

Análisis de diversidad y agrupación genética de poblaciones silvestres de *Capsicum* spp. con marcadores microsatélites

Analysis of diversity and genetic grouping of wild *Capsicum* spp. populations with microsatellite markers

Yasmín Araceli Gálvez-Muñoz¹ , Keissy Maleni Palacios-Hernández² , Régulo Ruíz-Salazar² , José Abisenas Álvarez-Rivera³ , Guillermo Castañón-Nájera^{3*} 

¹Universidad Popular de la Chontalpa. Carretera Cárdenas-Huimanguillo Km. 2.5 R/A Paso y Playa, CP. 86556. Cárdenas, Tabasco, México.

²Unidad Académica Multidisciplinaria Reynosa Aztlán Universidad Autónoma de Tamaulipas, Calle 16 y Lago de Chapala S/N, Col. Aztlán, CP. 88740. Reynosa, Tamaulipas, México.

³División Académica de Ciencias Biológicas-Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas, km. 0.5 S/N, Entronque Bosques de Saloya, CP. 86150. Villahermosa, Tabasco, México.

*Autor de correspondencia: guillermo_corazon_valiente@hotmail.com

Artículo científico

Recibido: 14 de diciembre 2024

Aceptado: 12 de abril 2025

RESUMEN. El objetivo de la investigación fue analizar la variabilidad y agrupación genética de 26 poblaciones silvestres de Chile (*Capsicum* spp.) con cuatro marcadores microsatélites (SSRs). Las secuencias simples repetidas (SSRs) identificaron 278 alelos, 92 fueron polimórficos. El número mayor de alelos (97) fueron identificados por *HpmsCa19*, y el número más bajo lo arrojó el *Hpms1-274* (53). El Análisis Molecular de Varianza (AMOVA), detectó que 11.16% de la variabilidad se debió a regiones, mientras que el 27.12% se encontró entre poblaciones, en cuanto a individuos dentro de las poblaciones se explicó con el 70.51%. El estadístico $\Phi_{IT} = 0.103$ indica que existen diferencias entre regiones, mientras que $\Phi_{PR} = 0.278$ indica un exceso de heterocigotos en las poblaciones, en tanto $\Phi_{PT} = 0.352$, expresa que los individuos de cada población mostraron efecto moderado de apareamiento no aleatorio. El análisis de conglomerados (clúster) unió a las poblaciones evaluadas en cinco conglomerados. En los clústers IV y V se agrupó el mayor número de poblaciones, siete en el clúster IV y nueve en el clúster V. La población Ojo de Cangrejo Sierra (OCS) formó un clúster individual. La estimación de la estructura de las poblaciones evaluadas se determinó a partir de un valor de $K = 4$ y $\Delta K = 11.76$. Con base a los resultados obtenidos, se puede concluir que los marcadores de secuencias simples repetidas (SSRs) son efectivos para identificar la diversidad genética, esta puede usarse como fuente de genes para ser incluidos en nuevas variedades para ayudar en la mejora de la producción agrícola y conservación de este importante germoplasma.

Palabras clave: Análisis molecular, *Capsicum* spp., diversidad genética, estructura de las poblaciones, secuencias simples repetidas.

ABSTRACT. This research was carried out emphasizing the analysis of the structural genetic diversity of 26 wilds populations of chili (*Capsicum* spp.), four microsatellite markers were used (SSRs). The SSR markers used, identifying 278 alleles, 92 of them were polymorphic. The highest number of alleles (97) was identified by the primer *HpmsCa19*, and the lowest number (53) was identified with *Hpms-274*. The Analysis of Molecular Variance (AMOVA) detected that 11.16% of the variability was due to regions, 27.12% between populations, and individuals within populations the remaining 70.51%. The statistic $\Phi_{IT} = 0.103$ indicated that there are differences between regions, $\Phi_{PR} = 0.278$ can be interpreted as an excess of heterozygous in the populations, while $\Phi_{PT} = 0.352$, expressed that the individuals in each population showed a moderate effect of non-random mating. The conglomerate or cluster analysis united the evaluation between the populations into five groups. In the group of clusters, IV and V, the largest union occurred. Seven in conglomerate or group IV and nine in cluster or group V. Population of Ojo de Cangrejo Sierra (OCS) formed an individual group or cluster. The estimation of the structure of the evaluated populations was determined with a value of $K = 4$ and $\Delta K = 11.76$. Based on the results obtained in the present study, it can be concluded that the simple sequence repeats (SSRs) markers were effective in identifying genetic diversity found and can be used as source of genes to be included in new varieties to help improve agricultural production and conserve important germoplasm.

Keywords: Molecular analysis, *Capsicum* spp, genetic diversity, population structure, simple repeat sequences.

Como citar: Gálvez-Muñoz YA, Palacios-Hernández KM, Ruíz-Salazar R, Álvarez-Rivera JA, Castañón-Nájera G (2025) Análisis de la diversidad y agrupación genética de poblaciones silvestres de *Capsicum* spp. con marcadores microsatélites. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 12(2): e4469. DOI: 10.19136/era.a12n2.4469.

INTRODUCCIÓN

Capsicum spp (chile) tiene diversos usos, se emplea como hortaliza, condimento, y colorante alimenticio (Aliaga y Vega 2018, Konishi *et al.* 2019), medicinal, valor nutrimental, e industrial (Haralayya y Asha 2017), además de su contenido en proteínas, vitaminas, fibra y elementos minerales (Bosland y Votava 2000, Adeyemo *et al.* 2023), también se recurre a él en ceremonias y rituales (Wijaya *et al.* 2020), es fuente de carotenoides (provitamina A), flavonoides, vitaminas E y C (Solomon *et al.* 2019). Actualmente, no hay acuerdo del número de especies que forman al género de la familia de las Solanáceas a nivel internacional. Por ejemplo, Basu y De (2003), consideran que las especies que pertenecen al chile son 20, por otro lado, Ahmad y Anjum (2022) reportan 25, en cambio, Aliaga y Vega (2018), y Harishkumar *et al.* (2020), mencionan 30, mientras que Carvalho *et al.* (2015) indican 35, pero Barboza *et al.* (2020a) sugieren que son aproximadamente 41, mientras que Barboza *et al.* (2020b) indican 42, en tanto que Terefe *et al.* (2022) refieren que las especies que conforman el género *Capsicum* son 38. Pero, en lo que si hay coincidencia es en que *Capsicum annuum* L., *C. pubescens* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., y *C. baccatum* L., son las especies que se cultivan en todo el mundo (Bosland y Votava 2000, Mimura *et al.* 2012), y *C. assamicum* es una especie que ha sido identificada y se cultiva en la India (Chhapekar *et al.* 2016).

En los últimos años la diversidad genética de cultivos de importancia como el chile se ha estimado con marcadores moleculares, entre ellos, el de secuencias simples repetidas (SSRs) o microsatélites, los cuales son de los más empleados (Xiao-min *et al.* 2016, Meng *et al.* 2017). Ello se debe a que los SSRs son mucho más eficientes que otros marcadores moleculares como, por ejemplo: los de Polimorfismo en longitud de los fragmentos amplificados (AFLP), el de Amplificación aleatoria del ADN polimórfico (RAPDs), el Polimorfismo en longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), las Inter-Simples Secuencias Repetidas (ISSR), o los de Polimorfismo de base única (SNP) (Islam *et al.* 2016, Taranto *et al.* 2016, Igwe *et al.* 2019).

En el sureste de la república Mexicana, el chile (*Capsicum* spp.) tiene gran importancia tanto cultural como económica. Por ello, el objetivo de esta investigación fue analizar la diversidad y estructura genética, mediante marcadores de secuencias simples repetidas (SSRs) para determinar la posible similitud y grado de parentesco entre las poblaciones de chiles silvestres de *C. annuum* L. y *C. frutescens* L. colectadas en diferentes localidades de seis regiones de Tabasco y norte de Chiapas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de material vegetal

Las 26 colecciones o poblaciones silvestres de *Capsicum* spp., empleadas en el presente estudio, fueron recolectadas de distintas localidades pertenecientes a seis regiones de dos estados (Tabasco y norte de Chiapas) del Sursureste de la república Mexicana (Tabla 1). Para la germinación de las colectas, correspondientes a las distintas poblaciones de *Capsicum* spp. se emplearon charolas de plástico de 200 cavidades, mismas que con antelación fueron desinfectadas usando cloro 5%, como sustrato para germinación se empleó Peat-moss de la marca Cosmopeat, en el cual se sembró una sola semilla por cavidad. Una vez que la siembra de las poblaciones a evaluar finalizó, las charolas

se colocaron en invernadero con malla antiáfidos que está ubicado en la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Según Ruíz-Álvarez *et al.* (2012), la DACBiol se localiza en los 17° 59' 16.30" LN y 92° 58' 11.65" LO y 9 msnm (metros sobre el nivel del mar), el clima del sitio experimental es cálido y húmedo, con lluvias intensas durante el verano y la temperatura media anual se sitúa alrededor de los 27 °C.

Tabla 1. Origen de las 26 poblaciones silvestres de *Capsicum* spp., evaluadas con marcadores secuencia simples repetidas (SSR).

Región	Nombre	Acrónimo	Sitio de colecta
Norte	Garbanzo-Pico de Paloma	GaPPN	Macayo, Chiapas
	Pico de Paloma Blanco	PPBN	Macayo, Chiapas
	Amashito Grande	AmGN	Macayo, Chiapas
Sierra	Ojo de Sapo	OSS	Tapijulapa, Tabasco
	Amashito	AmS	Tapijulapa, Tabasco
	Pico de Paloma	PPS	Tapijulapa, Tabasco
	Ojo de Cangrejo	OCS	Teapa, Tabasco
Chontalpa	Garbanzo	GaCH	Cucuyulapa, Tabasco
	Amashito Blanco	AmBCH	Miahuatlán, Tabasco
	Pico de Paloma	PPCH	Miahuatlán, Tabasco
	Habanero-Pico de Paloma	HaPPCH	Miahuatlán, Tabasco
Centro	Amashito	AmC	DACBiol, Tabasco
	Amashito Parecido	AmPC	González 1ª Secc., Tabasco
	Corazón de Gallina	CGC	Buenavista 3ª. Secc, Tabasco
Ríos	Tabaquero-Pico de Paloma	TaPPR	Acatipa, Tabasco
	Amashito	AmR	Acatipa, Tabasco
	Bolita de Gato	BoGR	Acatipa, Tabasco
	Pico de Paloma Blanco	PPBR	Acatipa, Tabasco
	Amashito Cruza	AmCR	Acatipa, Tabasco
	Pico de Paloma Cruza	PPCR	Acatipa, Tabasco
	Garbanzo	GaR	Acatipa, Tabasco
Pantanos	Pico de Paloma Blanco	PPBP	Corralillo, Tabasco
	Garbanzo	GaP	Bonanza 2ª. Sección, Tabasco
	Garbanzo Blanco	GaBP	Ra. El Porvenir, Tabasco
	Amashito	AmP	Ra. El Porvenir, Tabasco
	Pico de Paloma Delgado	PPDP	Ra. El Porvenir, Tabasco

Extracción de ADN de las poblaciones evaluadas

A los 40 días después de haber realizado la siembra de las poblaciones, se seleccionaron 10 plantas de cada población, y se cortaron dos hojas jóvenes de cada una de las plantas seleccionadas. El total de hojas (20) de cada población se mezclaron y de la mezcla se tomó tres repeticiones (muestras) de follaje fresco de 0.5 g cada una. La trituración de las muestras se realizó en mortero de porcelana con pistilo y nitrógeno líquido. El ADN de las muestras de cada población se extrajo mediante el uso del KIT comercial Wizard Genomic DNA Purification® (Promega), y con el procedimiento de Dellaporta *et al.* (1983).

Marcadores moleculares evaluados

Los cuatro marcadores de secuencias simples repetidas (SSRs) empleados en el estudio se presentan en la Tabla 2. La amplificación del ADN de las poblaciones evaluadas se realizó mediante una PCR múltiple en mezcla de reacción ajustada a un volumen final de 25 μ L, que contenía H₂O libre de Nucleasas (16.3 μ L), primer's sentido (0.5 μ L a 10 μ M), primer's reverso (0.5 μ L a 10 μ M), dNTPs (0.5 μ L a 10 mM), 5X Green buffer (5 μ L), Taq polimerasa (0.125 unidades/ μ L) y 2 μ L de ADN a 30 ng/ μ L. La amplificación del ADN mediante PCR se llevó a cabo utilizando un ciclo de desnaturalización inicial de 4 minutos a 94 °C, seguido de 35 ciclos consistieron en 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 65 °C, 2 minutos a 72 °C. Finalmente, se realizó una extensión de 12 minutos a 72 °C. Para evaluar la cantidad y calidad del ADN obtenido, se utilizó geles de agarosa al 1.2%, empleando una solución amortiguadora de ácido bórico de sodio 1X (solución SB) como medio conductor para la electroforesis de ADN, de acuerdo con los métodos descritos por Brody y Kern (2004).

Tabla 2. Lista y descripción de los cuatro locus usados para caracterizar molecularmente las poblaciones de *Capsicum* spp., de Tabasco y norte de Chiapas, México.

Locus	Unidad repetitiva	Iniciador	Tamaño (Pb)	Tm (°C)
<i>HpmsCaSIG19</i>	(CT)6 (AT)8 (GTAT)5	D-HEXcatgaatttcgtcttgaaggtccc R-aagggtgtatcgtacgcagcctta	216-223	54
<i>Hpms1-106</i>	(AAAAAT)4	D-HEXtccaaactacaagcctgctaacc R-ttttgcaattattgagctccacagc	158-164	53
<i>Hpms1-143</i>	(AG)12	D-6FAMaatgctgagctggcaaggaaag R-tgaaggcagtagtggtgggagtg	220-232	53
<i>Hpms1-274</i>	(GTT)7	D-HEX-tcccagaccctcgtgatag R-tcctgctcctccacaactg	162-180	56

PCR, electroforesis e identificación de bandas

Corroborada la correspondencia en cuanto al tamaño esperado del amplicón en cada uno de los productos de PCR, se colocaron en geles de agarosa al 1.2% donde se les aplicó 160 voltios (V) con intensidad de 50 miliamperes (mA) durante 100 minutos. El teñido de los geles fue Bromuro de etidio (Sambrook *et al.*, 1989). Posterior a ello, en un transiluminador de luz ultravioleta (UV), los geles se visualizaron. El peso molecular de los fragmentos de ADN obtenidos se visualizó con la ayuda de un marcador de 100-1 000 pares de bases ADN Ladder (PROMEGA). La cuantificación de las bandas obtenidas se realizó de forma visual, mediante una escala binaria de presencia (1) y ausencia (0), y se generó una matriz de 1 y 0 para cada uno de los marcadores usados.

Análisis estadístico de los datos

Las distancias genéticas entre las poblaciones evaluadas se calcularon de acuerdo con la matriz binaria 1/0, donde 1 corresponde a presencia y 0 a ausencia de un alelo en un locus. Para realizar el (AMOVA) análisis de varianza molecular, se usó GenAlEx V6.5 (Peakall y Smouse 2012). La variabilidad genética entre regiones, entre poblaciones y dentro de poblaciones se estimó con el AMOVA (Balzarini *et al.*, 2010). Los índices o estadísticos de fijación Φ_{iRT} , Φ_{iPR} y Φ_{iPT} (similar a F_{ST}), se calcularon según lo muestra Wright (1965), con estos análisis se determinó la estructura genética de las poblaciones objeto del presente estudio. La estimación de la relación filogenética

entre las poblaciones se llevó a cabo con SAS OnDemand for Academics (SAS 2024). El clúster o dendrograma de las poblaciones estudiadas se realizó mediante el método UPGMA (método de ligamiento completo por agrupamiento de promedios aritméticos no ponderados por sus siglas en inglés) con distancia Euclidiana.

Con la ayuda del software Structure 2.3.4 (Pritchard *et al.* 2012), se generó un análisis de inferencia bayesiana, donde se asumieron 26 poblaciones con parámetros de 450 000 periodos de rodaje 'burn in periods', y 400 000 repeticiones de Cadenas de Markov-Monte Carlo (MCMC), lo anterior con base en lo propuesto por Sung-Chur (2013), para obtener el valor de deltaK (ΔK) óptimo que represente el número de poblaciones diferenciadas de *Capsicum* spp., después de los periodos de rodaje 'burn in periods', con un modelo de coancestría mezclado y frecuencia de alelos correlacionados, el número de poblaciones óptimo se estimó con el software en línea Structure Harvester (Earl y vonHoldt 2012).

RESULTADOS

Los marcadores microsatélites usados en la presente investigación identificaron 278 alelos, 92 (33.1%) de ellos fueron polimórficos. El oligonucleótido *HpmsCa19* amplificó 97 alelos (mayor número), mientras que el marcador *Hpms1-274* amplificó 53 alelos (menor número). El promedio de bandas por primer o marcador fue de 69.5.

El AMOVA (análisis molecular de varianza) de las colectas o poblaciones silvestres de *Capsicum* spp. (*annuum* L., y *frutescens* L.), coleccionadas en seis regiones en Tabasco y norte de Chiapas, detectó (Tabla 3), una mayor variación dentro de poblaciones (70.51%) que entre poblaciones (27.12%), y regiones (11.16%). El mayor porcentaje de variaciones dentro de poblaciones pone de manifiesto que el chile no es totalmente una planta autógena como se le ha clasificado.

Tabla 3. Análisis molecular de varianza de las poblaciones de *C. annuum* y *C. frutescens* colectadas en los estados de Tabasco y norte de Chiapas, México, y evaluadas con cuatro marcadores de secuencias simples repetidas (SSR).

FV	Gl	SC	CM	VarEst.	%VarEst.
Regiones	5	17.636	3.527	0.112	11.16
Poblaciones/Regiones	20	30.377	1.519	0.271	27.12
Dentro/Poblaciones/Regiones	52	36.667	0.705	0.705	70.51
Total	77	84.679			100
Índices de Fijación	Valor				
Phi _{RT}	0.103*				
Phi _{PR}	0.278*				
Phi _{PT}	0.352*				

FV = Fuente de variación, Gl = Grados de libertad, SC = Suma de cuadrados, CM = Cuadrados medios, VarEst = Varianza estimada, %VarEst = Porcentaje de varianza estimada, Phi_{RT} = Deficiencia o exceso de heterocigotes, Phi_{PR} = Deficiencia o exceso de heterocigotes promedio en un grupo de poblaciones, Phi_{PT} = Índice de fijación.

La Figura 1 muestra los resultados del análisis de conglomerados (clúster), y a una distancia Euclidiana de 11 (once), las poblaciones evaluadas formaron cinco conglomerados o clústers. El conglomerado o clúster I (CI) se formó por seis poblaciones, cuatro de ellas (PPBR; AmCR, AmR, BoGR) de la región de los Ríos, y dos (OSS y PPS) de la Sierra. La población OCS (Ojo de Cangrejo Sierra), formo el clúster II. La separación de esta población con las demás poblaciones se debe a que morfológicamente es diferente, principalmente en el fruto que es pequeño y con punta definida, y una mancha morada, que le da la apariencia de ojito de cangrejo. Esta coloración la presenta el fruto sin influir el ambiente en que se desarrolle la planta (sombra o sol). Actualmente, es muy poco frecuente encontrarlo actualmente en el área estudiada. El CIII fue formado por las poblaciones: AmS-Amashito Sierra, GaCH-Garbanzo Chontalpa, y TaPPR-Tabaquero Pico de Paloma Ríos.

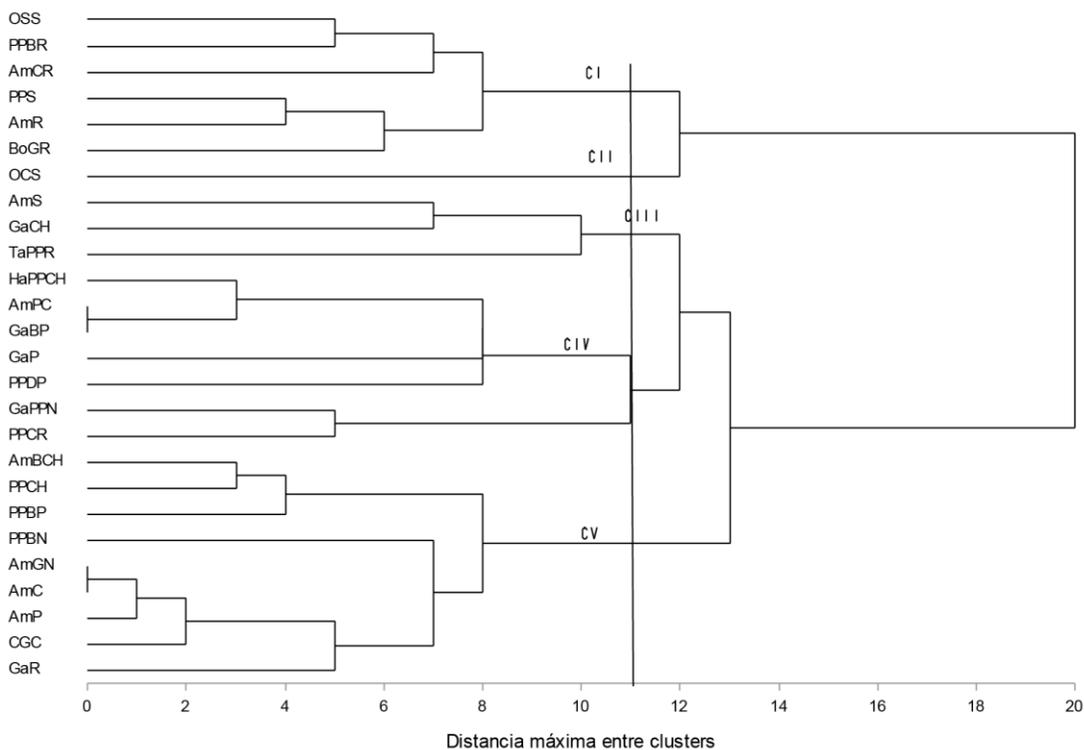


Figura 1. Dendrograma de 26 poblaciones de *Capsicum* spp. realizado con la distancia Euclidiana y el método de ligamiento completo por agrupamiento de promedios aritméticos no ponderados UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean), obtenidos a partir de los datos generados por PCR y visualizados en gel de agarosa al 1.2%.

Los clústers IV y V, fueron los que agruparon al mayor número de poblaciones, el CIV se formó por siete poblaciones, tres del tipo Garbanzo (GaBP,-Garbanzo Blanco Pantanos, GaP-Garbanzo Pantanos, GaPPN-Garbanzo Pico de Paloma Norte) y las otras cuatro fueron PPCR-Pico de Paloma Cruza Ríos, AmPC-Amashito Parecido Centro, HaPPCh-Habanero Pico de Paloma Chontalpa, y PPDP-Pico de Paloma Delgado Pantanos. Y el CV (clúster V) por nueve poblaciones (AmBCH-Amashito Blanco Chontalpa, PPCH-Pico de Paloma Chontalpa, PPBP-Pico de Paloma Blanco

Pantanos, PPBN-Pico de Paloma Blanco Norte, AmGN-Amashito Grande Norte, AmC-Amashito Centro, AmP-Amashito Pantanos, CGC-Corazón de Gallina Centro, GaR-Garbanzo Ríos).

El análisis bayesiano mostró que el valor de ΔK (11.76) más alto (Figura 2a) se obtuvo al formarse cuatro grupos (ΔK) (Figura 2b). El grupo I reunió seis poblaciones (PPCH, PPCR; GaPPN, PPBR, BoGR y AmPC), Ninguna de ellas se encuentra en alguno de los clústers del dendrograma obtenido a partir de los datos producto de la amplificación por PCR (Figura 1). Mientras que las poblaciones que formaron los grupos II, III y IV, si se agruparon en alguno de los conjuntos del Análisis Bayesiano. Así se tiene, por ejemplo, que las poblaciones PPBP, GaR, AmBCH, y AmGN, del grupo II del análisis bayesiano, también estuvieron agrupadas en el clúster (CV), el resto de los grupos también coincidió en el agrupamiento de algunas de las poblaciones que en el dendrograma formaron alguno de los clústers.

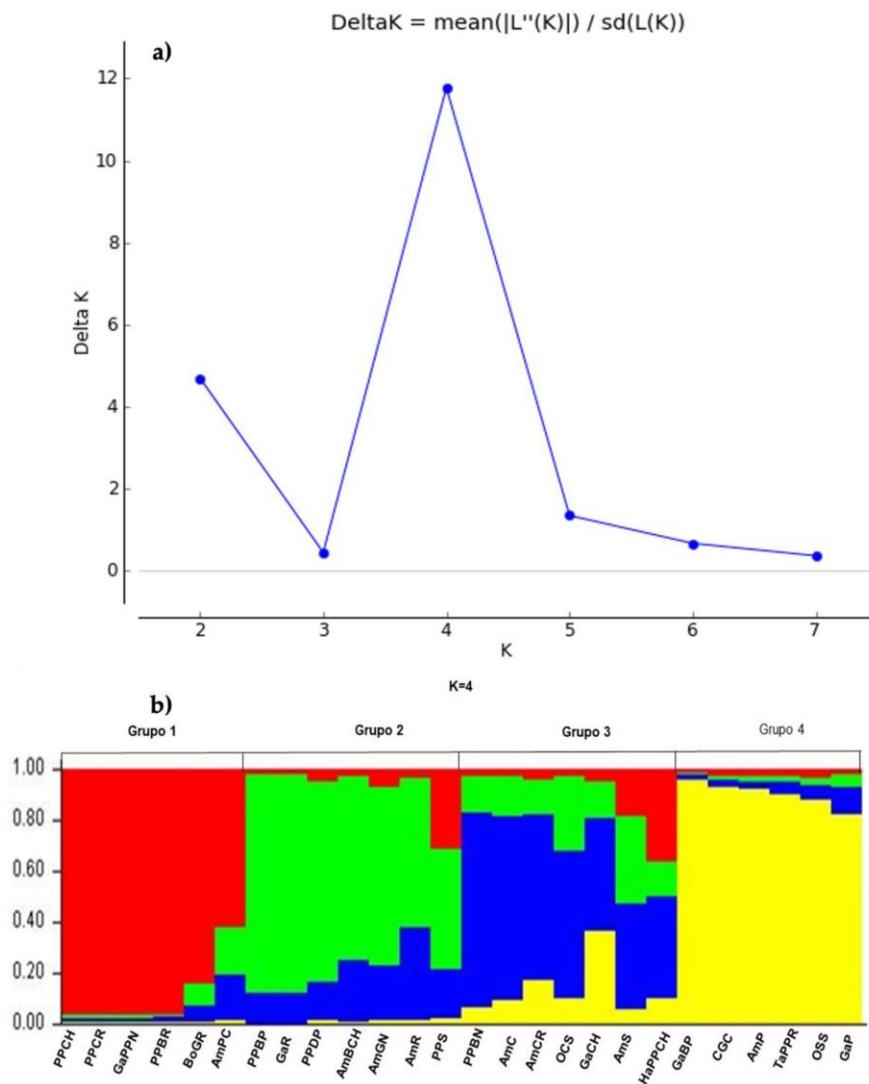


Figura 2. Cuatro poblaciones generadas mediante análisis basado en modelos de inferencia bayesiana; 2a, distribución de ΔK para determinar el número óptimo de grupos genéticos. 2b, agrupamiento de cuatro conjuntos inferidos mediante el análisis de la estructura genética.

DISCUSIÓN

El número de alelos observados son similares a los reportados por Guzmán *et al.* (2020), quienes en 42 accesiones (colectas) de 11 especies de *Capsicum*, y 21 iniciadores, encontraron que el oligo *HpmsCa19* fue el que identificó más alelos (12). Por otro lado, Harishkumar *et al.* (2020), emplearon los marcadores *Hpms1-143*, *Hpms1-274*, y *HpmsCaSIG19*, en 37 genotipos de Chile, reportando que *HpmsCaSIG19* fue el marcador que identificó el mayor número de alelos (13), aunque en ambas investigaciones es una cantidad de alelos inferior a los encontrados en el presente trabajo. Estas diferencias pueden ser por la diversidad de las colecciones o poblaciones estudiadas de *Capsicum* en cada trabajo de investigación, ya que tanto Guzmán *et al.* (2020), como Harishkumar *et al.* (2020), emplearon variedades comerciales de Chile en sus respectivos estudios. Mientras que Rivera *et al.* (2016), evaluó en líneas endocriadas derivadas de variedades comerciales de Chile, 20 marcadores y entre ellos *HpmsCaSIG19* y *Hpms1-143*, encontrando menos alelos (60) que los identificados en el presente estudio. También Nanayakkara (2018), de los 27 marcadores SSR del tipo CAMS que usaron en su investigación para estimar la diversidad molecular de 30 accesiones de *Capsicum* spp., detectaron 108 alelos, mientras que Sood *et al.* (2023) con 82 marcadores SSR en Chile morrón detectaron 151 alelos, en tanto que Adeyemo *et al.* (2023) evaluaron 13 marcadores SSR que detectaron 54 alelos en 22 accesiones de *C. annuum* y *C. frutescens*, lo que pone de manifiesto la efectividad de los marcadores empleados en cada estudio son de gran importancia para identificar alelos en las poblaciones de *Capsicum* estudiadas. Otras investigaciones en las que se usaron marcadores microsatélites y en las que se encontró mayor número de alelos a los del presente trabajo de investigación son la de Saleh *et al.* (2016), quienes reportaron 352 alelos con 21 marcadores y Xiao-Zhen *et al.* (2019) con 28 marcadores reportan 459 alelos, mientras que el primer *HpmsCaSIG19* incluido en su investigación identificó 16 alelos.

Al comparar los resultados del AMOVA con los reportados por Yu *et al.* (2021) en nabo sueco (colinabo), reportan que encontraron 94% de variación dentro de poblaciones, 5% entre poblaciones y 1% entre regiones, concluyendo que sus resultados tienen diferencias menores en todas las poblaciones de nabo o colinabo que evaluaron. Mientras que Singh *et al.* (2013) en arroz probaron marcadores SSR, en diferentes regiones de la India, reportando que el 1% de diversidad fue para regiones, 4% entre poblaciones, 70% entre individuos y el resto (24%) dentro de individuos. Por otro lado, Castañón *et al.* (2014) con marcadores AFLP, y Kuria *et al.* (2018) con ISSR, reportan para regiones, entre poblaciones y dentro de poblaciones varianza molecular de 26, 31 y 43%, y 2, 58 y 41%; porcentajes que en forma general no superan a los encontrados en la presente investigación. En su trabajo con cepas de seta china o *shiitake* (*Lentinula edodes*) en el que se usaron 20 marcadores de secuencias simples repetidas (SSR), Lee *et al.* (2020), encontraron 1% de variación para regiones, 66% entre y 33% dentro de cepas (poblaciones). El 33% dentro de cepas (poblaciones) es menor, pero el 66% entre cepas o poblaciones superó a los porcentajes de variación reportados en la presente investigación. Por otro lado, Islam *et al.* (2016), usaron marcadores TE-AFLP en 171 poblaciones de *Capsicum annuum*, de sus resultados encontrados reportan que la varianza explicada entre y dentro de poblaciones fue de 45 y 54%, lo cual indica que estos porcentajes de varianza superan a los porcentajes de varianza encontrados en el presente estudio. Es importante señalar, que en su investigación los autores mencionados no estimaron la varianza de las regiones. Esta es la posible explicación del porque hubo diferencias en las varianzas entre y dentro de las

poblaciones analizadas en los dos estudios, en lugar de estar relacionado con el número de poblaciones evaluadas en cada uno de ellos.

Los índices F o de fijación (Wright 1965) (Tabla 3), presentaron valores grandes, un valor de $\Phi_{RT} = 0.103$, puede interpretarse como que la diversidad genética de las poblaciones evaluadas entre regiones es moderada. Por otro lado, el estadístico $\Phi_{PR} = 0.278$, entre subpoblaciones dentro de regiones (Poblaciones/Regiones) es alto, y $\Phi_{PT} = 0.352$ (similar de F_{ST}), indica que las poblaciones evaluadas presentaron diferenciación genética grandes. Un índice F_{ST} (Φ_{PT}) de 0.352 es similar al reportado por Castañón *et al.* (2014) al comparar poblaciones en las que se estimó la diversidad genética con marcadores AFLP. Mientras que Toledo *et al.* (2016), con marcadores SSR que incluyeron a los cuatro oligos que se probaron en la presente investigación encontraron un $F_{ST} = 0.308$, que es un índice con valor inferior al encontrado en el presente trabajo. Esta diferenciación genética entre poblaciones que se detectó en la presente investigación se podría utilizar en un programa de mejoramiento genético con el propósito de formar nuevos y mejores cultivares de Chile.

Los grupos o clústers formados por las poblaciones evaluadas puede deberse a que en algunas localidades en las que se recolectaron las poblaciones se les encontró creciendo cerca unas de las otras, por lo que se supone que pudo haber ocurrido entrecruzamiento entre las plantas de las poblaciones. Al respecto, se tienen reportes de que la alogamia en *Capsicum* puede ser menor al 10% (Álvarez y Pino 2018), pero otros como Cotter (1980), sostienen que llega hasta 30%. Por otro lado, Xiao-min *et al.* (2016) mencionan que en *C. annumm* el flujo génico es frecuente debido al cruzamiento natural y al tipo de reproducción de esta especie. Por lo anterior, es posible que alguna(s) de la(s) población(es) recolectadas, y a las que se les hizo el estudio de diversidad genética mediante ADN, fueron poblaciones segregantes o F1.

Al comparar los resultados del análisis bayesiano del presente estudio, con los de Taranto *et al.* (2016), y Adeyemo *et al.* (2023), quienes encontraron que el valor de ΔK estimado fue = 3, por lo que sus poblaciones o colecciones de Chile comparadas o evaluadas fueron agrupadas en tres conjuntos, en cambio en el presente trabajo se obtuvo un valor de $\Delta K = 4$ por lo que el análisis consideró cuatro grupos poblacionales (Figura 2 a, b). En cambio, Lee *et al.* (2016) en su investigación reportan un valor de $\Delta K = 10$, este resultado puede deberse al origen y la especie a que pertenecen las colecciones de Chile que se evaluaron. Los grupos obtenidos en el análisis bayesiano de la presente investigación se formaron por poblaciones de la misma región geográfica, además del tipo de Chile al que pertenece cada población.

La colecta ojo de cangrejo (OCS) es un material que se encuentra en vía de desaparición, pero, presenta características de tamaño y color distintivo en su fruto (mancha morada en sus frutos) que lo hacen diferente del resto de las colectas estudiadas, pero no se tiene conocimiento que demuestre su uso actual en programas de mejora genética.

CONCLUSIONES

El análisis genético mediante marcadores SSR reveló el grado de similitud y diferencia entre las 26 poblaciones evaluadas. El marcador *HpmsCaSIG19*, mostró ser el más eficiente en la presente investigación y en investigaciones previas con *Capsicum* spp. Por lo que sería importante, en nuevas investigaciones, considerar emplear este oligo para poder realizar una buena estimación de la diversidad genética y estructura de las poblaciones evaluadas. La mayor diversidad genética se encontró dentro de las poblaciones (Ind/Pob/Reg), una menor entre poblaciones y regiones. Las diferencias genéticas entre las poblaciones evaluadas tienen importancia, ya que pueden aprovecharse estas diferencias poblacionales en la selección y el mejoramiento genético para formar nuevos cultivares con características sobresalientes, más productivas y con mejor adaptación a las condiciones climáticas de los estados norte de Chiapas y Tabasco.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), por financiar el proyecto.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

- Adeyemo OA, Akinleye OK, Akinbode MO, Bhadmus OA, Olowodahunsi TR, Owonaro PL, Olorunosebi DO, Openiyi TO, Gabriel EO, Oredola SY, Akpan ML, Abayomi KT, Nnama CD (2023) Genetic diversity and population structure of a pepper (*Capsicum* spp.) collection revealed by SSR markers and fruit morphology. *African Scientist* 24(3): 388-403.
- Ahmad I, Anjum MA (2022) Biodiversity estimation in chilli (*Capsicum frutescens*) germplasm through morphological traits. *Sarhad Journal of Agriculture* 38(4): 1500-1509. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.sja/2022/38.4.1500.1509>
- Aliaga CJ, Vega PE (2018) Variabilidad intragenotípica de *Capsicum chinense* Jacq. "ají Supano" provenientes de la cuenca baja del río Supe-Barranca. *Aporte Santiaguino* 11(2): 251-262. <http://dx.doi.org/10.32911/as.2018.v11.n2.579>
- Álvarez F, Pino MT (2018) Aspectos generales del manejo agronómico del pimiento en Chile. Pimientos para la industria de alimentos e ingredientes. In: Pino MT (Ed), Boletín INIA. Santiago, Chile, pp. 41-58.
- Balzarini M, Bruno C, Peña A, Teich I, Di Rienzo J (2010) Estadística en Biotecnología. Aplicaciones en *Info-Gen*. Encuentro Grupo Editor. Córdoba, Argentina. Editorial Brujas 1ª Edición. Impreso en Argentina. 223p.
- Barboza GE, Bianchetti de BL, Stehmann JR (2020a) *Capsicum carassense* (Solanaceae), a new species from the Brazilian Atlantic Forest. *PhytoKeys* 140: 125–138. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.140.47071>

- Barboza GE, Carrizo GC, Scaldaferrero M, Bohs L (2020b) An amazing new *Capsicum* (Solanaceae) species from the Andean-Amazonian Piedmont. *PhytoKeys* 167: 13-29. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.167.57751>
- Basu SK, De AK (2003) *Capsicum*: historical and botanical perspectives. In: By-De AK (ed) *Capsicum*: The genus *Capsicum* Taylor and Francis. London and New York, UK and USA. pp. 1-15.
- Bosland PW, Votava EJ (2000) Peppers: Vegetables and spice *Capsicums*. Crop production science in horticulture 12. CAB International Publishing. Wallingford, England, UK. 204p.
- Brody JR, Kern SE (2004) Sodium boric acid: A Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis. *Biotechniques* 36(2): 214-216. <https://doi.org/10.2144/04362BM02>
- Carvalho SIC, Ragassi CF, Oliveira IB, Amaral ZP, Reifschneider FJ, Faleiro FG, Buso GS (2015) Transferability of microsatellite markers of *Capsicum annuum* L. to *C. frutescens* L. and *C. chinense* Jacq. *Genetics and Molecular Research* 14: 7937-7946. <https://doi.org/10.4238/2015. July.17.1>
- Castañón NG, Ramírez MM, Mayek PN, García CA, Ruíz SR (2014) Molecular comparison of wild and commercial chilies from Tamaulipas and Tabasco, Mexico. *Pakistan Journal of Botany* 46(6): 2101-2106.
- Chhapekar S, Kehie M, Ramchiary N (2016) Advances in molecular breeding of capsicum species. In: Chandra DP (ed) *Biotechnological tools for genetic resources*. Daya Publishing House, New Delhi. pp. 233-274.
- Cotter DJ (1980) A review of studies on chile. New Mexico State University, Agricultural Experimental Station. Bulletin 673p.
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) Una mini preparación de ADN vegetal: versión II. Reporte de biología molecular de plantas 1(4): 19-21. <https://doi.org/10.1007/BF02712670>
- Earl DA, VonHoldt BM (2012) Structure Harvester: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4(2): 359-361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Guzmán FA, De Vicente MC, Moore S, Jahn YMM (2020) Microsatellites to enhance characterization, conservation and breeding value of *Capsicum* germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution* 67(3): 569-585. <https://doi.org/10.1007/s10722-019-00801-w>
- Haralayya B, Asha IS (2017) Molecular marker application in *Capsicum* spp: A supplement to conventional plant breeding. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(11): 3840-3855. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.451>
- Harishkumar TG, Patil HB, Ajjappalavara PS, Abdul Karim M, Manjunathagowda DC, Satish D (2020) Estimation of polymorphic contents and molecular diversity of chilli genotypes using SSR markers. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 9(6): 1505-1514. <https://doi.org/10.22271/phyto>
- Igwe DO, Afiukwa CA, Acquah G, Ude GN (2019) Genetic diversity and structure of *Capsicum annuum* as revealed by start codon targeted and directed amplified minisatellite DNA markers. *Hereditas* 156(32): 1-13. <https://doi.org/10.1186/s41065-019-0108-6>
- Islam MA, Sinha P, Sharma SS, Negi MS, Neog B, Tripathi SB (2016) Analysis of genetic diversity and population structure in *Capsicum* landraces from North Eastern India using TE-AFLP markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 34(4): 869-875. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0968-5>
- Konishi A, Furutani N, Minamiyama Y, Ohyama A (2019) Detection of quantitative trait loci for capsanthin content in pepper (*Capsicum annuum* L.) at different fruit ripening stages. *Breeding Science* 69: 30-39. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.18070>
- Kuria MW, Ngumi VW, Njenga PK, Wangai LN, Esther M (2018) Assessing Genetic diversity of an endangered medicinal plant, *Strychnos henningsii* (Gilg.) in nine populations in Kenyan counties as revealed by ISSR Markers. *International Journal of Innovative Research and Knowledge* 3(12): 81-94.

- Lee HY, Ro NY, Jeong HJ, Kwon JK, Jo J, Ha Y, Jung A, Han JW, Venkatesh J, Kang BC (2016) Genetic diversity and population structure analysis to construct a core collection from a large *Capsicum* germplasm. *BMC Genetics* 17: 142-154. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0452-8>
- Lee HY, Moon S, Ro HS, Chung JW, Ryu H (2020) Analysis of genetic diversity and population structure of wild strains and cultivars using genomic SSR markers in *Lentinula edodes*. *Mycobiology* 48(2): 115-121. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1727401>
- Meng CY, Wei XC, Zhao Y, Yuan Y, Yang S, Wang Z, Zhang X, Jiuwen S, Zheng X, Yao Q, Zhang Q (2017) Genetic diversity analysis of *Capsicum* genus by SSR markers, *Molecular Plant Breeding* 8(8): 70-78. <https://doi.org/10.5376/mpb.2017.08.0008>.
- Mimura Y, Inoue T, Minamiyama Y, Kubo N (2012) An SSR based genetic map of pepper (*Capsicum annuum* L.) serves as an anchor for the alignment of major pepper maps. *Breeding Science* 62(1): 93-98. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.62.93>
- Nanayakkara NHLDDL, Wasala SK, Ubeysekara NM, Jayarathne KGCN, Wickremasinghe IP (2018) Molecular diversity analysis of conserved *Capsicum chinense* Jacq. Germplasm in Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research* 29(2): 218-224. <https://doi.org/10.4038/tar.v29i2.8291>.
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Pritchard JK, Wen X, Falush D (2012) Documentation for structure software: Version 2.3.4. Chicago: University of Chicago. <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>. Fecha de consulta: 18 de agosto de 2024.
- Rivera A, Monteagudo AB, Igartuac E, Taboada A, García-Ulloa A, Pomar F, Riveiro-Leira M, Silvar C (2016) Assessing genetic and phenotypic diversity in pepper (*Capsicum annuum* L.) landraces from North-West Spain. *Scientia Horticulturae* 203: 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.006>
- Ruíz-Álvarez O, Arteaga-Ramírez R, Vázquez-Peña MA, Ontiveros-Capurata RE, López-López R (2012) Balance hídrico y clasificación climática del estado de Tabasco, México. *Universidad y Ciencia* 28(1): 1-14.
- Saleh BK, Kasili RW, Mamati EG, Yao Nk, devilleirs SM, Araia W, Nyende AB (2016) Genetic diversity and population structure of Eritrean pepper (*Capsicum species*) as revealed by SSR markers. *Molecular Plant Breeding* 7(11): 1-16. <https://doi.org/10.5376/mpb.2016.07.0011>.
- Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T (1989) *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. USA. 545p. [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(83\)90068-7](https://doi.org/10.1016/0307-4412(83)90068-7)
- SAS (2024) SAS OnDemand for Academics. SAS®software en la nube - ¡gratis. https://www.sas.com/es_mx/software/on-demand-for-academics.html. SAS Institute Inc. All Rights Reserved. Fecha de consulta: 14 de agosto de 2024.
- Singh N, Choudhury DR, Singh AK, Kumar S, Srinivasan K, Tyagi RK, Singh NK, Singh R (2013) Comparison of SSR and SNP Markers in Estimation of Genetic Diversity and Population Structure of Indian Rice Varieties. *PLoS ONE* 8(12): 1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084136>
- Solomon AM, Han K, Lee JH, Lee HY, Jang S, Kang BC (2019) Genetic diversity and population structure of Ethiopian *Capsicum* germplasms. *PLoS ONE* 14(5): 1-20. e0216886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216886>
- Sood T, Sood S, Sood VK, Badiyal A, Kapoor AS, Sood V, Kumar N (2023) Characterisation of bell pepper (*Capsicum annuum* L. var. *Grossum* Sendt.) accessions for genetic diversity and population structure based on agro-morphological and microsatellite markers. *Scientia Horticulturae* 321: 112308. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023>.
- Sung-Chur S (2013) Tutorial of the Structure software. Tomato genetics and breeding program. The Ohio State University, OARDC. 1-29p. http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure2_1.html. Fecha de consulta: 16 de agosto de 2024.

- Taranto F, D'Agostino N, Greco B, Cardi T, Tripodi P (2016) Genome-wide SNP discovery and population structure analysis in pepper (*Capsicum annuum*) using genotyping by sequencing. *BMC Genomics* 17: 943-955. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3297-7>.
- Terefe M, Alemu SK, Olani G, Debebe A, Shimelis Aklilu S, Berhanu B (2022) Genetic diversity in pepper (*Capsicum annum* L.) germplasms using SSR markers. *African Journal of Plant Science* 16(7): 174-185. <https://doi.org/10.5897/AJPS2022.2267>
- Toledo AR, López SH, Santacruz Va, Valadez ME, Antonio LP, Aguilar RVH, González HVA, Vaquera HH (2016) Characterization of genetic diversity of native 'Ancho' chili populations of Mexico using microsatellite markers. *Chilean Journal of Agricultural Research* 76(1): 18-26. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000100001>
- Wijaya CH, Harda M, Rana B (2020) Diversity and Potency of *Capsicum* spp. Grown in Indonesia. In: Dekebo A (ed) *Capsicum*. Intech Open. United Kingdom. pp. 1-22. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92991>
- Wright S (1965) The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19: 395-420. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1965.tb01731.x>
- Xiao-min Z, Zheng-Hai Z, Xiao-Zhen G, Sheng-Li M, Xi-Xiang L, Chadoeuf J, Palloix A, Li-Hao W, Bao-xi Z (2016) Genetic diversity of pepper (*Capsicum spp.*) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *Journal of Integrative Agriculture* 15(9): 1991-2001. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61364-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61364-3)
- Xiao-Zhen G, Yacong C, Zheng-Hai Z, Bao-Xi Z, Hong Z, Xiao-Min Z, Hai-Ping W, Xixiang L, Li-Hao W (2019) Genetic diversity and population structure analysis of *Capsicum* germplasm accessions. *Journal of Integrative Agriculture* 18(6): 1312-1320. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62132-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62132-X)
- Yu Z, Fredua-Agyeman R, Hwang SF, Strelkov SE (2021) Molecular genetic diversity and population structure analyses of rutabaga accessions from Nordic countries as revealed by single nucleotide polymorphism markers. *BMC Genomics* 22(1): 442. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07762-4>