

Aplicación de marcadores AFLP para explorar heterosis en *Capsicum* spp.

AFLP marker application to explore heterosis in *Capsicum* spp.

Castañón-Najera G¹, M Ramírez-Meraz³, R Ruiz-Salazar⁴, N Mayek-Pérez²

Resumen. Las variedades de Chile: (1) Mirador, (2) Piquín huasteco, (3) Pico paloma (4) Ozulamero y (5) Chilpaya Tabasco, fueron cruzadas en un dialélico que no incluyó las cruces recíprocas para producir 10 combinaciones híbridas F₁. Mientras las variedades (1), (2) y (4) pertenecen a *Capsicum annuum*, la (3) y la (5) pertenecen a *Capsicum frutescens*. Los cuatro marcadores AFLP usados amplificaron 282 bandas o fragmentos, y de éstos 264 fueron polimórficos. Los parámetros genéticos estimados mostraron que existió dominancia en base a las distancias genéticas obtenidas con los fragmentos de ADN. La heredabilidad estimada en sentido estrecho fue moderada (0,53), lo que manifiesta la presencia de efectos dominantes. El análisis de conglomerados con base en distancias genéticas separó a padres y cruces pertenecientes a *C. annuum* de las de *C. frutescens*, ratificando las diferencias genómicas entre ambas especies. Los resultados encontrados indican que la metodología de Hayman es apropiada para estimar la heterosis y otros parámetros genéticos importantes como la heredabilidad. Sin embargo, en futuros trabajos de investigación en *Capsicum* spp. también sería de utilidad (1) medir caracteres morfológicos, (2) estimar las aptitudes combinatoria general y específica, y (3) analizar en forma conjunta información molecular y morfológica. Estos trabajos contribuirían a seleccionar a los mejores progenitores en un programa de mejoramiento genético para Chile.

Palabras clave: Análisis molecular; Cruzas dialélicas; Epistasis; Dominancia; Especies de Chile.

Abstract. The Chile varieties: (1) Mirador, (2) Piquín huasteco, (3) Pico paloma, (4) Ozulamero and (5) Chilpaya Tabasco were crossed in a diallel without reciprocal crosses to produce 10 F₁ hybrid combinations. While the previous varieties (1), (2) and (4) belong to *Capsicum annuum* varieties, (3) and (5) pertain to *Capsicum frutescens*. The four study AFLP markers amplified 282 bands or fragments, and of these, 264 were polymorphic. The estimated Genetic Parameters showed that there was dominance based on the genetic distances in the study DNA fragments. Heritability, which was estimated in a narrow sense, was moderate (0.53). This indicated the presence of dominant effects. Cluster analysis based on genetic distances separated parents and crosses of *C. annuum* from those of *C. frutescens*, confirming the genomic differences between the two species. Our results indicate that the Hayman methodology is appropriate to estimate heterosis and other important genetic parameters such as heritability. However, future research on *Capsicum* spp. should also (1) measure useful morphological characters, (2) estimate general and specific combining abilities, and (3) analyze simultaneously molecular and morphological information. These works would contribute to select the best parents in a breeding program for Chile.

Keywords: Molecular analysis; Diallel crosses; Epistasis; Dominance; Chile species.

¹ Profesor-Investigador. División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol), Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT). Carretera Villahermosa-Cárdenas, Km 0.5 Entronque Bosques de Saloya, Villahermosa, Tab., México. C.P. 86000, Tel. / Fax 055-993-3-54-43-08.

² Profesor-Investigador. Centro de Biotecnología Genómica (CBG), Instituto Politécnico Nacional (IPN). Boulevard del Maestro S/N, Col. Narciso Mendoza, Reynosa, Tam, México.

³ Investigador Titular. Campo Experimental Las Huastecas, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Villa Cuauhtémoc, Tampico, Tam.

⁴ Doctorando. Centro de Biotecnología Genómica (CBG), Instituto Politécnico Nacional (IPN). Boulevard del Maestro S/N, Col. Narciso Mendoza, Reynosa, Tam, México

Address Correspondence to: Prof. Guillermo Castañón-Nájera, e-mail: guillermo_rasputin956@hotmail.com

Recibido / Received 14.IX.2010. Aceptado / Accepted 25.III.2011.

INTRODUCCIÓN

Entre los cultivos hortícolas de mayor demanda e importancia económica a nivel mundial se encuentra el chile (*Capsicum* spp.). Éste es uno de los géneros más valiosos de la familia Solanaceae. La explotación de la heterosis se ha reconocido como una herramienta práctica que provee a los mejoradores de un medio para incrementar el rendimiento u otros caracteres económicos importantes (Seneviratne y Kannangara 2004). Sin embargo, el chile ha sido pobremente estudiado tanto genética como molecularmente comparado con otros cultivos (Kochieva y Ryzhova, 2003). Después del año 2000 se le dio importancia a la producción de híbridos de chile con caracteres comerciales importantes en México. Algunos ejemplos lo constituyen el de vida de anaquel (Martínez et al., 2005), y estudios de (1) la heterosis del rendimiento y calidad de fruto (Pérez-Grajales et al., 2009), (2) el contenido de capsaicinoides, vitamina C y heterosis durante el desarrollo del fruto (Cruz-Pérez et al., 2007), y (3) estimación de distancias genéticas entre líneas mejoradas de chile verde usando marcadores RAPDs y su relación con la heterosis (García et al., 2002). Por lo tanto, es imprescindible identificar los grupos heteróticos de chile que puedan existir a nivel intra e interespecífico mediante la aplicación de técnicas moleculares. Diferentes trabajos de investigación reportan estudios de heterosis y habilidad combinatoria general usando técnicas moleculares o cultivos de anteras en cultivos de maíz (Xin et al., 2010), girasol (Gvozdencovic et al., 2009), trigo (Sun et al., 1997), tabaco (Conner et al., 1998) y arroz (Quimio y Zapata, 1990).

La técnica molecular descrita por Vos et al. (1995) denominada AFLP (polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados) se considera una de las más rápidas y de menor costo. Esta técnica se basa en la amplificación selectiva de fragmentos de restricción digeridos a partir del ADN genómico total utilizando la PCR (Polymerase Chain Reaction). Los AFLPs pueden producir patrones de complejidad variada de acuerdo al tipo de enzimas de restricción y la longitud de los iniciadores usados en la PCR. De acuerdo con Paran et al. (1998), los AFLP son marcadores que segregan de forma mendeliana, igual que los RFLP. Sin embargo, los RFLP no logran detectar la cantidad de *loci* polimórficos que se pueden encontrar mediante la técnica de AFLP.

El propósito del presente trabajo fue determinar si el análisis de los patrones de AFLP puede ser útil para estimar la heterosis y las distancias genéticas entre los padres y sus cruzas procedentes de un cruzamiento dialélico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las variedades de chile: Mirador, Piquín huasteco y Ozulamero de *Capsicum annuum*, y Pico paloma y Chilpaya Tabasco, de *Capsicum frutescens* se usaron como padres en un cruzamiento dialélico sin cruza recíprocas. Dicho trabajo se realizó en noviembre de 2008 en El Campo Experimental Las

Huastecas (CEHUAS), que pertenece al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) (22° 33' 59" N, 98° 09' 49" O, 60 msnm). El clima es cálido subhúmedo; la temperatura media anual es de 24,5 °C, la máxima es de 32 a 50 °C en abril, y la mínima es de 3 a 10 °C en diciembre y enero. El CEHUAS se encuentra en la región Huasteca en el oriente de la República Mexicana. De cinco plantas de cada material (padres y cruza) se cortaron las hojas jóvenes; de éstas se tomaron tres muestras individuales de 0,5 g de tejido que se maceraron en nitrógeno líquido (-196 °C) para extraer el ADN genómico (Dellaporta et al., 1983). La concentración de ADN_g extraído se cuantificó utilizando un espectrofotómetro Jenway 6305® UV/vis a 260 nm de absorbancia. La calidad del mismo se verificó después de realizada la electroforesis de 5 µg de ADN en un gel de agarosa a 1% (p/v) con amortiguador TAE (40 mM Tris-acetato, pH 7,6; 1 mM Na₂EDTA) durante 2 h a 80 V. El tñido se efectuó con bromuro de etidio (0,5 mg/mL).

En el análisis genético de padres y sus cruza se usaron marcadores moleculares tipo AFLP (polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados). En una prueba preliminar se evaluaron seis combinaciones de marcadores moleculares (M) o iniciadores (Tabla 1), pero las combinaciones M₁ y M₃ no dieron buena amplificación. Como resultado, sólo se usaron las cuatro restantes (M₂, M₄, M₅ y M₆). Los fragmentos de AFLP amplificados se separaron por electroforesis en gel de acrilamida al 6,5% (Vos et al., 1995). Para ello se usó el estuche comercial

Tabla 1. Secuencias de los oligonucleótidos adaptadores e iniciadores usados en la caracterización de padres y cruza de chile con marcadores AFLP.

Table 1. Sequences of oligonucleotide adapters and primers used in the characterization of parents and crosses of chilli with AFLP markers.

Adaptador	EcoRI	5'- CTCGTAGACTGCGTACC - 3'
		3'- CTGACGCATGGTTAA - 5'
Amplificación pre-selectiva	MseI	5'- GACGATGAGTCCTGAG - 3'
		3'- TACTCAGGACTCAT - 5'
	EcoRI	5' - AGACTGCGTACCAATTC/A - 3' + A
	MseI	5'- GACGATGAGTCCTGAGTAA/A - 3' + C
Amplificación selectiva	EcoRI	5'- AGACTGCGTACCAATTC - 3' + AAG
	MseI	5'-GACGATGAGTCCTGAGTAA - 3' + CAG
	EcoRI	5'- AGACTGCGTACCAATTC - 3' + ACG
	MseI	5'-GACGATGAGTCCTGAGTAA - 3' + CAG
	EcoRI	5'- AGACTGCGTACCAATTC - 3' + AAG
	MseI	5'-GACGATGAGTCCTGAGTAA - 3' + CAA
	EcoRI	5'- AGACTGCGTACCAATTC - 3' + ACG
	MseI	5'-GACGATGAGTCCTGAGTAA - 3' + CAA
	EcoRI	5'- AGACTGCGTACCAATTC - 3' + ACT
	MseI	5'-GACGATGAGTCCTGAGTAA - 3' + CTG
	EcoRI	5'- AGACTGCGTACCAATTC - 3' + AGG
	MseI	5'-GACGATGAGTCCTGAGTAA - 3' + CTG

IRDye™ Fluorescent AFLP® Kit for Large Plant Genome Analysis (LI-COR®). La separación de los fragmentos amplificados se realizó en un sistema de secuenciación semiautomática IR² (modelo 4200-029; LI-COR®; Lincoln, NE, EUA). Las bandas se identificaron en forma visual, generándose una matriz binaria (ausencia: 0; presencia: 1) producidas por un iniciador.

Análisis estadístico. En la matriz binaria de fragmentos de AFLP, cada banda se consideró como un *locus*; cada banda presente correspondió a un alelo, y su ausencia al alelo alternativo. Se estimó el nivel de polimorfismo en padres y cruza, detectado por los marcadores evaluados. Los datos de bandas o fragmentos de AFLP fueron analizados utilizando un análisis de varianza combinado (ANAVA).

El cálculo de las distancias genéticas se realizó con el método de Dice (Nei y Li, 1979), que se estima como:

$$\frac{2a}{(2a + b + c)}$$

este coeficiente es la relación del número de bandas coincidentes (entre dos individuos) respecto al número total de bandas (promedio de bandas en un individuo). Este coeficiente cuenta el porcentaje de bandas compartidas entre dos individuos y le da más importancia a aquellas bandas presentes en ambos. El método considera que la ausencia de una banda tiene menor importancia biológica. De esta manera, este coeficiente tiene un significado completo en función de la similitud del ADN. El método Dice es el único coeficiente que posee significado biológico ya que expresa la probabilidad de que una banda en un individuo esté también en otro. El dendrograma para comparar la relación entre padres y cruza se generó con los programas Freetree y Treeview (Page, 1996); el re-muestreo (bootstrap) fue de 1000 (Hampl et al., 2001).

El análisis para estimar la heterosis en base a las bandas o fragmentos de ADN, se realizó siguiendo a Singh & Chaudhary (1977), Jinks y Hayman (1953) y Hayman (1954). Este análisis permite una rápida estimación general de las relaciones genéticas entre los padres involucrados en el análisis dialélico. Tanto el ANAVA como el de estimación de la heterosis se realizaron con el programa estadístico SAS (Sistema de Análisis Estadísticos V9 2004).

RESULTADOS

Los cuatro marcadores usados en esta investigación amplificaron 282 bandas (Tabla 2), de las cuales 264 (93,62%) fueron polimórficas y solamente 18 monomórficas. Los iniciadores EcoRI + ACT / MseI + CTG o EcoRI + AGG / MseI + CTG amplificaron el mayor (87), y el menor (48) número de fragmentos, respectivamente. El iniciador EcoRI + ACG / MseI + CAG generó el menor polimorfismo (87,43%), en tanto que EcoRI + ACG / MseI + CAA exhibió el mayor polimorfismo (98,70%).

En el análisis de varianza combinado (Tabla 3) con las bandas de AFLP se encontraron diferencias ($p \leq 0,01$) entre Marcadores (M), Padres y Cruzas (PC), y la interacción Marcadores x Padres

y Cruzas (M x PC). La suma de cuadrados de cada una de las fuentes de variación mencionadas absorbieron en el mismo orden el 9,32%, 12,75%, y 29,15% de la varianza total, respectivamente.

Tabla 2. Combinación de iniciadores, número total de bandas, número y porcentaje de bandas polimórficas, y número de bandas monomórficas detectadas en padres y cruza de Chile.

Table 2. AFLP primer combination, total number of bands, number and percentage of polymorphic bands, and number of monomorphic bands detected in parents and crosses of chilli.

Combinación de Iniciadores	Número de bandas			Polimorfismo (%)
	Total	Polimórficas	Monomórficas	
EcoRI + ACG / MseI + CAG	70	61	9	87,43
EcoRI + ACG / MseI + CAA	77	76	1	98,70
EcoRI + ACT / MseI + CTG	87	85	2	97,70
EcoRI + AGG / MseI + CTG	48	42	6	87,50
Total	282	264	18	
Promedio	70,5	93,62	4,5	92,83

Tabla 3. Análisis de varianza combinado de marcadores AFLP.
Table 3. Combined analysis of variance from AFLP markers.

Fuente de Variación	G.L.	Cuadrados medios	Fc
Marcadores (M)	3	1026,02	7,43 **
Padres y Cruzas (PC)	14	300,88	2,18 **
R(M)	8	82,56	0,60 ns
M x PC	42	229,29	1,66 **
EE	112	138,01	
CV (%)		33,64	

G.L.=Grados de Libertad; Fc=F calculada; R(M)=Repetición anidado en marcadores; CV=Coefficiente de variación.

*, **, ns= significativo a $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ y no significativo, respectivamente.

G.L.=Degrees of freedom; Fc=Calculated F values; R(M)=Replication nested in markers; CV=Coefficient of variation.

*, **, ns= significant to $p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$ and non-significant, respectively.

Los componentes de varianza estimados (Tabla 4) con el análisis de heterosis por el método de Hayman (1954) indicaron que los parámetros D (15,01; efectos aditivos); H₁ (33,39; efecto de dominancia de los genes); y H₂ (30,39; proporción de genes positivos y negativos en los padres) y H² (50,60; efecto de dominancia) fueron significativos. El resto de los componentes de variación: F (-7,07; covarianza de efectos aditivos y dominantes), y coeficientes de regresión (β , $\beta=0$, $\beta=1$) estimados fueron no significativos. El modelo del análisis dialélico propuesto por los autores citados anteriormente, indica la presencia de epistasis si un coeficiente de "β" es diferente de 1.

En nuestro estudio no se detectó epistasia debido a que $\beta=0$ y $\beta=1$ fueron no significativos. Es decir, fueron más importantes los efectos de dominancia ($\sqrt{\frac{H_1}{D}}=1,49$ y $H^2=50,60$). El resto

de los componentes de la varianza estimados presentaron valores intermedios (Tabla 4), entre ellos h^2 (heredabilidad en sentido estrecho) con 0,53.

Los valores de distancias genéticas (DG) estimados son suficientemente grandes (Tabla 5). Los valores más bajo y más alto obtenidos para padres y sus cruzas fue de 0,383 (cruzas 1x5 con 4x5) y 0,883 (padre 4 con la craza 1x4), respectivamente. Esto indica que el genoma de los padres y sus cruzas no está muy conservado.

Tabla 4. Componentes de variación estimados con las bandas AFLP.
Table 4. Variation components estimate with AFLP bands.

Parámetro	Significado	Valor del parámetro
D	Efectos aditivos	15,01 ± 6,05 **
F	Covarianza de efectos aditivos y dominantes	-7,07 ± 15,11 ns
H_1	Efecto de dominancia de los genes	33,39 ± 16,34 **
H_2	Proporción de genes positivos y negativos en los padres	30,39 ± 14,82 **
$\sqrt{\frac{H_1}{D}}$	Grado medio de dominancia	1,49
H^2	Efecto de dominancia	50,60 ± 10,00 **
$\frac{H_2}{4H_1}$	Proporción de genes con efecto positivo y negativo en los padres	0,23
h^2	Heredabilidad en sentido estrecho	0,53
$\frac{h^2}{H_2}$	Grupo de genes que controlan el carácter y exhiben dominancia	1,67
$\overline{Y_D}$	Valor medio del padre completamente dominante	62,70
$\overline{Y_R}$	Valor medio del padre completamente recesivo	13,74
β		0,68 ns
$H_0 : \beta = 0$	Modelo aditivo-dominante	0,88 ns
$H_1 : \beta = 1$	Modelo Epistático	0,42 ns

ns=no significativo; ** Significativo a $p=0,05$. La significancia se estimó de acuerdo con Singh y Chaudhary (1977: el valor de cada parámetro dividido por su error estándar debe ser mayor que 1,96). ns=non-significant; ** Significant at $p=0,05$. Significance was estimated following Singh & Chaudhary (1977: the value of each parameter divided by its standard error must be greater than 1.96).

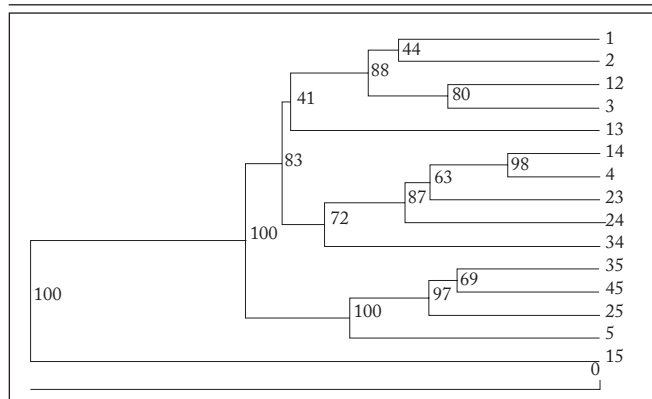
En el dendrograma generado con las distancias genéticas del análisis de las 282 bandas por el método UPGMA (Fig. 1) se muestran las relaciones genéticas entre padres y sus cruzas. En la Fig. 1, se puede observar la formación de cuatro grupos, con diferentes subgrupos cada uno de ellos. El cluster A lo formaron los subgrupos: padres 1 y 2; la craza 1x2 y el padre 3, y la craza 1x3. El grupo B estuvo conformado por la craza 1x4 y el padre 4, y las cruza 2x3, 2x4, y 3x4: cada una formó un subgrupo o cluster. En los tres subgrupos que formaron el grupo C, participó el progenitor 5 (Chilpaya Tabasco), el cual pertenece a *Capsicum frutescens*, y el grupo D lo formó solo la craza 1x5. La credibilidad dada por el análisis de robustez de cada uno de los grupos fue aceptable (41% para el grupo A, 72% para el grupo B, y 100% para el C).

DISCUSIÓN

Excepto por el porcentaje de poliformismo, el número de bandas o fragmentos encontrados en nuestra investigación fue muy similar a lo reportado por Kochieva y Ryzhova (2003). El alto polimorfismo encontrado en la presente investigación coincide con lo reportado por Nyree et al. (2002) en Cohosh Negro, y Shaun y Henning (2005) en lúpulo, y es posible que se haya debido a la diversidad del material usado como progeni-

Fig. 1. Dendrograma de relaciones de distancias genéticas basado en marcadores de AFLP entre padres y sus cruza F_1 de chile, 1 (Mirador), 2 (Piquín huasteco), 3 (Pico paloma), 4 (Ozulamero) y 5 (Chilpaya Tabasco), 1 x 2 (Mirador x Piquín huasteco), 1 x 3 (Mirador x Pico Paloma), 1 x 4 (Mirador x Ozulamero), 1 x 5 (Mirador x Chilpaya Tabasco), 2 x 3 (Piquín huasteco x Pico paloma), 2 x 4 (Piquín huasteco x Ozulamero), 2 x 5 (Piquín huasteco x Chilpaya Tabasco), 3 x 4 (Pico paloma x Ozulamero), 3 x 5 (Pico paloma x Chilpaya Tabasco), 4 x 5 (Ozulamero x Chilpaya Tabasco). Los números en las ramas corresponden a los valores bootstrap (1000 repeticiones).

Fig.1. Dendrogram of relations from genetic distances based on AFLP markers between parents and F_1 crosses of chili, 1 (Mirador), 2 (Piquín huasteco), 3 (Pico paloma), 4 (Ozulamero) and 5 (Chilpaya Tabasco), 1 x 2 (Mirador x Piquín huasteco), 1 x 3 (Mirador x Pico Paloma), 1 x 4 (Mirador x Ozulamero), 1 x 5 (Mirador x Chilpaya Tabasco), 2 x 3 (Piquín huasteco x Pico paloma), 2 x 4 (Piquín huasteco x Ozulamero), 2 x 5 (Piquín huasteco x Chilpaya Tabasco), 3 x 4 (Pico paloma x Ozulamero), 3 x 5 (Pico paloma x Chilpaya Tabasco), 4 x 5 (Ozulamero x Chilpaya Tabasco). Numbers on branches correspond to bootstrap values (1000 replicates).



tores, ya que éstos pertenecen tanto a *C. annuum* (tres padres) como a *C. frutescens* (dos padres). El grado de polimorfismo detectado en esta investigación es mayor que el reportado de AFLP por Kochieva y Ryzhova (2003) en Chile, y Xin et al. (2010) en maíz. Esta discrepancia es posible que se deba al tipo de iniciadores, a la especie, y a los cultivares estudiados dentro de cada especie en los diferentes trabajos de investigación.

La obtención del alto polimorfismo observado en esta investigación se debió muy probablemente a los iniciadores usados. Kizhakkayil et al. (2008) encontraron niveles de polimorfismo hasta del 100% para algunos de sus 21 iniciadores usados en pimienta negra; el porcentaje más bajo de polimorfismo en su trabajo fue del 50% con uno de los iniciadores. El bajo polimorfismo detectado por los iniciadores M₂ y M₆ se puede deber a que los padres involucrados en el cruzamiento dialélico compartieron una porción grande de su genoma y lo transfirieron a su prole o cruza (Brown, 2002).

Las diferencias encontradas en las tres principales fuentes de variación del ANAVA pueden interpretarse como una respuesta diferencial de padres y cruza a los marcadores usados en el estudio. Esto indica la presencia de considerable variación genética entre los materiales usados en la evaluación. Estos resultados coinciden respecto a la variable genotipos a los reportados por Peng y Hodges (1989) en su estudio de heterosis para regeneración de callos en arroz. El coeficiente de variación (CV=33,64%) indicó que hubo gran diferencia entre las repeticiones y los marcadores. Este resultado se contrapone a lo reportado por Lassaga et al. (2004) en un dialélico de linaza en el que se estimó la formación de callos mediante cultivo de anteras; estos autores obtuvieron un bajo coeficiente de variación (CV=8,03%) para la formación de callos.

Los componentes de varianza para la variable analizada (fragmentos o bandas de ADN) son aceptables. La mayoría de los parámetros reportados por Singh y Chaudhary (1977) para rendimiento de grano en maíz superaron a los estimados en su trabajo. Es posible que ello se haya debido a la especie y a la variable analizada en cada investigación. Nuestras consideraciones se reafirman con lo reportado por Sun et al. (1997) para trigo. Estos autores, que utilizaron RAPDs para estudiar la heterosis, hallaron mayor divergencia genética entre las F₁ resultantes de trigos spelet y trigo común, y entre Tibetan idem y trigo común, que entre trigos de primavera e invierno.

Kochieva y Ryzhova (2003) informaron una alta conservación para el genoma de los cultivares de *Capsicum* que evaluaron. Esto se debió a que las distancias genéticas fueron muy pequeñas (0,021 a 0,072). Sin embargo, éstas se pueden romper mediante recombinación de genomas de diferentes tipos. Esto fue lo que sucedió y se observó en nuestra investigación, en donde las distancias genéticas fueron mayores a las arriba anotadas. Posiblemente esto se debió a que el germoplasma usado como padres pertenece a dos especies diferentes de Chile. La predicción del comportamiento híbrido en base a distancia genética determinada mediante marcadores moleculares no es fácil: como se mostró en la Fig. 1, hubo formación de subgrupos entre padres y cruza en las que influyó la especie a la que éstos pertenecen.

CONCLUSIONES

El análisis molecular con AFLP demostró ser de utilidad para estimar la heterosis en Chile, ya que se detectó alto nivel de polimorfismo en el material evaluado. Las distancias genéticas en base a los fragmentos de ADN obtenidos con marcadores

Tabla 5. Distancias genéticas (DG) entre padres y cruza estimadas mediante el coeficiente de Dice.
Table 5. Genetic distances (GD) between crosses and parents estimated with the Dice coefficient.

	1	12	13	14	15	2	23	24	25	3	34	35	4	45	5
1		0,731	0,605	0,616	0,452	0,760	0,581	0,563	0,602	0,674	0,635	0,552	0,643	0,537	0,557
12			0,643	0,709	0,510	0,787	0,632	0,652	0,691	0,814	0,623	0,594	0,715	0,625	0,616
13				0,712	0,439	0,658	0,654	0,639	0,631	0,716	0,570	0,595	0,667	0,615	0,555
14					0,482	0,684	0,774	0,772	0,717	0,731	0,681	0,629	0,883	0,662	0,624
15						0,442	0,453	0,438	0,444	0,446	0,430	0,398	0,488	0,383	0,421
2							0,584	0,625	0,658	0,731	0,651	0,613	0,684	0,596	0,601
23								0,734	0,591	0,629	0,624	0,534	0,815	0,554	0,532
24									0,670	0,678	0,733	0,607	0,796	0,642	0,603
25										0,706	0,631	0,779	0,667	0,807	0,732
3											0,606	0,639	0,710	0,673	0,619
34												0,612	0,711	0,593	0,599
35													0,615	0,824	0,703
4														0,619	0,603
45															0,697
5															

moleculares para padres y su progenie, separó en forma bien definida al germoplasma de acuerdo a la especie a la que pertenecen (padres y sus cruza) tanto para *C. annuum* como para *C. frutescens*. Esto reafirma las diferencias genómicas entre ambas especies. La metodología de Hayman fue apropiada para estimar la heterosis y demás parámetros calculados con este procedimiento. Sin embargo, en futuros programas de mejoramiento genético para chile sería de gran utilidad (1) medir caracteres morfológicos como altura de planta, número de frutos por planta, tamaño de fruto, y (2) estimar aptitud combinatoria general y específica para rendimiento total de fruto.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haber proporcionado el apoyo económico para realizar la estancia sabática a G. Castañón-Nájera. A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) por permitir ausentarme un año de mis labores Académicas y de Investigación. Se agradece la asesoría técnica para el desarrollo de este trabajo a la M.C. Sanjuana Hernández-Delgado (CBG-IPN). Al IPN (proyecto SIP 20100027) por el financiamiento de este estudio.

REFERENCIAS

- Brown, T.A. (2002) Genomes. 2nd ed. Bios Scientific Publisher. New York, USA. pp. 483-505.
- Conner, A.J., L.C. Paul Leizer, L. Mlynárová, W.J. Stiekema y J.P. Nap (1998). Evaluation of diallel analysis using β -glucuronidase activity from transgenes in *Nicotiana tabacum*. *Euphytica* 102: 161-168.
- Cruz-Pérez, A.B., V.A. González-Hernández, R.M. Soto-Hernández, M.A. Gutiérrez-Espinosa, A.A. Gardea-Béjar y M. Pérez-Grajales (2007). Capsaicinoides, vitamina C y heterosis durante el desarrollo del fruto de chile manzano. *Agrociencia* 41: 627-635.
- Dellaporta, S.L., T. Woods y J.B. Hicks (1983). A plant DNA miniprep. Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1: 19-21.
- García, B.F., G.E. Salinas G, O. Pozo C, H. Reyes V, M. Ramírez M, J.A. López S, M. Aguirre B. y O. Salazar S (2002). Estimation of genetic distances among green pepper and its relationship with heterosis. Proceedings of the 16th International Pepper Conference Tampico, Tamaulipas, México. November 10-12.
- Gvozdenović S., D. Saftić P., S. Jocić y V. Radić (2009). Correlation between heterosis and genetic distance based on SSR markers in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Agricultural Sciences* 54: 1-10.
- Hapl, V., A. Pavlíček A y J. Flegr (2001). Construction and bootstrap analysis of D fingerprinting-based phylogenetic trees with the freeware program Freetree: application to trichomonad parasites. *International Journal of Systemic Ecology and Microbiology* 51: 731-735.
- Hayman, B.I. (1954). The theory and analysis of the diallel crosses. *Genetics* 39: 796-809.
- Jinks, J.L. y B. I. Hayman (1953). The analysis of diallel crosses. *Maize Genetics Coop. Newsletter* 27: 48-54.
- Kizhakkayil, J., E. Thomas y B. Sasikumar (2008). Molecular characterization of traded black pepper (*Piper nigrum* L.) from India, Indonesia, Vietnam and Malasia. *Indian Journal of Biotechnology* 7: 210-213.
- Kochieva, E.Z. y N.N. Ryzhova (2003). Molecular AFLP Analysis of the Genotypes of Pepper *Capsicum annuum* Cultivars. *Molecular Genetics* 39: 1345-1348.
- Lassaga, S.L., E.L. Camadro, M.L. Bonell y P. Franzone (2004). Diallel analysis of callus formation ability in linseed anther culture. *Plant Breeding* 123: 502-504.
- Martínez, Z.G., J.R.A. Dorantes G, M. Ramírez M, A. de la Rosa L, y O. Pozo C (2005). Efectos genéticos y heterosis en la vida de anaquel del chile serrano. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28: 327-332.
- Nei, M. y W.H. Li (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 76: 5269-5273.
- Nyree, J., C. Zerega, S. Mori, Ch. Lindqvist, Q. Zheng y T.J. Montley (2002). Using Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) to Identify Black Cohosh (*Actaea racemosa*). *Economy Botany* 56: 154-164.
- Paran, I., E. Aftergoot y Ch. Shiffriss (1998). Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and AFLP markers. *Euphytica* 99: 167-173.
- Page, R.D.M. (1996). FreeTree, TreeView: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.
- Peng, J. y T.K. Hodges (1989). Genetic analysis of plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 25: 91-94.
- Pérez-Grajales, M., V.A. González-Hernández, A. Peña-Lomelí, y J. Sahagún-Castellanos (2009). Combining ability and heterosis for fruit yield and quality in manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R & P) landraces. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15: 47-55.
- Quimio, C.A. y F.J. Zapata (1990). Diallel analysis of callus induction and green-plant regeneration in rice anther culture. *Crop Science* 30: 188-192.
- SAS Institute (2004). SAS/IML User's Guide, Versión 6.12 Ed. Cary, NC: SAS Institute. USA. 1943 p.
- Seneviratne, K.G.S. y K.N. Kannangara (2004). Heterosis, heterobeltiosis and commercial heterosis for agronomic traits and yield of chilli (*Capsicum annum* L.). *Annals of the Sri Lanka Department of Agriculture* 6: 195-201.
- Singh, R.K. y B.D. Chaudhary (1977). Biometrical Methods in Quantitative Genetic Analysis. Kalyani Publishers, New Delhi, pp. 102-121.
- Shaun, M.T. y J.A. Henning (2005). Potential heterotic groups in hop as determined by AFLP analysis. *Crop Science* 45: 1901-1907.
- Sun, Q., Z. Ni, Z. Liu, J. Gao y T. Huang (1997). Use of RAPD markers to identify divergent heterotic groups and improve the heterosis of hybrid wheat. The Genetic and Exploitation of Heterosis in Crops. Book of Abstracts. An International Symposium, 17-22 August, México, City, México. pp. 68-69.
- Vos, P., Hogers, R., M. Bleeker, M. Reijers, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper y M. Zabeau (1995). AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4405-4414.
- Xin, Q., J.N. Kimatu, Z. Li, L. Jiang, Y. Cui y B. Liu (2010). Heterotic analysis using AFLP markers reveals moderate correlations between specific combining ability and genetic distance in maize inbred lines. *African Journal of Biotechnology* 9: 1568-1572.