1.0000; al compararlos con las muestras colecta-

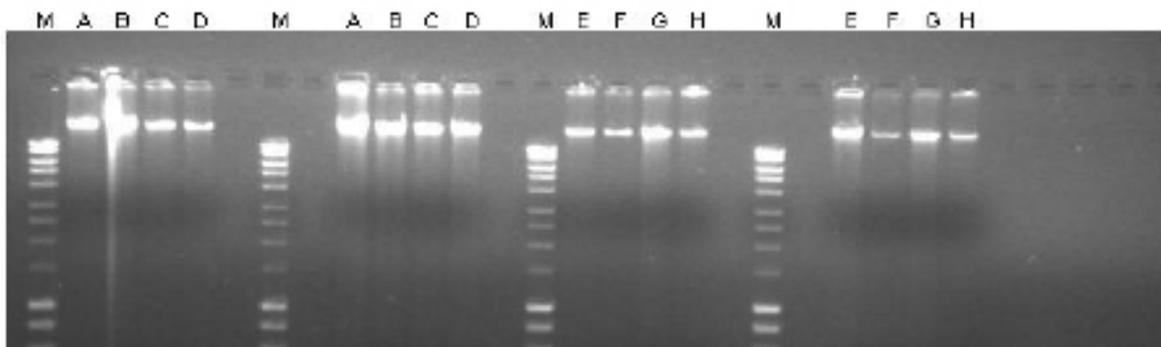
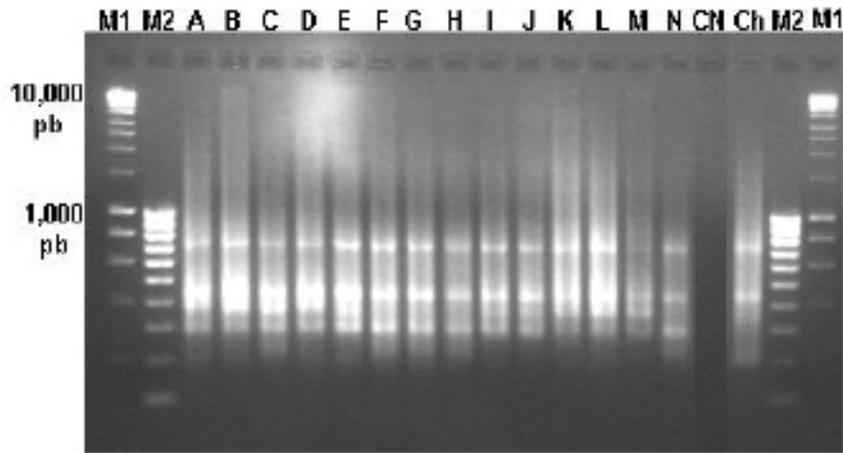


Figura 4. Electroforegrama en gel de agarosa 1.2%. Muestras de ADN genómico de timpinchile (003-235), M= Marcador de peso molecular (HyperLadder™ I).



**M1 y M2= Marcador de peso molecular.
A-N= Productos de amplificación de muestras de Timpinchile.
Ch= Chile largo.**

Figura 5. Electroforegrama en gel de agarosa 2%. Productos de amplificación de muestras de timpinchile (A-N), M1= marcador de peso molecular (HyperLadder™ I), M2= marcador de peso molecular (HyperLadder™ IV), CN= control negativo.

Cuadro 10. Matriz de similitud

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	Ch
A	1.0000														
B	1.0000	1.0000													
C	0.889	0.889	1.0000												
D	1.0000	1.0000	0.889	1.0000											
E	1.0000	1.0000	0.889	1.0000	1.0000										
F	0.750	0.750	0.889	0.750	0.750	1.0000									
G	0.750	0.750	0.889	0.750	0.750	1.0000	1.0000								
H	0.750	0.750	0.889	0.750	0.750	1.0000	1.0000	1.0000							
I	1.0000	1.0000	0.889	1.0000	1.0000	0.750	0.750	0.750	1.0000						
J	1.0000	1.0000	0.889	1.0000	1.0000	0.750	0.750	0.750	1.0000	1.0000					
K	1.0000	1.0000	0.889	1.0000	1.0000	0.750	0.750	0.750	1.0000	1.0000	1.0000				
L	1.0000	1.0000	0.889	1.0000	1.0000	0.750	0.750	0.750	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000			
M	0.857	0.857	0.750	0.857	0.860	0.571	0.571	0.571	0.857	0.857	0.857	0.857	1.0000		
N	0.750	0.750	0.889	0.750	0.750	1.0000	1.0000	1.0000	0.750	0.750	0.750	0.750	0.571	1.0000	
Ch	0.571	0.571	0.500	0.571	0.570	0.571	0.571	0.571	0.571	0.571	0.571	0.571	0.333	0.571	1.0000

das del mismo ejido pero de diferentes poblaciones, sobresalen IJKLMN con promedios de 0.571 a 1.0000 y la menor similitud es la muestra Ch, que es una muestra de chiles colectados en la región. En su mayoría presentan promedios de 0.571. La mayoría de las muestras analizadas permitieron indicar variabilidad entre poblaciones.

Matriz de agrupamientos

De acuerdo con los resultados obtenidos del dendrograma a través del análisis de agrupamientos con el método UPGMA (Figura 6), la matriz de similitud representó un solo grupo principal que se asocia a un nivel de similitud de 0.55. El valor

del coeficiente de correlación cofenética (r) fue de 0.89.

Se agruparon nueve muestras que provienen de los alrededores del ejido Monterrey, encontrados en: AB (Arroyo 1 y 2), D (Caseta 1), E (Monterrey Ranchería); IJ (Monterrey Traguería 1); KL (Monterrey Arroyo 3 y 4); C (Monterrey Caseta 2); M (Monterrey Arroyo 5), FGH (ejido La Frailesca) N (Monterrey Traguería 2) y Ch (Chile colectado en la región) como muestra testigo. Los resultados confirman la similitud que existe entre las muestras de timpinchile colectadas en el ejido Monterrey, ejido La Frailesca y parte de la Sierra Madre de Chiapas; aunque formaron diferentes subgrupos indican que pertenecen al género *Capsicum*, incluyendo

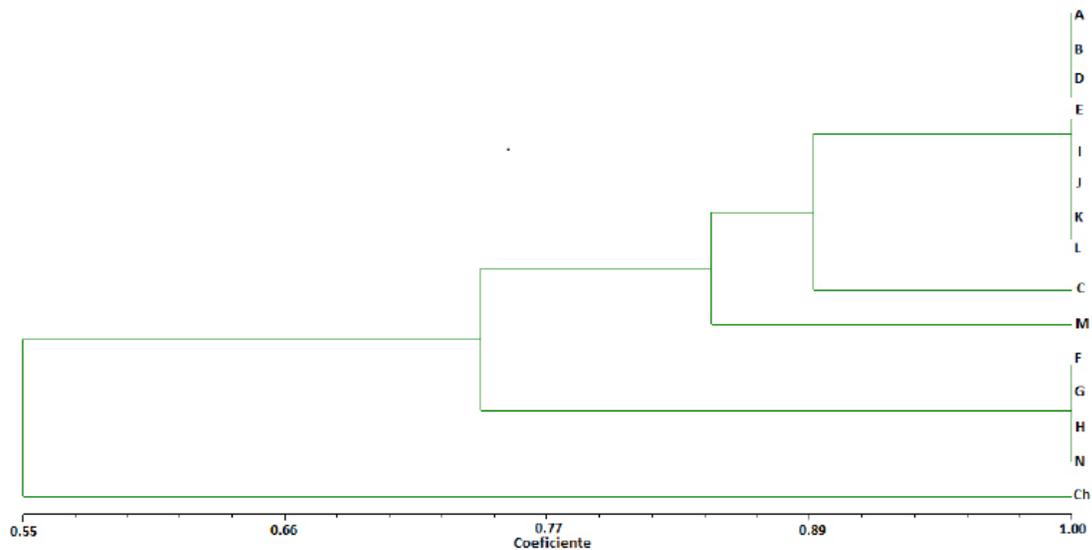


Figura 6. Dendrograma de similitud de las 15 muestras de ADN de poblaciones silvestres de timpinchile analizadas en el ejido Monterrey y zonas aledañas de la Sierra Madre de Chiapas. AB (Arroyo 1 y 2), D (Caseta 1), E (Monterrey Ranchería); IJ (Monterrey Traguera 1); KL (Monterrey Arroyo 3 y 4); C (Monterrey Caseta 2); M (Monterrey Arroyo 5), FGH (Ejido La Frailesca); N (Monterrey Traguera 2) y Ch (Chile colectado en la región).

la muestra Ch. Esta última muestra perteneciente a un tipo de chile largo colectado entre los municipios de Villaflores y Villa Corzo, tiene características diferentes en comparación con el timpinchile: fruto de tamaño largo, presenta corrugosidad, el cáliz presenta constricción entre el fruto, es semierecto y sus colores intermedios son variados, desde amarillo, anaranjado, naranja intenso hasta rojo; por estas características se asemeja a la especie *Capsicum chinense* y *Capsicum frutescens*; por lo tanto, en el dendrograma indicado se aleja de las demás muestras, es probable que por la polinización cruzada estas especies hayan evolucionado a partir de las variedades originales convertidas en especies semicultivadas por la posición de la flor y/o fruto de forma semierecta. Se evidencia con este estudio que la similitud de las muestras de timpinchile de la región en su mayoría son similares, con excepción de algunos caracteres cuantitativos que denotan cierta variabilidad entre las muestras, destacando la longitud del fruto, longitud del filamento, peso de semillas, número de semillas por fruto y peso de fruto.

CONCLUSIONES

1. Los caracteres: longitud de antera, peso de mil semillas y longitud de pedicelo manifestaron una marcada influencia en la discriminación del timpinchile.
2. La mayor diversidad se encontró en la zona II, con mayor número de plantas y áreas montaño-

sas, existiendo en ellas condiciones adecuadas para la conservación de la variabilidad *in situ*.

3. Existió variación en las poblaciones de plantas estudiadas.
4. Las 10 poblaciones silvestres estudiadas manifestaron segmentos polimórficos amplificados por medio de ISSR-PCR, indicadores de la existencia de diversidad genética.
5. Los mayores coeficientes de similitud representados provienen de poblaciones de plantas del ejido Monterrey y en menor proporción de la comunidad La Frailesca.

REFERENCIAS

- Andrews, J. Peppers. 1995. The domesticated *Capsicum*. New edition. Austin: University of Texas Press. 186 p.
- Asemota, H.N. 1995. A fast, simple and efficient miniscale method for the preparation of DNA from tissues of yam (*Dioscorea sp.*). Plant Mol. Biol. Rep. 13: 214-218.
- AVRDC-IBPGR-CATIE. 1995. Descriptores para *Capsicum* (*Capsicum spp.*). Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos. IBPGR, AVRDC y CATIE. Roma, Italia. 50 p.
- Bran, R.A.A., C. Moya, A. Cabrera, Pilar P., R. Quiroga, M.A. Rosales y J.L. Zuart. 2008. Evaluación *in situ* de la variabilidad genética de los chiles silvestres (*Capsicum spp.*) en la región Frailesca del estado de Chiapas, México. Vol. 29, nº. 2. Revista Cultivos Tropicales. Cuba.
- Bran, R.A.A. 2009. Caracterización *in situ* de los recursos genéticos de los chiles silvestres (*Capsicum spp.*) y de las condiciones para su conservación en la Región Frailesca del estado de Chiapas, México. Tesis de grado de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad Agraria de La Habana-Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba. 240 p.
- Dice, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. Ecology 26:297-302.

- Dewitt, D. y Bosland, P.W. 1996. Peppers of the world. An identification guide. Editorial Ten speed Press. 219 p.
- FAO. 1990. Guidelines for Soil Profile Description, 3rd edition (revised). Food and Agriculture Organization of the United Nations, International Soil Reference Information Centre, Land and Water Development Division. Rome: FAO.
- FAO. 1983. Estudio de los chiles *Capsicum*. FAO. Roma, Italia.
- Franco, T.L. e Hidalgo, R. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Boletín Técnico nº 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). Cali, Colombia. 89 p.
- Hernández, V.S.; Guevara, G.R.; Rivera, G.B.; Vázquez, F.Y.; Oyama, C.K. 1999. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum spp.*) como recursos genéticos. Boletín de la Sociedad Botánica de México, vol. 62, nº 12, pp. 171-181.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2000. Integración territorial del XII Censo General de Población y Vivienda 2000. Estado 07 Chiapas. México. p. 346.
- IPGRI. 2001. Manual técnico para la planificación de una colecta de germoplasma. Roma, 56 pp.
- López, C.B. y M.E. Arroyo D. 2006. Germinación de timpinchile (*Capsicum annuum* L. var. *aviculare*) de la Depresión Central de Chiapas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agronómicas, UNACH. Villaflores, Chiapas; México. p. 20.
- Mantel, N.A. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 27:209-220.
- Méndez, F.J.E. 1999. Especies con frutos comestibles. En: *Fruticultura Tropical*. Lisboa, pp. 310-321.
- Moreno, E.C. Métodos para medir la biodiversidad. My T-Manuales y Tesis SEA, vol. 1. Zaragoza, España. 2001. 84 pp.
- Nei, M. y W.H., Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76:5269-5273.
- Nuez V., F.; Gil, O.R.; Costa, G.R. 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, pp. 94-97.
- Onus, N.A y Pickersgill, B. Unilateral Incompatibility in *Capsicum* (Solanaceae): Occurrence and Taxonomic Distribution. *Annals of Botany.* 2004, vol. 94, nº 2, pp. 289-295.
- Ramírez, M.M.; Pozo, C.O.; Rodríguez, B.L.A; Medina, M.T.; Villalón, M.H. 2002. Production Technology for piquin pepper (*Capsicum annuum* var. *aviculare*). In: *Proceedings of the 16th International Pepper Conference* (16: 2002 noviembre. 10-12: Tampico), p. 23.
- Rohlf, F.J. 1990. NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Versión 1.60. Exeter software. New York. 162 pp.
- Rohlf, F.J. y R.R. Sokal. 1981. Comparing numerical taxonomic studies. *Syst. Zool.* 30:459-490.
- Sneath, P.H.A. y R.R. Sokal. 1973. The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman. San Francisco. 573 pp.
- Solís L., M. 2008. Diversidad genética de tres poblaciones de timpinchile (*Capsicum annuum* L. var. *grabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill) de la Depresión Central de Chiapas. Tesis de Licenciatura Ingeniero Agrónomo en Producción Vegetal. Facultad de Ciencias Agronómicas, UNACH. Villaflores, Chiapas. México. 56 pp.