

Estudio preliminar de identificación a nivel molecular, de ecotipos de chile piquín

Preliminary identification at the molecular level of ecotypes of chili piquín

Martha Isabel Torres-Morán*

Eduardo Rodríguez-Guzmán

Ana Paulina Velasco-Ramírez

Martha Escoto-Delgadillo

Departamento de Producción Agrícola. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Camino Ramón Padilla Sánchez 2100 Nextipac, 45200 Zapopan, Jalisco.

Mónica Elizabeth Riojas-López

Departamento de Ecología. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Camino Ramón Padilla Sánchez 2100 Nextipac, 45200 Zapopan, Jalisco.

Noé Durán-Puga

Rogelio Lépiz Ildelfonso

Departamento de Producción Agrícola. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Camino Ramón Padilla Sánchez 2100 Nextipac, 45200 Zapopan, Jalisco.

*Autor para correspondencia: isabel.torres@academicos.udg.mx

Resumen

El chile piquín, es un recurso fitogenético con grande potencial culinario y de aporte de vitaminas para la alimentación de países consumidores como México. Su estudio a nivel molecular, representa una posibilidad de diferenciar los ecotipos existentes en cada región donde se produce o donde se consume. Debido a la gran variabilidad morfológica que presenta, la caracterización molecular del chile, como recurso fitogenético, esto es, la obtención de las características desde el punto de vista genético, es un recurso necesario para la identificación de genotipos promisorios desde el punto de vista de mejoramiento genético además de la documentación del acervo de genes. En el presente trabajo se realizó un estudio preliminar de identificación de ecotipos de chile piquín provenientes de nueve estados de la república, utilizando el marcador molecular ISSR (Inter secuencias simples repetidas). Los resultados obtenidos, proporcionan información sobre la capacidad de los marcadores moleculares de detectar las diferencias en los ecotipos, que corresponden a las diferentes regiones de colecta.

Palabras clave: *Capsicum annum*, ISSR, identificación molecular.

Abstract

The piquín chili is a plant genetic resource with great potential for culinary nutrition and vitamin supply for consumer countries such as Mexico. Its study at the molecular level represents a possibility of differentiating the existing ecotypes in each region where it is produced or where it is consumed. Due to the great morphological variability that it presents, the molecular characterization of chili as a plant genetic resource represents obtaining the characteristics from the genetic point of view. This is necessary for the identification of promising genotypes for genetic improvement in addition to documentation of the gene pool. In the present work, a preliminary study was carried out to identify piquín chili ecotypes from nine states of the republic, using the molecular marker ISSR (Inter Simple Sequence Repeats). The results obtained provide information on the ability of molecular markers to detect differences in ecotypes, which correspond to the different collection regions.

Keywords: *Capsicum annum*, ISSR, molecular identification.

Introducción

México es uno de los principales países consumidores de chile (*Capsicum annuum* L., var. *aviculare* o var. *glabriusculum*). Es aquí donde se originaron muchas de las variedades que conocemos y que dan a este país un icono que representa la afinidad del pueblo mexicano por el fuego, la intensidad y la variedad. Ha sido parte de nuestra cultura desde épocas prehispánicas. Se menciona en el código florentino, como clasificado ya con un grado reconocido de pungencia. En náhuatl *cococ* (picante bajo), *cocopatic* (picante medio), *cocopetzquauitl* (picante fuerte) y *cocopalatic* (extremadamente picante) (Mazzetto, 2017). Aunque no es clara la explicación que dan estos escritos ancestrales, sobre el tipo de chile del que se trata en cada caso, es claro que existe desde entonces una gran variedad en esta especie.

El chile piquín, es considerado como uno de los más picantes y es utilizado tanto para consumo fresco, como seco; de hecho, es preferido por su grado de pungencia (Rodríguez-del Bosque, 2005). Es considerado como una fuente importante de vitamina A y un elemento importante en la gastronomía típica de varios estados de la república (Atilano-López y col., 2017), además de ser fuente de genes para mejoramiento genético. En México, este tipo de chile se puede encontrar en todas las costas y serranías costeras del océano pacífico y del Golfo de México y se distribuye a lo largo del país en los trópicos y aún en zonas semiáridas (Ramírez-Ojeda, 2017). La gran variedad de formas de sus frutos, además de su forma de creci-

miento (Figura 1), ha propiciado que se le reconozca con diferentes nombres según la región donde se ubican. Son conocidos con los nombres de chiltepín, piquín, chile de monte, chile silvestre, etc. (Martín y González, 1991; Medina-Martínez y col., 2010).

Debido a la variabilidad morfológica del chile piquín, se considera que existen diferentes ecotipos, que según la definición mencionada por Hufford y Mazer (2003), son los distintos genotipos o poblaciones dentro de una especie, resultado de su adaptación local a condiciones ambientales específicas, capaces estos de hibridarse con otros ecotipos de la misma especie. Debido a esto, se vuelve necesaria la caracterización molecular del chile, como elemento básico en el estudio de los recursos fitogenéticos. Esto es, la obtención de las características desde el punto de vista genético (Sánchez-González, 2007). Uno de los marcadores moleculares que ha sido utilizado recientemente para realizar caracterizaciones moleculares (Zhang y col., 2012; Medrano-Hernández y Col., 2017) así como determinación de variabilidad genética (Castañeda-Cardona y col., 2021) es el marcador ISSR (Inter secuencias simples repetidas).

El objetivo del presente trabajo, fue la caracterización a nivel molecular, de diez colectas de chile piquín, provenientes de diferentes regiones del país, utilizando el marcador molecular ISSR, y la validación de la capacidad de este marcador para separar las colectas según su origen, como antecedente de posteriores trabajos de asociación con características morfológicas.

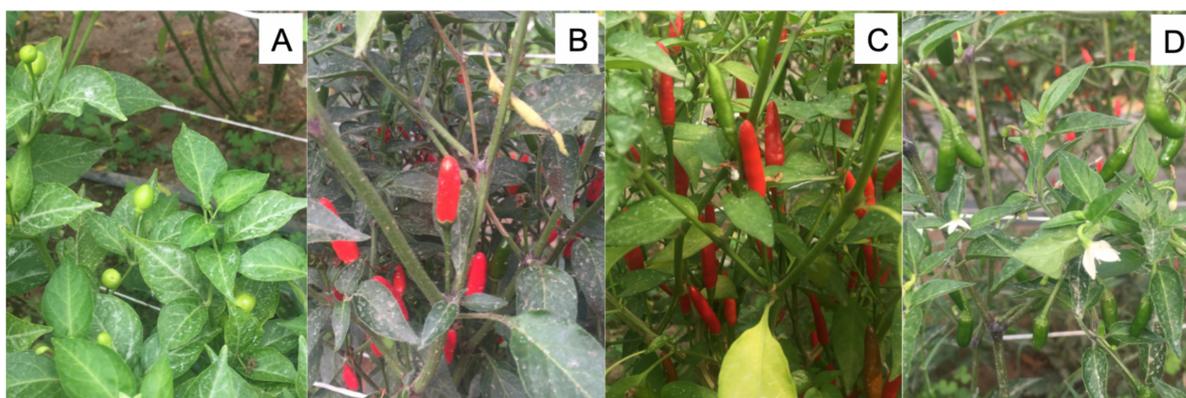


Figura 1. Diversidad morfológica de chile piquín. A) Fruto casi redondo, B) Fruto elongado, C) fruto triangular, D) fruto acampanulado (Descriptoros válidos para *Capsicum* spp. según el IPGRI, 1995)

Materiales y Métodos

Se obtuvieron colectas de semillas de chile piquín, provenientes de nueve estados de la república, con ubicación y condiciones ambientales que se mencionan en el Cuadro 1 (Figura 2).

Esas semillas fueron sembradas bajo condiciones de invernadero, ubicado éste en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Municipio de Zapopan Jalisco. Se obtuvieron muestras de tejido foliar de ocho plántulas por colecta.

Cuadro 1. Diferencias de temperatura y precipitación en las localidades de procedencia de las colectas de chile piquín incluidas en el presente trabajo

Localidad de procedencia y tipo de fruto*	Altitud msnm	Temperatura media anual °C	Precipitación Acumulada promedio mm	Tipo climático según Koppen-García
Autlán de Navarro, Jal. (2)	900	22.9	682.00	BS+(h')w(i'')
Xalisco, Nay. (1)	963	21.1	1,451.9	A(C)w2(w)(i'')
San Blas, Nay. (1)	4	26.0	1441.4	AWz(w)e
Coahuayana, Mich. (2)	10	26.2	249.0	Awo(w)i
Tlamamala, Hgo. (1)	2197	17.3	681.9	Aw"2(i'')
Papantla, Ver. (3)	190	29.1	1,136.9	(A)Ca(w"2)(w)eg
Zimatlán Oax. (1)	2,879	20.5	741.2	(A)Ca(w"o)w(i'')
Xicotepec, Puebla	1098	18.6	3,181.5	(A)Cb(w"2)eg
Tuxpan Ver. (3)	50	24.6	957.9	Aw"1eg
Tecomán, Col. (2)	30	26.6	801.9	BS+(h'')w(w)i

Fuente: Servicio Meteorológico Nacional
*tipo de fruto (1) Elongado, (2) Casi redondo, (Triangular)



Figura 2. Estados incluidos en el muestreo de chile piquín de donde provienen las muestras incluidas en el presente trabajo

A partir de los patrones de amplificación generados, se obtuvo una matriz de presencia/ausencia de bandas, la cual fue utilizada para el cálculo del coeficiente de similitud de Jaccard y un análisis de agrupamiento por el método UPGMA (del inglés unweighted pair-group method with arithmetic average), todos estos análisis, contenidos en el software de análisis NTSYS ver. 2.2 (Rohlf, 2009). Los resultados se presentan en un dendrograma.

Resultados y discusión

Como resultado de la aplicación de la técnica PCR para ISSR, se obtuvieron patrones diferenciales de bandeo para todos los individuos estudiados. El total de bandas obtenidas con los dos iniciadores fue de 65, de las cuales 48 fueron polimórficas, lo que significa un porcentaje de polimorfismo detectado de 73.84 %. Estos resultados concuerdan con el nivel de polimorfismo que se genera con el marcador ISSR y que ha sido reportado en otros estudios con especies de la misma familia, entre los que se puede mencionar el 98% de polimorfismo detectado en chile habanero (López- Espinosa y col., 2018) y muy alto comparado con el 5% reportado por Olatunji y Afolayan (2019) para separar especies de *Capsicum spp.*

Como resultado del análisis de similitud y el análisis de agrupamiento, se obtuvo un dendrograma (Fig. 3) que muestra la asociación entre los ecotipos de chile colectados.

En este estudio preliminar, se logró comprobar que el marcador ISSR agrupa a los individuos analizados, según su procedencia, es decir su lugar de origen, lo cual es coincidente con lo reportado por Thul y col. (2012) y Olatunji y Afolayan (2019) . Los patrones individuales de bandeo producidos para cada colecta, ubican los grupos de acuerdo a su localidad. Lo anterior corresponde con lo que este marcador ha detectado anteriormente en otras especies (Rodríguez-del Bosque, 2005; Monfared y col., 2018; Castañeda-Cardona y col., 2020) en esos trabajos, se menciona la ventaja que ha representado utilizar el marcador ISSR para el control y la gestión eficaz de medidas de conservación y selección de las plantas en programas de mejoramiento, ya que esto solo puede implementarse cuando las plantas están

correctamente identificadas. Por otra parte, la agrupación no coincide en un nivel confiable, con las características de fruto, ya que las colectas Xal, Nay; San Blas, Nay; Tlamamala Hgo, y Zimatlán Oax; con fruto (1) elongado, se encuentran en grupos diferentes, así como Autlán, Jal, Coahuayana Mich y Tecomán con fruto (2) casi redondo.

Los resultados obtenidos, proporcionan información sobre la capacidad de los marcadores moleculares de detectar las diferencias en los ecotipos, que corresponden a las diferentes regiones de colecta.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de Julia Gutiérrez y de Silvia Paulina Madero Rocha para la colecta del material vegetal y apoyo en las extracciones de DNA.

Literatura citada

- Atilano-López., M., M. Marín-Santiago, E. Pérez-Ñil, R.A. y Villalba-Hernández. 2017. Identidad y cultura Mexicana: el chile. Tesis. Escuela superior de gastronomía. Insituto Politécnico Nacional. <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/22788>.
- Castañeda-Cardona, C., Portela-Puerta, R., y Y. Morillo-Coronado. (2021). Caracterización molecular con marcadores ISSR de la colección de cítricos de la UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS. Revista de Investigación Agraria y Ambiental, 12(2), 67 – 84. DOI: <https://doi.org/10.22490/21456453.3884>
- Climate data org. <https://es.climate-data.org/americas-del-norte/mexico/nayarit/xalisco-766126/>
- Hufford, K.M., y S. J. Mazer. 2003. Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. Trends in ecology and evolution. 18(3): 147-155
- IPGRI, AVRDC and CATIE. 1995. Descriptors for Capsicum (Capsicum spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy; the Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan, and the Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.
- López-Espinosa, S.T., L. Latournerie-Moreno, G. Castañón-Nájera, E. Ruiz-Sánchez, J.F. Gómez-Leyva, R. H. Andueza-Noh y J.O. Mijangos-Cortés. 2018. Diversidad genética de chile habanero (Capsicum chinense Jacq.) mediante ISSR. Revista Fitotecnia Mexicana. 41 (3): 227 - 236
- Martín, N.C. y W.G. González. 1991. Caracterización de accesiones de Chile (Capsicum spp.). Agronomía Mesoamericana. 2: 31-39.
- Medina-Martínez, T., H. Villalón-Mendoza,, J.M. Pérez-Hernández, G. Sánchez-Ramos y S. Salinas-Hernández. 2010. Avances y perspectivas de investigación del chile piquín en Tamaulipas, México. Ciencia UAT. 4(4),16-21.
- Medrano-Hernández, J. M., Rodríguez de la O, J. L., Reyes-Trejo, B., & Peña-Ortega, M. G. (2017). Molecular characterization using ISSR primers of Magnolia mexicana DC. from two regions in Zongolica, Veracruz, Mexico. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 23(3), 427-436. doi: 10.5154/r.rchscfa.2017.03.019
- Monfared, M.A., D. Samsampour , G.R. Sharifi-Sirchi y F. Sadeghi. 2018. Assessment of genetic diversity in Salvadora persica L. based on inter simple sequence repeat (ISSR) genetic marker. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 16: 661-667.
- Olatunji, T.L. y A. J. Afolayan. 2019. Evaluation of genetic relationship among varieties of Capsicum annum L. and Capsicum frutescens L. in West Africa using ISSR markers. Heliyon. e01700
- Ramírez-Ojeda, G., 2017. Diversidad morfológica y climática en colectas de chile piquín (Capsicum annum var. glabrusculum) en México. Tesis Colegio de Posgraduados. Montecillo, Texcoco. pp 94.
- Rodríguez-del Bosque, L.A. 2005. Preferencia del consumidor por el chile piquín en comparación con otros chiles en el noreste de México. Revista Chapingo Serie Horticultura. 11(2):. 279-281
- Rohlf FJ. NTSYSpc: numeral taxonomy system. Ver. 2.21. 2009. Exeter Software. New York: Stauket.
- Saghai-Marooof, M., K. Soliman, A. Jorgensen y R. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proceedings of the Natural Academy of Sciences 81(24): 8014-8018.
- Sambrook J, Russell DW (2001) Molecular cloning: A laboratory manual, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- Thul, S.T., M.P. Darokar, A.K. Shasany, S.P.S. Khanuja. 2012. Molecular Profiling for genetic variability in Capsicum species based on ISSR and RAPD markers. Molecular Biotechnology (2012) 51:137–147 doi: 10.1007/s12033-011-9446-y
- Zhang, F., G. Yaying, W. Weiyong, Y. Xinying, S. Xiaolan, L. Jianxin, L. Xiaojing, T. Danqing, S. Fuquan y Y. Yongming. 2012. Molecular characterization of cultivated bromeliad accessions with Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. International Journal of Molecular Science. 13 (5): 6040 – 52. Doi: 10.3390/ijms13056040