

VARIABILIDAD EN EL CONTENIDO DE ADN NUCLEAR EN CHILE (*Capsicum annuum* L. y *C. chinense* Jacq.) DE MEXICO*

NUCLEAR DNA CONTENT VARIABILITY IN PEPPER (*Capsicum annuum* L. and *C. chinense* Jacq.) FROM MEXICO

Tarsicio Corona Torres¹, Armando García Velázquez², Fernando Castillo González¹, Víctor Montero Tavera³ y H. Susana Azpíroz Rivero⁴

¹M.C. Estudiante de doctorado en Genética del Colegio de Postgraduados. C.P. 56230 Montecillo, Edo. de México, marnub@colpos.colpos.mx. ²Dr. Profesor Investigador Titular del Colegio de Postgraduados. C.P. 56230 Montecillo, Edo. de México. ³Biol. Asistente de Investigación, ⁴Dra. Investigadora, Campo Experimental Valle de México, INIFAP, A.P. 307. C.P. 56101 Texcoco, Edo. de México.

RESUMEN

En México el chile tiene gran importancia económica, ya que se cultiva en la mayor parte del país y a lo largo del año se encuentra en el mercado. Este cultivo representa el 8.6% de la exportación total de productos hortícolas y su producción asciende a 970,000 toneladas. Sin embargo, existen escasos estudios sobre su variación genómica, no obstante, que proporcionan información significativa para llevar a cabo un mejoramiento eficiente o una predicción confiable acerca del potencial genético de estas especies. En la presente investigación se estudiaron 45 colectas de *Capsicum annuum* y *C. chinense* de 12 estados de la República Mexicana, correspondientes a los tipos cora, serrano, bolita, árbol, piquín, ancho y habanero, además de seis cruces realizadas en invernadero, con el objetivo de determinar el número cromosómico y el contenido de ADN. Los resultados demostraron uniformidad en el número cromosómico y variación inversa del contenido de ADN nuclear con respecto a la latitud, pero sin relación aparente con el tipo o la especie de chile. El número de cromosomas fue $2n=24$ y el contenido de ADN de 9.17 a 10.02 picogramos. La mayor cantidad de ADN se observó en el tipo cora y la menor en el ancho. En un análisis de agrupamiento el serrano se encontró cercano al cora, y el árbol a las cruces, lo cual se debe a que intervino como progenitor en la mayoría de éstas.

Palabras clave: Chile, variabilidad, cromosomas, ADN, citometría de flujo.

ABSTRACT

Pepper has great economic importance in México because it is cultivated in most of the country and is sold all the year in the market. Pepper represents 8.6% of the total of horticultural products exported with a production of 970,000 ton. However there are few studies about genomic variation in chile. These studies could provide important information to carry out efficient improvement and a reliable prediction of the genetic potential of these species. The objective of this research was to study 45 collections of *Capsicum annuum* and *C. chinense* from 12 states of the Mexican Republic were studied. These collections were Cora type, Serrano, Bolita, Arbol, Piquín, Ancho, and Habanero and six crosses made in the greenhouse. Chromosome number and DNA content were determined. The objective was determine the uniformity in chromosome number and DNA content showed an inverse distribution with latitude with no apparent relationship to the type or species of pepper. The chromosome number was $2n=24$, and the DNA content ranged from 9.17 to 10.02 picograms. The Cora type had

* Fecha de recepción : 10 de agosto de 1999

Fecha de aceptación: 12 de octubre de 1999

the highest DNA content, and the Ancho type had the lowest. The cluster analysis showed that the Serrano type is genetically similar to the Cora type and the Arbol type is similar to the crosses, because this type behaved like the ancestor in the majority of the crosses.

Key words: Pepper, variability, chromosome, ADN, flow cytometry.

INTRODUCCION

El género *Capsicum* tiene gran importancia debido a su amplia distribución, ya que se produce en regiones tropicales, subtropicales y templadas. En México se cultiva desde localidades al nivel del mar hasta los 2,500 msnm, abarcando gran número de regiones agroecológicas; por tal razón se encuentra en el mercado todo el año, y su consumo está generalizado tanto fresco, seco e industrializado (Pozo *et al.*, 1991).

La superficie total sembrada con chile en 1996 fue de 86,000 hectáreas, con una producción de 970,000 toneladas (Consejo Nacional Agropecuario, 1997). Los tipos más importantes a escala nacional son Ancho, Jalapeño, Serrano y Mirasol; siendo la producción nacional de éstos alrededor del 80% del total; otros tipos se cultivan localmente. Durante 1990 el chile verde (serrano) figuró entre los principales cultivos hortícolas de exportación, con una participación del 8.6% del total de ésta, superado por el tomate, melón y pepino. Las importaciones han sido irrelevantes; en los últimos años el volumen máximo ascendió a sólo 122 toneladas (1972), y en la actualidad la importación de chile verde es prácticamente inexistente.

A la fecha es posible encontrar diversas especies de chile tales como *C. annuum*, *C. chinense*, *C. pubescens* y *C. frutescens*, de las cuales la más importante por su producción, distribución, variabilidad de formas de fruto y multiplicidad de usos es *C. annuum*. Sin embargo, los tipos de ésta han sido escasamente estudiados. De manera general existe un número reducido de programas de fitomejoramiento a nivel nacional; no obstante la trascendencia de esta clase de investigaciones para la conservación de la biodiversidad de las especies de chile existentes en el país.

Entre los estudios factibles de realizar para conocer la variación de los recursos fitogenéticos se encuentran los de tipo morfológico-descriptivos, fisiológicos, bioquímicos,

moleculares y citológicos. Estos últimos incluyen el contenido total de ADN y nivel de ploidía.

Hasta fines de la década de los ochenta la cuantificación del contenido de ADN se basaba en el microespectrofotómetro mediante el uso de núcleos teñidos con el reactivo de Schiff (Bennett, 1976; Bennett *et al.*, 1982; Ceccarelli *et al.*, 1992). Recientemente el empleo del citómetro de flujo ha sido reconocido como un método rápido y más preciso (Galbraith, 1989), utiliza las propiedades de fluorocromos específicos como el DAPI, PI, EB, en la dispersión de luz de una sola partícula, tales como células y núcleos, durante su paso por un conducto estrecho en un medio líquido. La ventaja del uso de colorantes fluorescentes es que las moléculas absorben y emiten luz en una longitud de onda determinada, por lo que las sondas fluorescentes pueden ser excitadas selectivamente y detectarse en una mezcla compleja. Los colorantes se enlazan al ADN y otros más se unen selectivamente a regiones ricas en bases de A-T y G-C (Arumuganathan y Earle, 1991; Dolezel, 1995; Galbraith *et al.*, 1983).

El citómetro muestra el resultado de la medición de la cantidad de ADN en forma de diagramas de picos, cuya calidad se estima por el coeficiente de variación de éstos correspondientes a las etapas de crecimiento G1 y G2 de las fases del ciclo celular (Dolezel, 1991; 1995). Una forma práctica en la exactitud de la medida del contenido de ADN es el empleo del coeficiente de variación (C.V.). Ozias-Akins y Jarret (1994) indican que C.V. menores al 5% son de un nivel bueno en los análisis; mientras que otros autores como Dolezel (1991; 1995) recomiendan sean menores o iguales a 2%.

La rapidez y exactitud del citómetro de flujo lo convierten en una herramienta útil en el mejoramiento de plantas y en investigación aplicada. Price *et al.*, (1981) señalan que los cambios en el contenido de ADN probablemente son generados por diferencias segregacionales más pequeñas con una fuerte presión selectiva, que crean una dispersión. Las diferencias en el contenido de ADN nuclear son de significancia para el organismo, ya que afectan el volumen del núcleo y/o la célula, así como el tiempo de meiosis y mitosis, lo cual modifica propiedades como la velocidad de crecimiento, adaptación a diferentes localidades, etc. (Valkonen, 1994).

Actualmente se reconocen cinco especies cultivadas del género *Capsicum*: *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. baccatum*,

C. pubescens y *C. chinense*. En todas éstas como en sus parientes silvestres, el número cromosómico ha sido reportado como $n=12$ ó $2n=24$ (Pickersgill, 1997), excepto en una especie de Brasil que tiene $n=13$ (Pickersgill, 1971); Corona y García (1991) en los tipos esmeralda, jalapeño, mirasol, pánuco y piquín de *C. annuum* de México encontraron gran variación en la morfología de los cromosomas, ya que la longitud del más largo osciló entre 4.21 a 9.9 μm , mientras que en el más pequeño de 2.1 a 4.0 μm . Sin embargo, se requiere mayor estudio en *C. annuum* por la gran diversidad morfológica y distribución geográfica que presenta a nivel nacional. Una de las medidas para conocer el grado de ploidía, ganancia y/o pérdida de segmentos cromosómicos es mediante la determinación del contenido de ADN nuclear. En mediciones efectuadas en *Capsicum* tanto con espectrofotómetro como con citómetro de flujo se ha encontrado variación en el contenido de ADN, Laurie y Smith (1982) (citados por Arumuganathan y Earle) (1991) observaron un intervalo de 8.0 a 10.8 picogramos (pg) con el microespectrofotómetro; Galbraith *et al.* (1983) y Arumuganathan y Earle (1991) 5.52 pg y 5.6 a 7.51 pg, respectivamente.

La variación en el contenido de ADN en cereales, pastos y algunas leguminosas se debe en parte al clima, lo cual se explica con los trabajos de Bennett (1976) y Bennett *et al.* (1982) quienes mencionan que las especies diploides de zonas templadas presentan mayor cantidad que las de clima tropical; en tanto, Levin y Funderburg (1979) señalan que ésta no es una regla general, pues algunas familias como las compuestas y algunas especies de leguminosas no muestran dicho comportamiento. También se ha encontrado que en algunos pastos, a bajas latitudes se presenta menor contenido de ADN que a mayores, mientras que Valkonen (1994) concluye que en la selección de especies cultivadas de cereales, leguminosas y pastos el contenido se incrementó hacia altitudes y latitudes más elevadas. Cavallini *et al.* (1986) y Cavallini y Natali (1991) indican la posibilidad de que los cambios en el ADN nuclear jueguen un papel importante en la adaptación ambiental.

Considerando la trascendencia que tiene el Chile a nivel nacional y la carencia de información con respecto a las bases genéticas de sus poblaciones y tipos, como objetivo se planteó conocer la variabilidad del contenido nuclear de ADN en los diferentes tipos de chiles provenientes de colectas de diversas entidades de la República Mexicana, así como determinar su número cromosómico. Esta información será útil en el análisis

taxonómico y en programas de mejoramiento genético por cruzamiento.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal. Se estudiaron siete tipos de Chile y sus cruces pertenecientes a 39 colectas de *C. annuum* y cinco de *C. chinense* provenientes de 12 estados de la República Mexicana, además de una colecta de *C. chinense* de Puerto Limón, Costa Rica (Cuadro 1).

Las cruces se obtuvieron de un diseño dialélico bajo condiciones de invernadero en Texcoco, Edo. de México.

Germinación de la semilla. Se germinaron 30 semillas de cada colecta en charolas con arcilla, arena y materia orgánica (1:1:1) como sustrato esterilizado con bromuro de metilo antes de usarse; posteriormente las plántulas se llevaron al invernadero, donde se trasplantaron en bolsas de plástico de 25 cm de diámetro por 30 de altura.

Determinación del número cromosómico. Se determinó el número cromosómico de los diferentes tipos de Chile mediante ápices radicales de semillas germinadas en cajas de petri; cuando la radícula alcanzó una longitud de 0.5 a 1.0 cm se les trató con solución acuosa de 8-hidroxiquinoleína 0.002M por 9 horas a temperatura ambiente. Después se fijaron en Farmer (3:1 v/v, alcohol etílico 96 % y ácido acético glacial). Las observaciones citológicas de los ápices se efectuaron con la técnica tradicional del carmín-ácido propiónico siguiendo la descripción realizada por García (1990).

Contenido de ADN. El tamaño de muestra para la cuantificación de ADN fue de cinco plantas por colecta, en las cuales se calculó la posición media, índice (contenido de ADN) y coeficiente de variación.

Como explante se usaron las dos penúltimas hojas apicales jóvenes de plantas sanas de seis semanas de edad, transportándolas al laboratorio en tubos de ensayo con agua para evitar que se deshidrataran. Las hojas se utilizaron el mismo día o al siguiente de su corte. Se escindió un segmento de hoja de 25 mm² al que se agregó la solución amortiguadora de Galbraith *et al.* (1983) para aislamiento y tinción de núcleos preparado previamente. A ese segmento se le incorporó otro de maíz del mismo tamaño que se consideró como estándar interno o patrón de referencia (población 21 CIMMYT) (Biradar y Rayburn, 1993).

Cuadro 1. Colectas de *Capsicum annuum* y *C. chinense utilizadas en este estudio.**

Registro de colecta**	Sitio de Colecta			Altitud (msnm)	Longitud Oeste	Latitud Norte	Tipo
	Localidad	Municipio	Estado				
CP-167	Mtz. de Arriba	Santiago P.	Dgo.	1740	105°25'	25°03'	Ancho
CP-363	Mtz. de Arriba	Santiago P.	Dgo.	1740	105°25'	25°03'	Arbol
CP-373	Urapa	Ario Rosales	Mich.	1790	101°42'	19°12'	Arbol
CP-375	Urapa	Ario Rosales	Mich.	1790	101°42'	19°12'	Arbol
CP-374	Urapa	Ario Rosales	Mich.	1790	101°42'	19°12'	Arbol
CP-379	Urapa	Ario Rosales	Mich.	1790	101°42'	19°12'	Arbol
CP-377	Urapa	Ario Rosales	Mich.	1790	101°42'	19°12'	Arbol
CP-376	Urapa	Ario Rosales	Mich.	1790	101°42'	19°12'	Arbol
CP-378	El Espinal	Ario Rosales	Mich.	1800	101°42'	19°12'	Arbol
CP-328	S. Bernardino	Texcoco	Méx.	2240	99°36'	19°31'	Arbol
CP-362	Paso Real	Manlio F. A.	Ver.	44	96°38'	19°18'	Bolita
CP-364	El Moral	Ario Rosales	Mich.	1960	101°42'	19°12'	Bolita
CP-120	S. Francisco	La Antigua	Ver.	50	96°18'	19°22'	Bolita
CP-134	P. Ovejas	Paso de ovejas	Ver.	500	96°50'	19°30'	Bolita
CP-135	Paso Real	Manlio F. A.	Ver.	44	96°38'	19°08'	Bolita
CP-365	La Antigua	La Antigua	Ver.	50	96°18'	19°18'	Bolita
CP-366	P. Ovejas	Paso de Ovejas	Ver.	500	96°50'	19°30'	Bolita
CP-367	Sal Moral	La Antigua	Ver.	50	96°18'	19°22'	Bolita
CP-335	Tequilita	Tequilita	Nay.	915	104°54'	21°31'	Cora
CP-400	Tequilita	Tequilita	Nay.	915	104°54'	21°31'	Cora
CP-308	V. Hermosa	V. Hermosa	Tab.	10	92°56'	18°00'	Habanero*
CP-262	F. Carrillo P.	F. Carrillo P.	Q.R.	10	88°10'	19°35'	Habanero*
CP-264	F. Carrillo P.	F. Carrillo P.	Q.R.	10	88°10'	19°35'	Habanero*
CP-265	F. Carrillo P.	F. Carrillo P.	Q.R.	10	88°10'	19°35'	Habanero*
CP-278	Campeche	Campeche	Camp.	0	90°35'	19°54'	Habanero*
CP-313	H. Cárdenas	H. Cárdenas	Tab.	23	93°27'	18°00'	Habanero*
CP-358	Mtz. de Arriba	Santiago P.	Dgo.	1740	105°25'	25°03'	Piquín
CP-360	Rosario	Rosario T.	Son.	1000	109°56'	27°50'	Piquín
CP-359	Mtz. de Arriba	Santiago P.	Dgo.	1740	105°25'	25°03'	Piquín
CP-043	Napoala	Tlapacoyan	Ver.	820	97°13'	19°57'	Piquín
CP-124	Paso Real	Manlio F. A.	Ver.	44	96°38'	19°08'	Piquín
CP-137	Tuxpan	Tuxpan	Ver.	4	97°24'	20°57'	Piquín
CP-045	Frijolares	Altotonga	Ver.	2000	97°45'	19°45'	Piquín
CP-361	Alamos	Alamos	Son.	410	108°56'	27°01'	Piquín
CP-289	Matecapán	S. Andrés T.	Ver.	360	95°25'	18°30'	Piquín
CP-333	Huapalejcan	Xochitlán	Pue.	2035	97°50'	18°45'	Piquín
CP-370	Paso de Milpa	Actopan	Ver.	311	96°37'	19°30'	Serrano
CP-372	Actopan	Actopan	Ver.	311	96°37'	19°30'	Serrano
CP-336	Celaya	Celaya	Gto.	1754	100°49'	20°32'	Serrano
CP-337	Celaya	Celaya	Gto.	1754	100°49'	20°32'	Serrano
CP-017	S. Cristóbal	S. Cristobal	Chis.	2100	92°38'	16°44'	Serrano
CP-018	Teopisca	Teopisca	Chis.	1800	92°28'	16°32'	Serrano
CP-368	La Antigua	La Antigua	Ver.	50	96°18'	19°22'	Serrano
CP-369	Paso de Milpa	Actopan	Ver.	311	97°37'	19°30'	Serrano
CP-371	Actopan	Actopan	Ver.	311	97°37'	19°30'	Serrano
CP-350	Chapingo	Texcoco	Méx.	2240	98°53'	19°53'	Arbol ¹
CP-351	Chapingo	Texcoco	Méx.	2240	98°53'	19°53'	Piquín ²
CP-352	Chapingo	Texcoco	Méx.	2240	98°53'	19°53'	Arbol ³
CP-353	Chapingo	Texcoco	Méx.	2240	98°53'	19°53'	Arbol ⁴
CP-354	Chapingo	Texcoco	Méx.	2240	98°53'	19°53'	Piquín ⁵
CP-355	Chapingo	Texcoco	Méx.	2240	98°53'	19°53'	Arbol ⁶

** CP = Colegio de Postgraduados.

¹(cp374) x Ser (cp368); ²(cp358) x Ser (cp369); ³(cp376) x Ancho (cp363); ⁴(cp161) x Ser (cp177); ⁵(cp149) x Arb (cp328); ⁶(cp328) x Ser (cp372)

Las muestras se colocaron en una caja petri de 5 cm de diámetro y se les adicionó 0.5 mL de buffer, el tejido se fraccionó finamente con una hoja de afeitar. Enseguida se agregó buffer hasta tener cerca de 3 mL para obtener una suspensión de células, la cual se filtró a través de una malla de nylon con poros de 50 μm de diámetro y se dejó reposar 2 minutos para proceder a su análisis por medio del citómetro de flujo.

Para la estimación del ADN nuclear se empleó el citómetro de Flujo PARTEC II, que cuenta con una combinación de filtros para detectar tinción con el fluorocromo o reactivo de HOESCHT 33342 y con software DPAC v.2 para análisis de datos. En cuanto a la calibración del equipo se fijaron los parámetros siguientes (Leblanc *et al.*, 1995): apertura de canales ("gain") de 422 a 432, flujo de células de 900 a 990 y número de núcleos (tamaño de muestra) de 3000. La medición de la fluorescencia que emitieron los núcleos apareció en el eje de las X de un plano cartesiano, lo cual corresponde a su contenido de ADN; la frecuencia de células con la misma intensidad de fluorescencia se ubicó en el eje de las Y; que graficaron picos del contenido relativo de ADN (intensidad de fluorescencia de los núcleos).

El valor del índice, calculado automáticamente, midió el contenido relativo de ADN nuclear que correspondió al cociente de la división, entre la media de la intensidad de fluorescencia de la muestra (divisor) y la media de fluorescencia del estándar interno o patrón de referencia (dividendo), multiplicado por la cantidad de ADN conocida del estándar. Para la transformación del índice se consideró el valor absoluto de ADN de maíz de 4.75 a 5.63 pg, referidos por Arumuganathan y Earle (1991). Respecto al manejo práctico de las transformaciones se consideró el valor promedio de los valores anteriores (5.19 pg). La mezcla de núcleos de Chile y maíz produjo dos picos, cada uno con su índice respectivo, considerando que el contenido de ADN es diferente. Tanto en maíz como en los tipos de Chile los picos representan la fase G1 del ciclo celular; no se encontraron que representaran la G2 (Michaelson, *et al.*, 1991; Ulrich y Ulrich, 1991).

Análisis estadístico. Mediante el procedimiento GLM de SAS (1988) se llevaron a cabo dos análisis de varianza: a) se tomó como fuente de variación a los tipos de Chile y b) la latitud fue la fuente de variación, para ello se formaron cuatro estratos latitudinales. Cada tipo de Chile y cada uno de estos últimos integrados con número de colectas diferente.

Se utilizó la prueba de Duncan para comparación de medias.

Con las medias del contenido de ADN nuclear obtenidas tanto en tipos de Chile como en latitudes, se calcularon las distancias entre los posibles pares utilizando la distancia euclidiana al cuadrado, con las que se realizó un análisis de agrupamiento para dar origen a un dendograma por el método promedio por grupos (UPGMA).

RESULTADOS Y DISCUSION

El número de cromosomas en los tipos de Chile bajo estudio, tanto de la especie *C. chinense* como los seis tipos y las cruces pertenecientes a *C. annuum*, presentaron un número diploide de cromosomas, $2n=2X=24$ (Figura 1). Mismo que concuerda con los reportados por Eshbaugh (1970); Limaye y Patil (1989); Otha (1962) y Pickersgill (1971; 1997). Dada la gran diversidad morfológica de los tipos de Chile se esperaba que hubiera alteración en el número cromosómico; sin embargo, aunque éste fue constante aún es posible que haya diferencias a nivel de cariotipo, donde podrían encontrarse y observarse variaciones en la cantidad de heterocromatina, frecuencias de ADN repetitivo, deleciones, duplicaciones y/o translocaciones que modifiquen la estructura de los cromosomas.



Figura 1. Cromosomas metafásicos de Chile $2n = 2X = 24$. Barra=10 mm.

Puesto que las colectas de este estudio tienen un número constante de cromosomas, se esperaba que la modificación en la cantidad de ADN nuclear no fuera significativa. En el Cuadro 2 se observa el contenido de ADN en picogramos, el intervalo de latitudes donde se efectuaron las colectas y el coeficiente de variación para cada uno de los tipos.

El contenido de ADN del total de los materiales fue de 9.16 a 10.02 pg. El coeficiente de variación de estas mediciones va de 2.84 a 4.10, lo cual indica que fueron confiables y que

los núcleos se aislaron sin contaminantes y sin sufrir daños por rompimiento de la membrana nuclear.

Cuadro 2. Contenido promedio de ADN en picogramos*, intervalo de latitudes de colecta y coeficiente de variación (CV).

Tipo de chile	Núm. de colectas	Latitud	ADN (pg)	CV (%)
Cora	2	20°-21° 59'	10.02	2.84
Serrano	9	20°-21° 59' 18°-19° 59' 16°-17° 59'	9.39 - 10.02	3.38
Cruzas	6	18°-19° 59'	9.30 - 9.67	4.10
Bolita	8	18°-19° 59'	9.18 - 9.91	3.71
Árbol	8	18°-19° 59'	9.29 - 9.76	3.42
Piquín	10	25°-27° 50' 20°-21° 59' 18°-19° 59'	8.74 - 9.62	3.66
Habanero	6	18°-19° 59'	9.10 - 9.44	3.69
Ancho	2	25°-27° 50'	9.16	2.84

El promedio por tipo se consideró a partir de la media de cada colecta estimada en cinco mediciones de 3,000 núcleos por muestra.

*1 picogramo (pg) = 965 millones de pares de bases. (Cavalier-Smith, 1985; Arumuganathan y Earle, 1991).

Se registraron diferencias estadísticas significativas en el contenido de ADN, pero sin inclinaciones específicas entre o dentro de tipos de chile. También se encontró una tendencia de distribución latitudinal donde se observó un incremento progresivo conforme ésta disminuye, sin importar el tipo de chile colectado (Cuadro 3). Esto probablemente se deba a que una cantidad considerable de ADN se convierta en un gasto energético y metabólico en regiones de latitud progresivamente mayor, donde las condiciones favorables para el crecimiento y la reproducción se presentan por tiempo limitado, por lo que el ciclo de vida celular se acorta a medida que la temperatura (a latitudes mayores) disminuye; además el volumen celular aumenta en la misma proporción que la cantidad de ADN, pero esto ocasiona que la célula presente mayor superficie de exposición y requiera un gasto de energía superior para el mantenimiento de sus actividades metabólicas. Wake *et al.*, (1995) indican que en esas regiones, para adaptarse al ambiente es más importante la expresividad del ADN que su cantidad. Un resultado similar al presente lo obtuvieron Ceccareli *et al.* (1992) cuando estudiaron poblaciones silvestres de *Festuca*, donde el nivel de ploidía se incrementaba progresivamente de norte a sur de Europa.

De acuerdo con la prueba de comparación de medias de Duncan, se observó que el tipo cora es significativamente

Cuadro 3. Promedio de ADN (pg) en los diferentes estratos latitudinales.

Latitud	Promedio (pg)
25° - 27° 59'	9.28
20° - 21° 59'	9.37
18° - 19° 59'	9.53
16° - 17° 59'	9.80

diferente del resto y posee el mayor contenido de ADN; sin embargo, no se descarta la posibilidad de que chiles de este mismo tipo provenientes de otras localidades tengan diferente cantidad. Las divergencias más importantes se reportan entre cora y serrano, así como entre habanero y ancho. Las relaciones existentes entre los tipos se muestran de manera gráfica en el dendograma de la Figura 2, el cual se construyó calculando las distancias euclidianas entre los tipos de chile representados por más de una colecta. Con éstas se realizó un análisis de agrupamiento que dio como resultado la formación de dos grandes grupos. El I compuesto de dos subgrupos: el 1.2 formado por los tipos árbol, cruza y piquín, y el 1.1 por ancho y habanero. El grupo II contiene a los tipos cora y serrano.

No existe un patrón reconocible en este análisis dentro o entre tipos de chile; sin embargo, se observa que el árbol que participó como progenitor en cuatro de las cinco cruza forma un grupo con éstas. El tipo serrano tuvo colectas efectuadas en latitudes semejantes a las del cora, por lo que integra un grupo separado de los demás. El habanero, que corresponde a la especie *C. chinense*, no se disocia de *C. annuum*, lo cual concuerda con lo encontrado por Pickersgill (1971; Pickersgill *et al.*, 1979; 1997); Heiser y Pickersgill (1975); Eshbaugh (1970; 1980) quienes indican que estas dos especies, junto con *C. frutescens*, forman un complejo indistinguible desde el punto de vista morfológico, lo que permitiría suponer semejanza también en el contenido de ADN, circunstancia que se comprueba en este estudio.

Un agrupamiento semejante al que aquí se presenta lo reportan Corona *et al.* (2000, en prensa) cuando estudiaron la diversidad genética de *C. annuum* y *C. chinense* por medio de perfiles isoenzimáticos, en donde los grupos se formaron por apareamiento entre los tipos de chile de igual manera que en esta investigación.

A pesar de que el número cromosómico fue constante en las colectas de las dos especies estudiadas hubo diferencias significativas en la cantidad de ADN, lo cual indica que

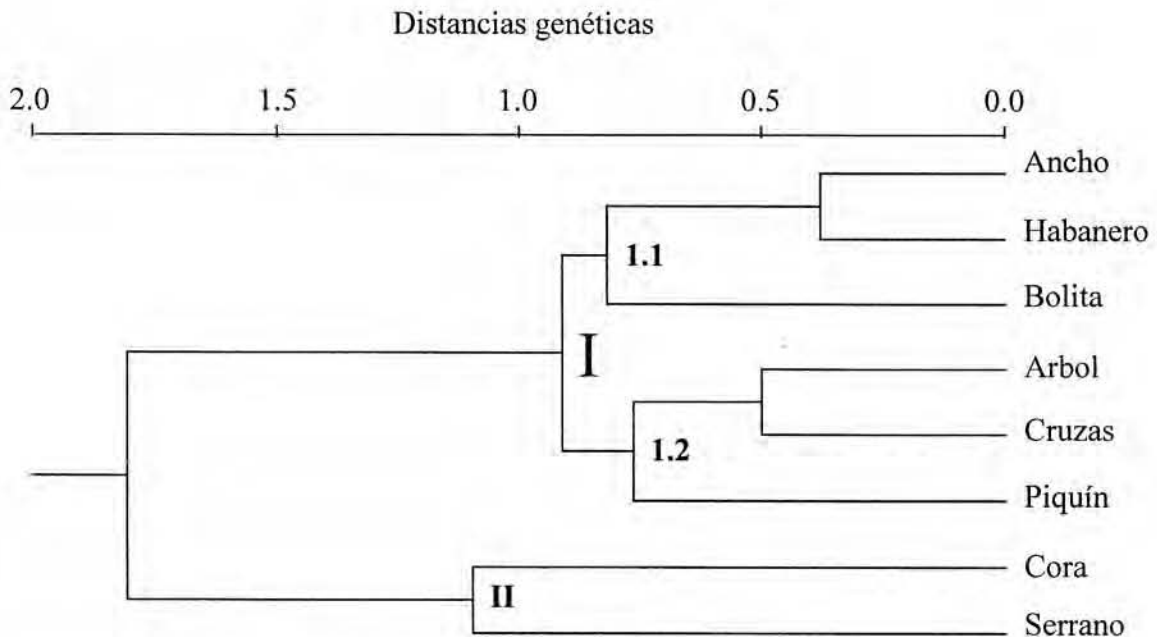


Figura 2. Dendrograma que muestra el agrupamiento de los tipos de Chile.

aunque no se manifieste ningún evento que modifique el número de cromosomas, probablemente existan cambios en la secuencia de bases del ADN (duplicaciones, deleciones y/o translocaciones). La presencia de cualquiera de estos fenómenos puede alterar el tamaño del genoma de los individuos, lo que se refleja en la variación del contenido de ADN, que adopta una distribución latitudinal más que por tipos o especies de Chile, esto sugiere que el clima influye de manera notable en esta característica. Posiblemente la variación en el contenido de ADN de Chile, se relacione con las características ambientales de los hábitats de crecimiento y reproducción de las plantas de Chile.

CONCLUSIONES

1. El contenido de ADN en *C. annuum* se distribuye siguiendo un patrón latitudinal inverso independiente del tipo de Chile.
2. Las relaciones de agrupamiento con base en el contenido de ADN nuclear no muestran tendencias con respecto a los tipos de Chile.
3. Las colectas estudiadas fueron diploides con número cromosómico $2n=24$.

4. No existen diferencias en número cromosómico y contenido de ADN entre *C. annuum* y *C. chinense*.

LITERATURA CITADA

- Arumuganathan, K. and Earle, E. D. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Reporter* 9:208-218.
- Bennett, M. D. 1976. DNA amount, latitude and crop plants distribution. *Environ. Exp. Bot.* 16: 93-135.
- Bennett, M. D.; Smith, J. B. and Smith, R. I. L. 1982. DNA amounts of angiosperms from the antarctic and south Georgia. *Environ. Exp. Bot.* 22(3): 307-318.
- Biradar, D. P. and Rayburn, A. 1983. Intraplant nuclear DNA content variation in diploid nuclei of maize (*Zeamays* L.). *Environ. Exp. Bot.* 44(263):1039-1044.
- Cavaliere-Smith, T. 1985. The evolution of genome size. New York, USA, John Wiley and Sons. 345 p.
- Cavallini, A. and Natali, L. 1991. Intraspecific variation of nuclear DNA content in plant species. *Caryologia* 44:93-107.
- Cavallini, A.; Zolfino, C.; Cionini, G.; Cremonini, R.; Natali, L.; Sassoli, O. and Cionini, P. G. 1986. Nuclear DNA changes within *Helianthus annuus* L.: citophotometric, karyological and biochemical analyses. *Theor. Appl. Genet.* 73:20-26.

- Ceccarelli, M.; Falistocco, E. and Cionini, P. G. 1992. Variation of genome size and organization within hexaploid *Festuca arundinacea*. *Theor. Appl. Genet.* 83:273-278.
- Consejo Nacional Agropecuario. 1998., Estadísticos básicos. México, D. F., Dirección de Estudios Económicos. Sector Agropecuario. p. 87-96.
- Dolezel, J. 1991. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in higher plants. *Phytochem. Ann.* 2:143-154.
- Dolezel, J. 1995. Flow cytometry-principles and applications in mutation breeding-. Practical exercises in flow cytometry. Viena, Austria, 14th IAEA/FAO International Training Course on Advances in Plant Mutation Techniques. (C7-INT-5.135).
- Eshbaugh, W. H. 1970. A biosystematic and evolution study of *Capsicum baccatum* (Solanaceae). *Brittonia* 22:31-43.
- Eshbaugh, W. H. 1980. The taxonomy of the genus *Capsicum* (Solanaceae). *Phytologia* 47:153-166.
- Galbraith, D. W.; Harkins, K. R.; Maddox, J. M.; Ayres, N. M.; Sharma, D. P. and Firoozabady, E. 1983. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. *Science* 220:1049-1051.
- Galbraith, D. W. 1989. Analysis of higher plants by cytometry and cell sorting. *Int. Rev. Cytol.* 116: 165-228.
- García, V. A. 1990. Técnicas y procedimientos de citogenética vegetal. 3a. ed. Montecillo, Texcoco, Edo. de Méx., México, Colegio de Postgraduados. 144p.
- Heiser, C. B. Jr. and Pickersgill, B. 1975. Name for the bird peppers (*Capsicum* Solanaceae). *Baileya* 19: 151-156.
- Leblanc, O.; Dueñas, M.; Hernández, M.; Bello, S.; García, V.; Berthaud, J. and Savidan, Y. 1995. Chromosome doubling in *Tripsacum*: the production of artificial, sexual tetraploid plants. *Plant Breeding* 114:226-230.
- Levin, D. A. and Funderburg, S. W. 1979. Genome size in angiosperms: temperate versus tropical species. *The American Naturalist* 114(6):784-795.
- Limaye, V. A. and Patil, V. P. 1989. Karyomorphological studies in the genus *Capsicum* Linn. *Cytologia* 54:455-463.
- Michaelson, M. J.; Price, H. J.; Ellison, J. R. and Johnston, J. S. 1991. Comparison of plant DNA contents determined by feulgen microspectrophotometry and laser flow cytometry. *Amer. J. Bot.* 78(2): 183-188.
- Otha, Y. 1962. Physiological and genetical studies of the pungency of *Capsicum*, III. Development of *Capsicum* species. *Jap. J. Genet.* 37(1):86-90.
- Ozias-Akins, R. and Jarret, R. L. 1994. Nuclear DNA content and ploidy levels in the genus *Ipomea*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(1):110-115.
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (Genus *Capsicum*). *Evolution* 25:683-691.
- Pickersgill, B.; Heiser, C. B. and McNeill, J. 1979. Numerical taxonomic studies on variation and domestication in some species of *Capsicum*. In: Hawkes, J. G.; Lester, R. N. and Skelding, A. D. (eds.). *The biology and taxonomy of the solanaceae*. London, Academic Press. p. 679-700.
- Pickersgill, B. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica* 96:129-133.
- Pozo, C. O.; Montes, S. y Rendón, E. 1991. Chile (*Capsicum* spp.). In: Ortega, R.; Palomino, G.; Castillo, F.; González, V. A. y Livera, M. (eds.). *Avances en el estudio de los recursos genéticos de México*. Chapingo, Edo. de Méx., México, Sociedad Mexicana de Fitogenética. p. 217-238.
- Price, H. J.; Chambers, K. L. and Bachmann, K. 1981. Genome size variation in diploid *Microseris bigelovii* (Asteraceae). *Bot. Gaz.* 142(1):156-159.
- SAS Institute Inc., 1988. SAS/STAT User's guide, version 6.03. Fourth edition. N. C. USA, SAS Inst. Inc., Cary, p. 173-188, 751-771.
- Ulrich, I. and Ulrich, W. 1991. High-resolution flow cytometry of nuclear DNA in higher plants. *Protoplasma* 165:212-215.
- Valkonen, J. P. T. 1994. Nuclear DNA content of the *Solanum* spp. in the series *Etuberosa* as determined by laser flow cytometry. *Ann. Appl. Biol.* 125:589-600.
- Wake, C. M.; Schaefer, P. R.; Jost, L. K. and Evenson, D. P. 1995. Analysis of intraspecific nuclear DNA content variation in *Gleditsia triacanthos* by flow cytometry. *Can. J. For. Res.* 25:440-445.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su más sincero agradecimiento al personal del Laboratorio de Citogenética del CIMMYT, especialmente al Dr. Daniel Grimanelli por la asesoría brindada en el uso del citómetro de flujo.