

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



POTENCIAL FISIOLÓGICO DE LA SEMILLA Y DIVERSIDAD DE FRUTO DEL
CHILE PIQUÍN (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*)

Tesis

Que presenta JUAN SAMUEL GUADALUPE JESÚS ALCALÁ RICO
como requisito parcial para obtener el Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN
RECURSOS FITOGENÉTICOS PARA ZONAS ÁRIDAS

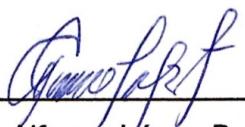
Saltillo, Coahuila

Diciembre 2019

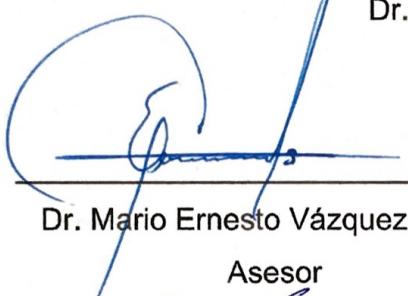
POTENCIAL FISIOLÓGICO DE LA SEMILLA Y DIVERSIDAD DE
FRUTO DEL CHILE PIQUÍN (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*)

Tesis

Elaborada por JUAN SAMUEL GUADALUPE JESÚS ALCALÁ RICO como
requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Recursos
Fitogenéticos para Zonas Áridas con la supervisión y aprobación del Comité de
Asesoría


Dr. Alfonso López Benítez

Asesor Principal


Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo

Asesor


Dr. Miguel Ángel Pérez Rodríguez

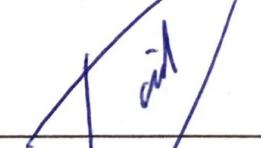
Asesor


Dra. Francisca Ramírez Godina

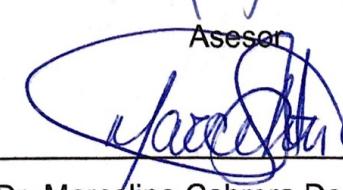
Asesor


Dr. Sergio Alfredo Rodríguez Herrera

Asesor


Dr. David Sánchez Aspeytia

Asesor


Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente

Subdirector de postgrado

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2019

Agradecimientos

A Dios. Por permitirme vivir y guiarme en el camino del bien; por permitir cumplir una meta más en mi vida y darle una satisfacción más a mi familia; también por estar conmigo en todo momento y darme la fortaleza y salud.

A mi “Alma Terra Mater”, la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”. Por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de Doctorado a través del Departamento de Fitomejoramiento. Por su ayuda en el crecimiento personal y académico que me servirá por el resto de mi vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios de postgrado.

Al Dr. Alfonso López Benítez. Por su apoyo, motivación, tiempo, dedicación, paciencia y su amplio conocimiento que me brindó para realizar exitosamente éste trabajo e influir en mi superación personal.

Al Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo. Por creer en mí, también por su apoyo brindado en todo momento en la realización y revisión de este trabajo.

Al Dr. Miguel Ángel Pérez Rodríguez. Por las aportaciones recibidas en la realización y revisión de este trabajo, gracias por sus sugerencias.

A la Dra. Francisca Ramírez Godina. Por su enseñanza, confianza, sugerencias, experiencia compartida, dedicación y revisión de este trabajo.

Al Dr. Sergio Alfredo Rodríguez Herrera. Por brindarme su conocimiento y su apoyo cuando se presentaban adversidades, agradezco también su sinceridad, humildad y todo el apoyo que me brindó para realizar este trabajo.

Al Dr. David Sánchez Aspeytia. Por sus consejos, gentileza y su tiempo que me sirvieron de guía para realizar correctamente la investigación.

A las secretarias Erika y Lupita. Por su gentileza y apoyo administrativo.

Al trabajador de campo. José por su amistad y colaboración en el trabajo de campo, aportando sabiduría a mi vida.

A mis Amigos y Compañeros de Generación: Julio, Israel, Elías, Chuy, Adriana, Mirna, Bulmaro, Dreyli, Gayosso, Ángel, Jorge, Pilar, Diego Emanuel, Diego por el apoyo, el buen equipo y las experiencias vividas y compartidas.

Dedicatoria

A mis padres

Prof. Juan Samuel Alcalá Gutiérrez

Sra. Ana María Rico Rocha

Por haberme dado la vida, así como su amor infinito, cariño y consejos. Por todo el apoyo, consejos, fortaleza y motivación que me han brindado siempre. Por el cariño incondicional que me han otorgado en toda mi vida. Que dios los bendiga y los cuide.

A mis hermanos

Zuleyma Yoatzin Alcalá Rico

Alexis Javier Alcalá Rico

Por su apoyo incondicional que me han brindado siempre y todos los momentos felices que hemos vivido juntos y por todo su cariño, confianza.

A mi esposa

América García Gordillo

Por su gran apoyo y por estar conmigo en las buenas y en las malas, me ha acompañado en los momentos de felicidad para festejar y en los momentos de tristeza para consolarme. Por el gran amor comprensión y apoyo que me ha brindado para terminar mis estudios profesionales.

A mi hija

América Denisse Alcalá García

Por darme la dicha de ser padre, por ser mi motor para impulsarme a luchar por lo que más quiero. Te amo y daré todo lo que pueda para que nunca te falte nada. Por todos los momentos felices y por todo su cariño.

En general a la familia Alcalá y Rico

Por su apoyo y sabios consejos, por estar conmigo en todo momento y el cariño que me ha brindado, les dedico con mucho cariño este trabajo y donde quiera que esté siempre estarán conmigo.

**El presente trabajo fue derivado del proyecto No. 38111-425105001-2134:
“Caracterización y efectos genéticos de accesiones sobresalientes en
germoplasma de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare* L.)”, de la
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.**

Carta de aceptación de los artículos

[Agronomy] Manuscript ID: agronomy-512390 - Accepted for Publication

Leah Lu <leah.lu@mdpi.com>

Dom 16/06/2019 08:00 PM

Para: Juan Samuel Guadalupe Jesús Alcalá Rico <alcalasamuel@outlook.com>
CC: Alfonso López-Benítez <alfopezbe_2000@hotmail.com>; Mario Ernesto Vázquez-Badillo <marioe.vazquez@hotmail.com>; David Sánchez-Aspeytia <aspeytia.david@inifap.gob.mx>; Sergio Alfredo Rodríguez-Herrera <serroh90@hotmail.com>; Miguel Ángel Pérez-Rodríguez <miguel_cbg@hotmail.com>; Francisca Ramírez-Godina <godramf@gmail.com>; Agronomy Editorial Office <agronomy@mdpi.com>; Leah Lu <leah.lu@mdpi.com>

Dear Dr. Alcalá Rico,

We are pleased to inform you that the following paper has been officially accepted for publication:

Manuscript ID: agronomy-512390

Type of manuscript: Article

Title: Seed physiological potential of Capsicum annuum var. glabriusculum genotypes and their answers to pre-germination treatments

Authors: Juan Samuel Guadalupe Jesús Alcalá-Rico, Alfonso López-Benítez *, Mario Ernesto Vázquez-Badillo, David Sánchez-Aspeytia, Sergio Alfredo Rodríguez-Herrera, Miguel Ángel Pérez-Rodríguez, Francisca Ramírez-Godina

Received: 8 May 2019

E-mails: alcalasamuel@outlook.com, alfopezbe_2000@hotmail.com, marioe.vazquez@hotmail.com, aspeytia.david@inifap.gob.mx, serroh90@hotmail.com, miguel_cbg@hotmail.com, godramf@gmail.com

Submitted to section: Crop Breeding and Genetics,

https://www.mdpi.com/journal/agronomy/sections/crop_breeding_genetics

Technological Innovations and Mechanisms of Seed Formation

https://www.mdpi.com/journal/agronomy/special_issues/Seed_Formation

https://susy.mdpi.com/user/manuscripts/review_info/30ecca2dd261029f6daa037e74251ac3

We will now make the final preparations for publication, then return the manuscript to you for your approval.

If, however, extensive English edits are required to your manuscript, we will need to return the paper requesting improvements throughout.

We encourage you to set up your profile at SciProfiles.com, MDPI's researcher network platform. Articles you publish with MDPI will be linked to your SciProfiles page, where colleagues and peers will be able to see all of your publications, citations, as well as your other academic contributions.

We also invite you to contribute to Encyclopedia (<https://encyclopedia.pub>), a scholarly platform providing accurate information about the latest research results. You can adapt parts of your paper to provide valuable reference information for others in the field.

Kind regards,
Leah Lu
Assistant Editor
E-Mail: leah.lu@mdpi.com

MDPI
Agronomy Editorial Office
Postfach, CH-4020 Basel, Switzerland
Office: St. Alban-Anlage 66, 4052 Basel, Switzerland
E-Mail: agronomy@mdpi.com
<http://www.mdpi.com/journal/agronomy/>

/

[ABM] Acuse de recibo de envío

Acta Botanica Mexicana<acta.botanica@inecol.mx>

mié 27/11/2019 09:14 a.m.

Para:ALCALA RICO JUAN SAMUEL GUADALUPE JESUS <alcala.juan@inifap.gob.mx>;

M.C. Juan Samuel Alcalá Rico:

Gracias por enviar el manuscrito, "Diversidad morfológica en frutos de genotipos de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) del noreste y centro de México" a Acta Botanica Mexicana. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial:

URL del manuscrito:

<http://abm.ajs.inecol.mx/index.php/abm/author/submission/1643>

Nombre de usuario/a: samuel1991

En caso de dudas, contacte conmigo. Gracias por elegir esta revista para publicar su trabajo.

Marie-Stéphanie Samain
Acta Botanica Mexicana

Acta Botanica Mexicana

<http://abm.ajs.inecol.mx>

Instituto de Ecología, A.C.

Centro Regional del Bajío

Av. Lázaro Cárdenas No. 253

AP 386, 61600 Pátzcuaro, Michoacán, México

INTRODUCCIÓN

En México existe una gran variabilidad de chiles en cuanto a forma, sabor, tamaño y pungencia. Entre los principales se encuentran el jalapeño, serrano, habanero, ancho, mulato, pasilla y piquín (Valadéz, 1998). El chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) es una especie que se distribuye desde Colombia hasta el suroeste de Estados Unidos, es considerado un recurso fitogenético importante para el mejoramiento de los chiles cultivados (*Capsicum annuum*) (Hayano-Kanashiro *et al.*, 2016). Esta especie presenta un fruto redondo de 3 a 6 mm de diámetro que crece en posición eréctil. En estado inmaduro es de color verde oscuro; sin embargo, al madurar se torna de color rojo. Las plantas alcanzan su madurez reproductiva entre los seis y diez meses de edad. La floración inicia en mayo y dura hasta agosto, y la fructificación es de junio a octubre. Normalmente crece bajo la protección de los árboles en sitios montañosos cercanos a arroyos y cañones (Nabhan, 1985; Nabhan *et al.*, 1990). La planta vive en lugares serranos, que presentan una temperatura entre 15 y 30 °C, luz (fotoperiodo de 14 horas oscuridad y 10 horas luz) (Villalón *et al.*, 2003).

Los frutos de *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* son de gran importancia para pobladores de sectores rurales ya que forman parte de su cultura y es una fuente de ingresos al momento de la cosecha (Guerrero-Velázquez, 2015). Esta actividad provoca que la especie se encuentre bajo fuerte presión antropogénica debido a su extracción, pues al parecer las formas de corte no han sido las más adecuadas (Medina-Martínez *et al.*, 2010). Esto podría amenazar la diversidad genética de la especie debido a la poca regeneración. Una alternativa para reducir esta actividad es promoviendo su establecimiento como cultivo (Kim, 2016). Para esto se requiere de información básica que permita desarrollar las pautas para su correcto desarrollo y explotación comercial. La germinación de las semillas es el primer paso para el éxito de un cultivo este consta de un proceso complejo que inicia con la imbibición seguido de una disminución de ácido abscísico y un incremento del ácido giberélico (Nonogaki *et al.*, 2010). En algunas ocasiones las semillas no tienen la capacidad de germinar debido a algún tipo de

latencia (Baskin y Baskin, 2004), que provoca la impermeabilidad de la cubierta seminal al agua o por la inmadurez del embrión (Bewley, 1997). De forma general se han desarrollado métodos para romper los tipo de latencia que presentan las semillas siendo estos físicos, mecánicos, químicos y biológicos (Paparella *et al.*, 2015). En chile piquín los bajos porcentajes de germinación se asocian con la testa dura y un alto contenido de ácido abscísico en semillas (Leubner-Metzger, 2003; Petruzzelli *et al.*, 2003). Esto es debido a que se ha observado que la semilla al pasar por los jugos gástricos de las aves que consumen los frutos funcionan como escarificadores promoviendo la germinación en condiciones favorables (Cano-Vázquez *et al.*, 2015; Bañuelos *et al.*, 2008).

Además de la germinación también la variabilidad morfológica y genética y la información fisiológica ambiental limitada son factores que impiden la domesticación de la especie (Rodríguez-Uribe *et al.*, 2014). En la República Mexicana, es posible encontrar poblaciones silvestres de *Capsicum annuum*, que presentan gran variabilidad morfológica y genética (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999). La caracterización morfológica de plantas permite la selección de las variedades más promisorias de un cultivo, para su posterior uso en programas de mejoramiento (Martín y González, 1991).

La mayoría de las plantas silvestres mantienen su variabilidad genética en caracteres morfológicos, demográficos y fisiológicos que les permite adaptarse a las condiciones fluctuantes del ambiente. Esta variación genética es la base de su sobrevivencia a través de generaciones en condiciones naturales. El conocimiento de la variación morfológica y sus patrones de distribución geográfica es de considerable interés para entender la evolución de las especies vegetales y trabajar en su conservación (Solís-Neffa, 2010). Los estudios sobre dos aspectos pueden proporcionar información para contribuir a una mejor comprensión de los mecanismos de diversificación entre y dentro de las especies (Nattero *et al.*, 2011). La variabilidad genética en chile es amplia y adquiere gran relevancia por el potencial genético que presenta, ya que son la base para

obtener variedades mejoradas (Bosland, 1996; González y Pita, 2001; Gunn, 2004).

Actualmente no existe con certeza información sobre metodologías para romper la latencia de la semilla de chile piquín, además se tiene poca información sobre la morfología del fruto chile piquín el cual es el atributo más importante de la planta por su sabor y pungencia particular. En base a lo anterior los objetivos del presente trabajo fueron determinar el efecto de tratamientos pregerminativos en los rasgos fisiológicos de la semilla de diferentes genotipos y determinar la variabilidad morfológica de los frutos de chile piquín de diferentes orígenes geográficos.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen de *Capsicum annuum*

En la actualidad se reconocen cinco especies domesticadas del género *Capsicum*: *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens*, y más de veinte silvestres (IBPGR, 1983). El género *Capsicum* se conforma por alrededor de 30 especies distribuidas desde el sur de Estados Unidos, hasta el norte de Argentina (Pickersgill, 1984).

El país de México es considerado como el centro de origen y domesticación del género *Capsicum*, en especial de la especie *annuum* (Bran *et al.*, 2007; Medina-Martínez *et al.*, 2010). Algunos arqueólogos mencionan que el chile es una de las primeras plantas cultivadas en Mesoamérica (Hernández *et al.*, 2004). Así mismo, los fósiles de chile en los estados de Tamaulipas y Puebla parecen ser más antiguos que los de maíz, frijol y calabaza (Hernández-López *et al.*, 2013).

Por otro lado, los resultados de Kraft *et al.*, (2014) sugieren que la domesticación de *Capsicum annuum* posiblemente ocurrió por lo menos en dos zonas: noreste o centro-este de México. También se han encontrado restos pre-cerámicos de chiles en el Valle de Tehuacán, Puebla (Smith, 1987).

Sin embargo, en el germoplasma de la Península de Yucatán se encontró el mayor número de haplotipos únicos, lo que significa que dicho estado puede ser un importante centro de domesticación y diversificación del chile (Aguilar-Melendez *et al.*, 2009).

Chile piquín

El género *Capsicum* se caracteriza por su gran diversidad en el tipo de fruta, color, forma, sabor, tamaño y contenido fitoquímico (Zhigila *et al.*, 2014). Es necesario acentuar la taxonomía en este género para diferenciar entre especies y saber el potencial de los recursos genéticos para mejorar la calidad y la producción de las variedades (Ibiza *et al.*, 2012). Así mismo, la taxonomía y el

número de especies del género *Capsicum* han sido objeto de debate durante muchos años (Eshbaugh, 1975; Bosland y Votava, 2012). Durante el siglo XIX, se intentó aclarar la taxonomía del género (Bosland y Votava, 2012). En 1852, el botánico francés M. F. Dunal describió 50 *Capsicum* spp., 11 de las cuales fueron descritas por primera vez (Bosland y Votava, 2012). Actualmente, el género *Capsicum* presenta una variación en el número de especies reportadas, los informes han mencionado 25 (Aguilar-Melendez *et al.*, 2009), 31 (Kole, 2011), 27 (Ibiza *et al.*, 2012) y 36 especies (Russo, 2012). *C. annuum* y *C. frutescens* fueron propuestos inicialmente por Linneo en 1753, aceptados por irlandeses en 1898, y reconocidos hasta 1953, cuando Heiser y Smith clasificaron el género en cuatro especies: *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens* (Bosland y Votava, 2012). Sin embargo, en el siglo XX, se incrementó la larga y confusa lista de nombres a cinco especies domesticadas: *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. baccatum*, *C. pubescens* y *C. chinense* (Russo, 2012; Zhigila *et al.*, 2014). Una característica particular observada en el género *Capsicum* es la presencia de capsaicina (Russo, 2012). No obstante, algunos cultivares de *C. annuum* var. *annuum* carecen de capsaicina debido a la selección humana (Moscone *et al.*, 2007).

El chile piquín es una especie a la cual se le han asignado diferentes nombres: *C. annuum* L. var. *less* (Figherhuth), *C. annuum* L. var. *baccatum* (Terpó), *C. annuum* L. var. *minimum* (Heiser y Pickersgill), *C. annuum* var. *aviculare* (D'Arcy y Eshbaugh); y *C. annuum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser y Pickersgill dandole mayor aceptación a este último. Una situación parecida existe para su nombre común de chile piquín, donde también es llamado como chiltepin, chiltepec, chiltepillo, chilpaya, chile de monte y chile parado (entre otros) en diferentes regiones de México (Araiza *et al.*, 2011). En otros países, se conoce como ají (Colombia), chile pequin, chilipiquin, piquin, pavo, pimiento, american bird, chile chiltepin y chiltepe (Guatemala) (Guzmán *et al.*, 2005).

Distribución geográfica

La distribución geográfica en algunos casos depende de las aves ya que los frutos del chile piquín son consumidos, pasando las semillas por el tracto digestivo sin que presenten algún daño para luego ser dispersadas a nuevos microhábitats, esto a través de la defecación que se realiza normalmente bajo los arbustos y árboles que prefieren como percha y donde mejor sobreviven, por lo cual las plantas de chile piquín se encuentran en ciertas áreas y bajo ciertas nodrizas (Tewksbury *et al.* 1999; Araiza *et al.*, 2011).

Capsicum annuum var. *glabriusculum* está ampliamente distribuido en México, el sur de los Estados Unidos de América, América Central, Colombia y hasta muchas regiones del Perú (Barboza y De Bem Bianchetti, 2005). En México, esta especie está encuentra registrada en todos los estados sobretodo en la zona costera del país desde Sonora hasta Chiapas sobre el Pacífico y desde Tamaulipas hasta Yucatán y Quintana Roo por el Golfo de México (Pickersgill, 1988). En el noreste de México se encuentra comúnmente desde el nivel del mar hasta aproximadamente 1200 msnm, aunque existen registros donde se ha encontrado a 1500 msnm en los estados de Nuevo León, Coahuila, Querétaro y Oaxaca (Barboza y De Bem Bianchetti, 2005; Pickersgill, 1988).

Descripción botánica

El chile piquín se caracteriza por una alta plasticidad fenotípica debido a la variación de rasgos como la morfología de las hojas y el patrón de germinación de las semillas (González-Jara *et al.*, 2011). Presenta una altura promedio de 55.8 cm aunque puede llegar a medir 150 cm (Márquez-Quiroz *et al.*, 2013)(Marquez-Quiroz *et al.*, 2013). Las flores son pequeñas presentando una corola blanca de 15 a 20 mm que presenta cinco pétalos, la cual se coloca sobre pedicelos largos y delgados. Normalmente surge una flor por axila. El cáliz es verde y delgado presentando una medida de 2 a 3 mm de largo. El ovario es obtusamente cónico teniendo 2.5 mm de largo. El estilo tiene 4 mm de largo. Las anteras presentan una coloración de púrpura a azul situadas sobre filamentos de

estambre de 1.5–2.5 mm (Bosland y Iglesias, 1992; Hernández-Verdugo *et al.*, 2012).

Los frutos de chile piquín son compactos, redondos u ovalados. El tamaño del fruto puede variar de 0.87 a 1.68 cm de longitud y de 0.51 a 0.81 cm de diámetro. Por otro lado, su peso es de 0.2 a 0.55 g y su volumen de 0.45 a 0.82 ml. En estado inmaduro los frutos presentan una coloración verde y se vuelven de color púrpura o naranja en la etapa de interrupción para después tornar a rojo estado de madurez (Salinas *et al.*, 2010).

Semilla

Una semilla se origina de la doble fecundación y consta de tres componentes: un embrión que proviene de un cigoto, un endospermo formado por la fusión de dos núcleos polares con el segundo núcleo espermático y cubierta seminal formada por los tegumentos provenientes del ovulo (Desai *et al.*, 1997).

Las semillas de chile piquín desarrolladas son pequeñas presentando de 2.5–3 mm de diámetro. Tienen su radícula encerrada en un recubrimiento de semillas duro. Las semillas son de color blanco a amarillento o tostado, y pueden volverse marrones cuando pierden viabilidad (González-Cortés *et al.*, 2015).

Latencia

El cultivo del chile piquín en forma comercial se ha visto afectado principalmente por la reducción de la germinación de semillas (menos del 5% en algunos ecotipos) (Almanza, 1998). Esto es debido a la latencia de las semillas la cual puede estar relacionada con su recubrimiento en la testa lo que da como resultado semillas duras (González-Cortés *et al.*, 2015), la presencia de inhibidores en el pericarpio, o altos niveles de capsaicina (Barchenger y Bosland, 2016; Prado-Urbina *et al.*, 2015). Además, los embriones de semillas maduras requieren al menos dos meses después de la cosecha para la maduración completa. Así mismo, la viabilidad de la semilla se ve reducida a menos del 3% al final del primer año (Sandoval-Rangel, 2011).

La latencia de semillas se define como un estado en el que una semilla viva no puede germinar (Née *et al.*, 2017). Esto es debido a un mecanismo de adaptación que permite a las plantas silvestres sobrevivir en condiciones ambientales desfavorables y la capacidad de germinación de semillas puede ser regulada por señales ambientales (Finkelstein *et al.*, 2008; Arc *et al.*, 2013; Nonogaki, 2014).

La latencia se puede clasificar en fisiológica (LF), morfológica (LM), morofisiológica (LMF), física (LFI) y combinada (LFI + LF) (Baskin y Baskin, 2004; Baskin y Baskin, 2014).

Producción

Actualmente, la mayor parte de la producción de chile piquín se recolectan de plantas silvestres que crecen en sus hábitats naturales (Medina-Martínez *et al.*, 2010). El método de cosecha común consiste en arrancar ramas e incluso plantas enteras, lo que compromete la supervivencia de las plantas provocando la reducción drástica de las poblaciones (Coronado *et al.*, 2013; Rodríguez-del-Bosque *et al.*, 2005). Se han realizado esfuerzos para regular la actividad de recolección sin embargo, la sobreexplotación sigue ocurriendo (Pedraza y Omez, 2008), lo cual es preocupante para mantener la variabilidad genética y proteger las plantas de chile silvestre en sus ecosistemas naturales (Coronado *et al.*, 2013; Rodriguez-del-Bosque *et al.*, 2004; Villalón-Mendoza *et al.*, 2015).

Por otro lado la producción de chile piquín en condiciones de cultivo representa una oportunidad para el desarrollo económico y social de las poblaciones rurales, debido a que es un producto altamente demandado (Coronado *et al.*, 2013).

La recolección de frutos de esta especie y la producción en el traspatio se ha realizado durante muchos años en regiones donde los chiles silvestres existen naturalmente (Bañuelos *et al.*, 2008; Casas *et al.*, 2007; Perramond, 2005). También se han establecido con éxito parcelas de monocultivo de plantas de chile piquín (Araiza *et al.*, 2011; Villalón-Mendoza *et al.*, 2013), pero la mayor parte del cultivo se produce en áreas pequeñas (menos de una hectárea)

(Márquez-Quiroz *et al.*, 2013; Medina-Martínez *et al.*, 2010). Una cuestión interesante es que las plantas de chile piquín en parcelas de monocultivo no muestran diferencias fenotípicas obvias en el tamaño, la forma, el color, la pungencia o la tasa de germinación (Araiza *et al.*, 2011; González *et al.*, 2011; Villalón-Mendoza *et al.*, 2013).

Otra forma de producción que se ha hecho es sembrando semillas de chile piquín en asociación con cultivos perennes. En este tipo de sistema, las plantas de chile se establecen en hileras cerca del cultivo principal, y se efectuan prácticas de producción y culturales para los dos cultivos. Por otro lado, el chile piquín se ha producido a campo abierto o bajo malla sombra a diferentes niveles de intercepción de luz, observado que el rendimiento es mayor en condiciones de sombra parcial, seguido de luz solar completa, y luego bajo sistemas de producción agroforestales e interculturales, que son comparables entre sí (Valiente-Banuet y Gutiérrez-Ochoa, 2016; Rodriguez-del-Bosque *et al.*, 2004).

Se han establecido con éxito parcelas de monocultivo de plantas de chile piquín (Araiza *et al.*, 2011; Villalón-Mendoza *et al.*, 2013), pero la mayor parte del cultivo se realiza en áreas pequeñas (menos de una hectárea) y en pequeños invernaderos (Márquez-Quiroz *et al.*, 2013; Medina-Martínez *et al.*, 2010). Un dato interesante es que esta especie bajo las condiciones de parcelas de monocultivo no muestran diferencias fenotípicas obvias en el tamaño, la forma, el colgante, el color, el picor o la tasa de germinación sincronizada de los frutos cuando se comparan con sus homólogos silvestres (Araiza *et al.*, 2011; González-Jara *et al.*, 2011; Villalón-Mendoza *et al.*, 2013).

Mercado

En la década de los ochenta, la cosecha de chile piquín fue una actividad económica importante, principalmente para las poblaciones rurales (Bañuelos *et al.*, 2008) en el centro y norte de México (González-Jara *et al.*, 2011).

La recolección de los frutos de esta especie sigue siendo en la actualidad una práctica común en el centro y norte de México y se estima que la cosecha total es de 50 toneladas métricas por año (Votaba *et al.*, 2002). Este chile es altamente preferido por los consumidores (30 a 37%), y durante la época de mayor demanda, esto influye en el precio el cual llega alcanzar hasta 40 veces el valor de los chiles jalapeños, serranos y habaneros por lo que tiene una relación beneficio/costo mayor (Rodríguez-del-Bosque *et al.*, 2004; Rodríguez-del Bosque, 2005).

Los frutos de chile piquín son muy apreciados por su particular aroma, alta pungencia (promedio de 60,000 unidades Scoville), textura crujiente y la creencia popular de que su consumo no causa irritación gástrica (Bosland *et al.*, 1990). También presenta una oferta limitada junto con una alta demanda del consumidor lo que provoca que los precios sean mucho más altos que los de otras especies de cultivos de chile (Rodríguez-del-Bosque *et al.*, 2005; Villalón-Mendoza *et al.*, 2013; Villalón-Mendoza *et al.*, 2015).

El consumo de esta especie varía según la región. En el noreste de México, los frutos de chile piquín se prefieren en fresco en su etapa inmadura (verde), mientras que en el noroeste y sur de México la mayor parte de la población prefieren consumirlos secos en su etapa madura (roja) (Bañuelos *et al.*, 2008; Sandoval-Rangel *et al.*, 2011; Villalon-Mendoza *et al.*, 2016). Así mismo, en los mercados estadounidenses (principalmente a California y Arizona) se venden maduros ya que se utilizan como condimentos secos y rojos (Montes *et al.*, 2006). Y algunas otras personas optan por consumirlos en salmuera o en escabeche, o como ingredientes de productos procesados, alimentos de cocina local (Bañuelos *et al.*, 2008).

En el noreste de México el 74% de la población consumía frutos de chile piquín casi todo el año usando las técnicas de conservación de frutas (Villalón-Mendoza *et al.*, 2015). En esta zona la forma típica del fruto de chile piquín con mayor preferencia por su sabor y aroma es del tipo bolita o ligeramente cónico (Rodriguez-del-Bosque *et al.*, 2004).

Descripción varietal

La descripción varietal está definida como un informe técnico donde se especifican los caracteres pertenientes de la variedad vegetal mediante una guía que permite evaluar la identidad genética (SAGARPA y SNICS, 2014).

El chile piquín se caracteriza por una alta diversidad fenotípica debido a la variación que presentan sus rasgos como la morfología de las hojas y el patrón de germinación de las semillas (González-Jara *et al.*, 2011). Además, esta especie se considera como el chile con mayor variación en el tamaño, la forma y el color de sus frutos (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001).

En Yucatan se describió la diversidad morfológica de chile piquín tomando datos de planta, flor y fruto mencionando que tiene un gran potencial y se encuentra distribuido en casi todos los ambientes además de que posiblemente se ha cruzado de manera natural con distintos morfotipos de *C. annuum* (Latournerie *et al.*, 2002). Así mismo, se ha explorado a variación geográfica en caracteres morfológicos de 19 poblaciones de chile silvestre (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) en sus hábitats naturales en el noroeste de México, indicando que factores como la temperatura y la cantidad de agua disponible durante el crecimiento y reproducción de las plantas son importantes para la diferenciación de las poblaciones *C. annuum* silvestre que se desarrollan en condiciones naturales (Hernández-Verdugo *et al.*, 2012).

Diversidad genética

La biodiversidad ofrece numerosos servicios, uno de ellos es la producción de alimentos (Power, 2010; Rands *et al.*, 2010). El manejo humano de las poblaciones y la domesticación de plantas brindan la oportunidad de estudiar los efectos de estos procesos en la variación genética de las plantas, lo cual es muy relevante para la biología de la conservación y para comprender los procesos de domesticación pasados y en curso (González-Jara *et al.*, 2011). La biodiversidad

asegura flujos a largo plazo de beneficios de la naturaleza al proporcionar resistencia a las perturbaciones y al cambio ambiental (Hooper *et al.*, 2005).

En el chile piquín los resultados de la amplificación aleatoria de ADN polimórfico, isoenzimas y estudios comparativos en esta especie han establecido que presentan una alta variabilidad genética (entre y dentro de las poblaciones) con una gran plasticidad fenotípica (Castañón-Nájera *et al.*, 2014). Las condiciones ambientales pueden incrementar estas diferencias morfológicas, incluido el tamaño de la planta y del fruto y el número de semillas por fruto (Castañón-Nájera *et al.*, 2014; Murillo-Amador *et al.*, 2015).

Aunque los estudios de variabilidad genética son de suma importancia, se han realizado pocas investigaciones en poblaciones de chile piquín (González-Jara *et al.*, 2011). En un estudio de variabilidad genética a través de 12 loci polimórficos, se encontró que la heterocigosidad fue mayor para poblaciones silvestres (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) ($H_s = 0.474$) en comparación con poblaciones cultivadas (*Capsicum annuum* var. *annuum*) ($H_s = 0.434$). Por otro lado hubo mayores diferencias genéticas entre las poblaciones cultivadas ($G_{ST} = 0.167$) que entre las poblaciones silvestres ($G_{ST} = 0.056$) (Hernández-Verdugo *et al.*, 2001). Por otro lado, se ha estudiado la diversidad genética de dos colecciones de chile piquín: poblaciones *in situ* de Arizona y germoplasmas *ex situ* obtenidos de Guatemala y el norte de México, donde no se detectaron diferencias entre las semillas de chile piquín de Arizona. En cambio, las accesiones de Sonora y Chihuahua fueron las más genéticamente diversas de las accesiones de América del Norte. La mayor diversidad genética de todas las accesiones se observó con las accesiones de Guatemala (Votaba *et al.*, 2002). Así mismo, a través de marcadores AFLP en 74 accesiones diferentes de *Capsicum* spp. se encontró la existencia de flujo de genes entre *Capsicum* spp. tales como *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. annuum* L. var. *annuum*, y *C. annuum* L. var. *glabriusculum* (Guzmán *et al.*, 2005). Por otro lado, a través de la exploración de la diversidad de secuencias de nucleótidos en tres loci nucleares de copia única o baja, Dhn, G3pdh y Waxy se evidenció que varias líneas de

Méjico, presentaron múltiples domesticaciones independientes de poblaciones progenitoras ampliamente distribuidas y los chiles domesticados tuvieron una pérdida de 10 a 17% de la diversidad genética en comparación con las poblaciones semi-silvestres (Aguilar-Melendez *et al.*, 2009). En cambio, otros autores utilizaron nueve marcadores de microsatélite para explorar los cambios en la diversidad genética en las poblaciones de chile piquín, descubriendo que la variación genética más alta se encontró dentro de las poblaciones de Yucatán y la más baja dentro de las poblaciones de Sonora, concluyendo que el estado de Yucatán puede ser un centro de diversidad para estos chiles. El estudio también sugirió que las poblaciones cultivadas presentaron menor variación genética en comparación con las poblaciones de tipo salvaje (González-Jara *et al.*, 2011).

Recursos fitogenéticos

Se pueden definir como la variabilidad genética correspondiente al mundo vegetal que se considera poseedora de un valor para el presente o el futuro. Estos se consideran la base biológica de la seguridad alimentaria que directa o indirectamente, sostienen los medios de subsistencia de todos los habitantes de la Tierra. Para la alimentación y la agricultura consisten en una diversidad de semillas y materiales para la siembra de variedades tradicionales y de cultivares modernos, de variedades silvestres afines a los cultivos y de otras especies de plantas silvestres (FAO, 2019).

Capsicum annuum L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser y Pickergill] es considerado uno de los ancestros de los chiles cultivados (Eshbaugh, 1975; Medina-Martínez *et al.*, 2010). Por lo que se considera un recurso genético importante, ya que se ha informado de su resistencia a varios grupos virales, incluidos Tobamovirus, Potyviridae, Geminiviridae y endornavirus de chile (BPEV). El conocimiento de plagas y enfermedades ayuda en el desarrollo de estrategias para anticipar, controlar y comprender el papel ecológico de la dinámica de la población y la diversidad genética (Okada *et al.*, 2011; Pagán *et al.*, 2010; Rodelo-Urrego *et al.*, 2015).

En las últimas décadas, los estudios sobre el chile piquín han ido en aumento debido a la atribución de propiedades medicinales y su demanda aumenta cada año (Tucker, 2001).

PRIMER ARTÍCULO

SEED PHYSIOLOGICAL POTENTIAL OF *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*
GENOTYPES AND THEIR ANSWERS TO PRE-GERMINATION
TREATMENTS



Article

Seed Physiological Potential of *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* Genotypes and Their Answers to Pre-Germination Treatments

Juan Samuel Guadalupe Jesús Alcalá-Rico ¹, Alfonso López-Benítez ^{1,*},
Mario Ernesto Vázquez-Badillo ¹, David Sánchez-Aspeytia ², Sergio Alfredo Rodríguez-Herrera ¹,
Miguel Ángel Pérez-Rodríguez ³ and Francisca Ramírez-Godina ¹

¹ Department of Plant Breeding, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo 25315, Mexico; alcalasamuel@outlook.com (J.S.G.J.A.-R.); marioe.vazquez@hotmail.com (M.E.V.-B.); serroh90@hotmail.com (S.A.R.-H.); godramf@gmail.com (F.R.-G.)

² INIFAP-Experimental Field Saltillo, Carretera Saltillo-Zacatecas km. 342+119 # 9515 Hacienda de Buenavista, Saltillo 25315, Mexico; aspeytia.david@inifap.gob.mx

³ Department of Botany, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo 25315, Mexico; miguel_cbg@hotmail.com

* Correspondence: alfopezbe_2000@hotmail.com; Tel.: +52-844-105-6151

Received: 8 May 2019; Accepted: 17 June 2019; Published: 20 June 2019



Abstract: Piquin pepper (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) is an important species that supports the economy of rural households; it is part of Mexican gastronomy and it is a highly valuable phylogenetic resource. There has been recent interest in domesticating and exploiting piquin pepper commercially, which has been limited until now due to the low germination rate, and this work had the purpose of promoting germination and determining the physiological capacity of genotypes. Ten piquin pepper genotypes from different geographical origins in Mexico were submitted to 11 pre-germination treatments. A completely randomized experimental design was carried out with arrangement in split-plot. The large plot had the treatments and the small plot had the genotypes. The results showed differences ($p < 0.01$) among treatments, genotypes, and treatment–genotype interaction. On one hand, treatments gibberellic acid (GA) and mechanical scarification + gibberellic acid (MSG) increased the physiological potential of genotypes, reaching the highest values of germination speed (GS), germination index (IG) and germination percentage (GP); as well as the lowest values of dead seeds (DS) and hard Seeds (HS). In turn, the genotypes that presented the same condition were G8, G7, and G10. Regarding the interaction, each variable had a different condition. In conclusion, we can increase the physiological potential and solve the dormancy of piquin pepper seed by applying gibberellic acid. Likewise, the best genotypes were G8 and G10.

Keywords: piquin pepper; dormancy; physiology; Treatment-Genotype interaction; biplot

1. Introduction

Piquin pepper (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) has several names, including “chiltepín”, “chile de monte”, and “chile silvestre” (wild pepper), among others [1]. The distribution of this species reaches Colombia, Central America, Mexico, and the South of United States [2]. In Mexico, it is widespread from Sonora to Chiapas and from Tamaulipas to Yucatan and Quintana Roo, showing great environmental adaptability, probably resulting from its genetic diversity that allows it to adapt itself to different environments [3,4]. The importance of piquin pepper lies in the fact that it is the main source of income for many people and households in rural areas, who make their living from picking of the fruit of wild populations. This hot pepper is preferred over Jalapeño and Serrano

hot peppers in the market, although its value can be up to 40 times more expensive [5,6]. The great acceptance of piquin pepper by consumers is due to its pleasant flavor, and even when it is very spicy (50,000–100,000 SHU), that sensation disappears quickly from the mouth and does not irritate the digestive system [7]. Furthermore, it is a highly valuable resource in breeding programs, since it is considered the ancestor of all *Capsicum annuum* [8,9]. At present, there is great interest in domesticating this species and establishing it as a commercial crop. It is known that piquin pepper seeds have a natural dormancy mechanism that acts as a potential blockage to complete germination [3]. This mechanism has helped the species to survive under adverse climate conditions and avoid competing for light, water, and nutrients [10,11]. From an agronomic management standpoint, this is the main problem of piquin pepper; the dormancy mechanism results in low and uneven germination at planting [7]. Therefore, the purpose of this research work was to determine the effect of pre-germination treatments on the germination traits of different piquin pepper genotypes and to assess their physiological capacity.

2. Materials and Methods

2.1. Location of the Experimental Site

The experiment took place in the Seed Test Laboratory of the Training and Development Seed Technology Center, “Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas” (CCDTS) from the Plant Breeding Division of “Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro” (UAAAAN), located in Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico.

2.2. Plant Material

This research work included ten piquin pepper genotypes from different geographical origins in Mexico provided by the National Institute of Forestry, Agricultural and Livestock Research, “Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias” (INIFAP), “Las Huastecas” Experimental field (Table 1). The mother plants of each genotype were kept in a controlled greenhouse environment, so they had the same conditions. For the obtaining of the seed, ripe fruits were collected, which were allowed to dry under ambient temperature conditions, were placed in paper bags with their identification, and then stored for 3 months at a temperature of 17 °C. Subsequently the seed of the fruits was extracted, at the time it was required to use it.

Table 1. Identification and origin of 10 piquin pepper genotypes.

| ID | Locality | Municipality | State | Geographical Coordinates |
|-----|-----------------------|---------------------|-----------------|---------------------------|
| G1 | Estación Álamo | Villaldama | Nuevo León | 26°23'51" N, 100°23'42" W |
| G2 | Ej. Potrero de Zamora | Aramberri | Nuevo León | 24°02'20" N, 99°55'15" W |
| G3 | Ej. Lázaro Cárdenas | Burgos | Tamaulipas | 24°56'56" N, 98°47'59" W |
| G4 | Barranco Azul | San Carlos | Tamaulipas | 24°24'01" N, 99°06'50" W |
| G5 | Palo Blanco | Castaños | Coahuila | 26°46'02" N, 101°30'01" W |
| G6 | Colatlán | Ixhuatlán de Madero | Veracruz | 20°49'04" N, 98°05'45" W |
| G7 | Tiopancahuatl | Ixhuatlán de Madero | Veracruz | 20°41'06" N, 98°00'44" W |
| G8 | Colatlán (Nursery) | Ixhuatlán de Madero | Veracruz | 20°49'04" N, 98°05'45" W |
| G9 | El Rincón | Linares | Nuevo León | 24°53'40" N, 99°28'13" W |
| G10 | La Laborcilla | Rioverde | San Luis Potosí | 21°51'37" N, 99°54'40" W |

2.3. Treatment of Seeds

Eleven pre-germination treatments showed in Table 2 were used in order to evaluate the germination response in piquin pepper seeds. The treatments were selected according to previous works, due to their effect on the seed [3,12–18]. The distilled water was used as a solvent to obtain the desired concentration. In each treatment the seed was submerged for the indicated time, except for the mechanical scarification, which consisted of sanding the seed. After submitting the seed to each

treatment, a rinsing with distilled water was carried out. Three replicates were performed and 20 seeds per replicate of each genotype were used.

The seeds were disinfected with sodium hypochlorite at 1% during 30 s, before rinsing them with running water under the faucet, followed by a final rinse with distilled water. The seeds were spread over absorbing paper and were left to dry for 15 min. The corresponding pre-germination treatments were applied afterwards (Table 2). Petri dishes (100 mm × 15 mm) lined with sterilized filter paper were used, moistened with a solution of distilled water and fungicide. Each week two types of fungicides were rotated to prevent and control the development of pathogenic fungi, namely Captan 50 (Captan) and Tecto 60 (Thiabendazole). Both at a concentration of 1 g L⁻¹, were applied by spray at the time the filter paper required moisture. This was done throughout the duration of the assay. The seeds were planted in the dishes by distributing them in circles, a small and a bigger circle, to facilitate the evaluation of the variables. Afterwards, the Petri dishes were put into the germination chamber LAB-LINE at 25 °C, with 12 h of light and 12 h of darkness.

Table 2. Treatments used to evaluate the germination response of piquin pepper seeds.

| ID | Treatment | Application | Time |
|------|--|---|--|
| HP | Hydrogen peroxide | 3% | 24 h |
| GA | Gibberellic acid | 5000 ppm | 24 h |
| AV | Agromil-V® | 2% v/v | 24 h |
| HC | Hydrochloric acid | 10% | 30 min |
| KN | Potassium nitrate | 3% | 168 h |
| HW | Hot water | At 83 °C let cool naturally | 24 h |
| MS | Mechanical scarification | Sanding softly with 1500 grit sandpaper | 30 s |
| HWGA | Hot water + Gibberellic acid | | 24 h per tratament |
| HPGA | Hydrogen peroxide + Gibberellic acid | | 24 h per tratament |
| HCGA | Hydrochloric acid + Gibberellic acid | | 1st tratament 30 min and 2nd tratament 24 h |
| MSGA | Mechanical scarification + Gibberellic acid | | 2nd tratament 24 h |
| WIT | Witness | Direct seeding | |

2.4. Assessed Seed Germination Traits (Variables)

Germination percentage (GP): it was defined as the relationship among the number of germinated seeds that had all their essential structures and the number of planted seeds, using the following formula: GP = (NGS/TNS), where NGS is the number of germinated seeds and TNS is the total number of planted seeds. Germination index (GI): is the time of germination based on the germination capacity, GI = $\Sigma(n_i t_i)/TNS$, where n_i is the number of seeds germinated in day i and t_i is the number of days after planting. Germination speed (GS): is the number of seeds germinated in relation to the time of germination: GS = $\Sigma(n_i)/t$, where t is the germination time measured in days, from planting until the germination of the last seed. Abnormal seedlings (AP): those seedlings that lacked one or more of their essential seedling structures were counted. Dead seeds (DS): The counting included all those seeds that were soft; they absorbed water, but they did not produce any seedlings. Hard seeds (HS): all those seeds that remained waterproof at the end of the assay were counted, since they did not absorb water. The results of these last three variables were expressed in percentages.

2.5. Statistical Analysis

A randomized experimental design was used with arrangement in split-plot. The large plot had the treatments and the small plot had the genotypes. In order to increase the data normality before the analysis, the percentages were converted into square root values.

The data was analyzed using a variance analysis in accordance with our design. When the differences were significant, Tukey's multiple comparison test was performed, and Biplot graphics

were used for the interactions. Furthermore, the relationship among the variables was studied using Spearman correlation coefficient and the genotypes similarity was determined by a dendrogram using the UPGMA technique. All analyses were performed using the TukeyC, agricolae, and corrplot packages of the statistical software R version 3.5 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3. Results

In the variance analysis of the physiological tests, highly significant differences ($p < 0.01$) were found in the sources of variation treatments, genotypes and treatment–genotype interaction (Table 3). This could be due to the different genetic constitution of the genotypes studied and the particular effect of the treatments.

Table 3. Mean squares of the analysis of variance of physiological variables.

| SV | DF | GS | GI | GP | AP | DS | HS |
|-------------|-----|-------|----|-------|----|-------|-------|
| Treat | 11 | 1.285 | ** | 9.590 | ** | 0.129 | ** |
| Error (a) | 24 | 0.004 | | 0.134 | | 0.002 | |
| Gen | 9 | 0.331 | ** | 5.149 | ** | 0.062 | ** |
| Treat × Gen | 99 | 0.030 | ** | 0.442 | ** | 0.007 | ** |
| Error (b) | 216 | 0.006 | | 0.115 | | 0.002 | |
| CV (a) | | 4.89 | | 18.68 | | 4.34 | |
| CV (b) | | 6.12 | | 17.35 | | 4.27 | |
| | | | | | | 3.83 | 4.14 |
| | | | | | | 5.13 | 5.200 |
| | | | | | | 4.14 | 4.500 |

** Significant at probability levels ≤ 0.01 , SV = Sources of Variation, DF = Degrees of Freedom, GS = Germination speed, GI = Germination index, GP = Germination percentage, AP = Abnormal seedlings, DS = Dead seeds, HS = Hard seeds, Treat = Treatments, Gen = Genotypes, % CV = Coefficient of Variation.

3.1. Effects of Pre-Germination Treatments

According to the mean comparison test (Table 4), the gibberellic acid treatment and its combination with mechanical scarification (sanding) showed superior results, with increases in GS (77%), GI (52%), GP (69%), and a decrease in DS (35%) and HS (74%), in comparison with the rest of the treatments.

Table 4. Comparison of Tukey's means ($p > 0.05$) for pre-germinative treatments in physiological variables.

| Treat | GS | GI | GP | AP | DS | HS | | | | | | |
|-------|------|----|------|----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| AV | 0.41 | c | 3.35 | cd | 15.17 | bc | 9.83 | cde | 30.67 | cde | 44.33 | abc |
| GA | 1.52 | a | 6.19 | a | 40.00 | a | 26.67 | ab | 21.83 | e | 11.17 | d |
| HC | 0.46 | c | 4.54 | bc | 0.00 | e | 30.67 | a | 34.83 | bcd | 34.5 | c |
| HCGA | 1.22 | b | 5.79 | ab | 37.33 | a | 19.67 | bc | 26.5 | de | 16.5 | d |
| HP | 0.11 | de | 1.53 | ef | 5.17 | de | 4.00 | de | 39.83 | bc | 51.00 | ab |
| HPGA | 0.40 | c | 3.61 | cd | 13.83 | bcd | 11.83 | cd | 36.17 | bcd | 38.17 | bc |
| HW | 0.02 | e | 0.20 | fg | 1.00 | e | 0.33 | e | 53.67 | a | 45.00 | abc |
| HWGA | 0.00 | e | 0.00 | g | 0.00 | e | 0.00 | e | 45.00 | ab | 55.33 | a |
| KN | 0.18 | d | 2.48 | de | 8.67 | cde | 5.17 | de | 31.5 | cde | 54.67 | a |
| MS | 0.19 | d | 2.50 | de | 9.67 | cde | 4.33 | de | 34.33 | bcd | 51.67 | ab |
| MSG | 1.46 | a | 6.01 | ab | 34.17 | a | 29.5 | ab | 24.67 | de | 11.67 | d |
| WIT | 0.38 | c | 5.19 | ab | 23.33 | b | 6.67 | de | 26.33 | de | 43.67 | abc |

Means with the same letter are not significantly different, Treat = Treatment, GS = Germination speed, GI = Germination index, GP = Germination percentage, AP = Abnormal seedlings, DS = Dead seeds, HS = Hard seeds, AV = Agromil-V®, GA = Gibberellic acid, HC = Hydrochloric acid, HCGA = Hydrochloric acid + Gibberellic acid, HP = Hydrogen peroxide, HPGA = Hydrogen peroxide + Gibberellic acid, HW = Hot water, HWGA = Hot water + Gibberellic acid, KN = Potassium nitrate, MS = Mechanical scarification, MSGA = Mechanical scarification + Gibberellic acid, WIT = Witness.

Hot water and its combined with gibberellic acid affected in a negative way the germination variables, reducing GS by 97%, GI by 97%, and GP by 96%; on the other hand, it increased the percentages of DS (27%) and HS (13%) as compared to the average of the rest of the treatments. It also

showed low AP values, which, despite being a positive aspect, was influenced by low germination, in this case.

Hydrogen peroxide and its combination with gibberellic acid, besides potassium nitrate, showed lower results than the witness; obtaining 40, 51, and 61% less GS, GI, and GP respectively, besides the increases of 5, 27 and 9% in AP, DS, and HS.

The treatments to break physiological dormancy presented better results than the treatments that were used to break physical dormancy, which is an indication that there are inhibiting physiological mechanisms that impair germination.

3.2. Physiological Response of Genotypes

With regards to the genotypes (Table 5), the results have shown that G8, G7, and G10 had the ideal traits, by presenting increases in the germination variables (51% of GS, 53% of GI, and 66% of GP), besides having the lowest values of DS and HS (48% and 11% less) as compared with the rest of genotypes. Likewise, the variation of results might be due to the different environmental conditions to which each genotype had to adapt and therefore the physiological needs were different.

G1 and G5 showed a deficient answer by giving very low values in the desirable traits and very high values in the undesirable traits, with the exception of AP. This might be due to the conditions in which they normally develop, causing different needs.

Table 5. Comparison of Tukey's means ($p > 0.05$) for genotypes in physiological variables.

| Genotype | GS | GI | GP | AP | DS | HS | | | | | | |
|----------|------|----|------|-----|-------|-----|-------|----|-------|-----|-------|-----|
| G1 | 0.29 | e | 1.73 | fg | 5.14 | de | 9.72 | c | 38.06 | abc | 47.08 | a |
| G2 | 0.59 | cd | 3.57 | cd | 18.19 | b | 11.67 | bc | 30.83 | cde | 39.03 | abc |
| G3 | 0.54 | d | 3.34 | cde | 14.31 | bc | 13.19 | bc | 45.14 | a | 27.36 | c |
| G4 | 0.50 | d | 3.01 | def | 12.36 | bcd | 13.06 | bc | 33.47 | bcd | 41.11 | a |
| G5 | 0.28 | e | 2.19 | efg | 6.11 | cde | 10.42 | c | 44.72 | ab | 38.75 | abc |
| G6 | 0.47 | d | 3.16 | de | 15.97 | b | 9.31 | c | 38.75 | abc | 35.97 | abc |
| G7 | 0.67 | c | 4.63 | bc | 27.08 | a | 9.58 | c | 23.61 | def | 39.72 | ab |
| G8 | 1.01 | a | 5.46 | ab | 27.64 | a | 22.36 | a | 21.11 | ef | 29.17 | bc |
| G9 | 0.15 | f | 1.05 | g | 3.06 | e | 5.14 | c | 44.86 | ab | 46.94 | a |
| G10 | 0.80 | b | 6.35 | a | 27.08 | a | 19.44 | ab | 17.22 | f | 36.25 | abc |

Means with the same letter are not significantly different, GS = Germination speed, GI = Germination index, GP = Germination percentage, AP = Abnormal seedlings, DS = Dead seeds, HS = Hard seeds.

3.3. Specific Response of Treatment by Genotype

According to the main component analysis (Figure 1), the two first components contributed to explaining from 53.8 to 72% out of the total variation. PC1 explained the greatest variation from 33.7 to 56.3%; followed by PC2, with a variation of 20.1 to 26.2%. A different distribution was observed in the genotypes and in the treatments for each variable, which is indicative of a great genetic and physiological diversity of seeds.

Figure 1 GS corresponds to the germination speed, determined that genotype G8 had the best response despite being the least stable, followed by genotypes G2 and G10, that also had positive answers. These results were observed when applying GA treatments and their combinations with MS and HC. On the other hand, genotypes G5 and G9 had very different responses, influenced by negative environments (the one that is not suitable for genotypes to express desirable characteristics, but on the contrary), such as HW, HWGA, HP, and MS. Genotypes G4, G5, G6, and G7 were the most stable. For this variable, genotypes G8 and G9 had the highest contribution of G and/or GE.

Regarding Figure 1 GI, shows that genotypes with the desirable trait were G10 and G8 in HPGA and HC environments, the latter being the most discriminating. In turn, these environments presented negative correlation with HW, HWGA, HCGA, GA, MSGA, MS, and KN. The genotypes with greater

stability were G5, G6, and G7, since they were closer to the origin of PC2 associated to stability of the genotypes.

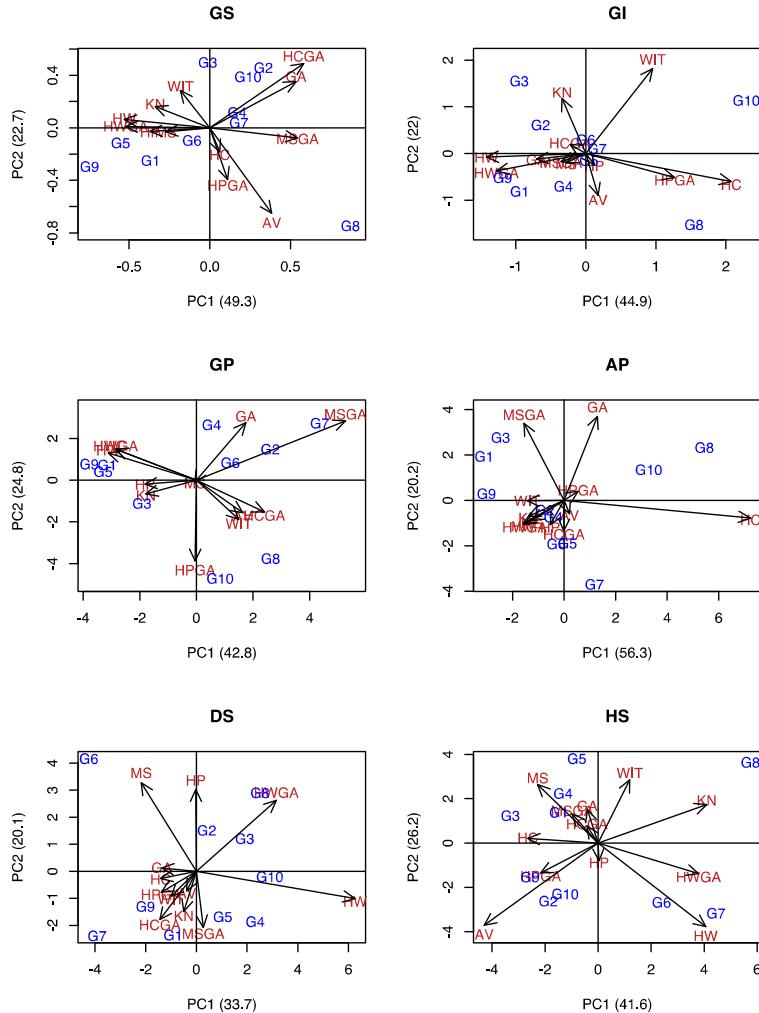


Figure 1. Principal component analysis of physiological variables of interaction Treatment by Genotype, (GS) Germination speed, (GI) Germination index, (GP) Germination percentage, (AP) Abnormal seedlings, (DS) Dead seeds, (HS) Hard seeds.

Figure 1 GP, regarding the percentage of germination, shows that genotypes G2, G7, and G8 obtained the highest values. The first one and the second one behaved well in MSGA, considering that this was the most discriminating and most representative environment for this variable. Genotype G8 showed a higher than average response in HCGA, AV, and WIT environments. It is worthwhile mentioning that most of the treatments containing gibberellic acid were grouped and considered as a favorable environment, with the exception of HWGA that was classified as a negative environment, together with HW and HC. These last three treatments contributed to decrease the values of genotypes G1, G5, and G9, considered among the most stable.

One of the desirable traits was having a low percentage of abnormal plants. Genotypes G1 and G3 in MSGA environment and genotype G9 in WIT complied with this trait. The opposite happened with genotypes G8 and G10 in HC, an environment that besides being the least ideal is the most discriminating one, since it presented the longest vector (Figure 1 AP).

As for the percentage of dead seeds, treatment HW showed a negative correlation with most of the treatments; with the exception of HWGA and MSGA, since they had angles greater than 90° between their vectors. HW was the environment with the highest percentage of dead seeds and it was the most discriminating environment. On the other hand, Genotype G6 showed good adaptation in treatment MS, resulting in lower incidence of dead seeds. Genotype G7 also presented a positive response in HPGA (Figure 1 DS).

Regarding the percentage of hard seeds, Figure 1 HS shows that there are specific interactions of each genotype with every environment. The genotypes showing lower percentage of this trait were G3 with applying HC, as well as G9 applying HPGA and AV. On the other hand, AV and HW were the most discriminating treatments. Furthermore, HW, HWGA, and KN interacted in a negative way with most of the genotypes.

3.4. Association between Physiological Variables

Figure 2 shows the association among the test variables. Germination variables (GI, GS, and GP) were closely related in a positive way, besides being influenced by AP. These variables were negatively associated with DS and HS. These data allow us to forecast the behavior of piquin pepper seed in an indirect way.



Figure 2. Correlation of physiological variables of piquin pepper, (GS) Germination speed, (GI) Germination index, (GP) Germination percentage, (AP) Abnormal seedlings, (DS) Dead seeds, (HS) Hard seeds.

3.5. Similarity of Genotypes

A cluster analysis using UPGMA, gathered the 10 genotypes in three groups, at a distance of 17 units. The first group included three genotypes with the highest seed physiology potential. The second group had three genotypes with intermediate influence. The third group was the largest, with four genotypes of poor performance. These results show variability among genotypes and we believe that most of these groups were formed due to their geographical closeness, leading to similar needs, with the exception of genotype G6 (Figure 3).

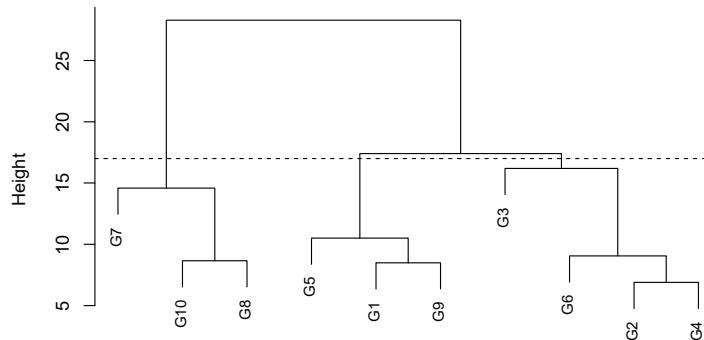


Figure 3. Dendrogram of physiological characteristics of 10 piquin pepper genotypes.

4. Discussion

4.1. Treatment Effect on Seed Physiology

Pre-germination treatments can present specific effects on piquin pepper seeds. Koornef & Bentsink [19] mentioned that the use of gibberellic acid increased the seed germination rates of several species. In this assay, the values were similar to the values reported by García et al. [16], where seed germination and seedling vigor increased after applying this chemical to piquin pepper seeds under greenhouse conditions. Likewise, Née et al. [20] mention that the dormancy-breaking is controlled by various regulators, such as plant hormones and latent proteins. Hot water applications produced negative effects in germination, coinciding with the results of García et al. [16], who reported that the hot water treatment in piquin pepper seeds delays germination and seedling emergence. On the other hand, we differed with the results reported by Cano et al. [3] who reported that hydrogen peroxide and potassium nitrate applied to 16 collections of piquin pepper did not modify the germination percentage, as compared to the witness (without any treatment).

4.2. Variability among Genotypes

Due to the diversity presented by genotypes and their great adaptability to different environments, this species is an important phylogenetic resource for pepper crops' breeding programs [21]. Differences due to genetic diversity of genotypes can provide high phenotypic plasticity and variation of morphological traits [22]. Therefore, the variation of the germination capacity among and within plant species is an adaptation to the particular conditions of local and regional habitats [23]. Within the same context, Hernández-Verdugo et al. [24] found great variation in the germination capacity of wild pepper related populations. This variation allowed the detection of three genotypes with physiological potential.

4.3. Interaction between Genotypes and Treatments

The interpretation of the interactions can be done by means of biplot graphics. Genotypes with $PC1 > 0$ were identified as having positive value according to the variable studied and their opposites were identified as $PC1 < 0$ [25,26]. Likewise, the genotypes located farther from the center contributed the most to G and/or GE [27]. On the other hand, the environments with the longest vectors were the most discriminating ones [28]. In turn, the angle formed between the location of genotypes and their environments, has a correlation. The correlation is negative if the angle is obtuse, while an acute angle depicts a positive relation [29,30]. On the other hand, PC2 is related to the stability of the genotypes, being more stable than those genotypes that approached 0 [31]. Concerning the relationship between the genotype and the environment, the closer were the genotypes from the vector, the greater their adaptation to that specific environment [32].

In this assay, three genotypes performed well in combination with GA that promote quick germination [33]. Regarding the GI variable, the HC and HP treatments had a positive effect in two genotypes, simulating the effect of the digestive tract of birds in breaking dormancy in piquin pepper's seeds [15]. In the case of GP, some genotypes required gibberellic acid to promote a positive effect on germination, leading to pre-germination metabolic processes that reduced dormancy drastically. However, in order to reach better results, it was necessary to combine the application of gibberellic acid with treatments that control physical dormancy, such as mechanical scarification (sanding) and hydrochloric acid applications, to improve water uptake and help the emergence of the primary root through the seed coat [15,34]. Negative environments affected those genotypes that were close to the vector, such as hot water, which decreased the GP variable value in three genotypes, and increased the incidence of DS in three other genotypes. In previous works, the same condition has been observed in comparison with other treatments, since temperature is an important factor that affects latency and germination [35,36]. Abnormal seedlings are an undesirable condition that can be caused by environmental factors. In this case, HC promoted an increase of this variable, specifically in two genotypes, by interrupting the germination of the seeds, which could have altered the hormonal metabolites and their regulators [37]. The opposite happened with direct planting (WIT) and seed sanding, where the three genotypes drastically reduced the values of this variable. One of the best-known mechanisms of dormancy is the waterproof seed coat (hence the name "hard seeds"), where dormancy persists until part of the seed coat cracks and allows water to penetrate, giving rise to the imbibition process [38]. The genotypes presented this germination-limiting condition at different levels, but germination improved after the application of hormones like GA and AV. These applications, combined with scarification treatments; either mechanical sanding (MS) or acid applications (HC), can improve that impact. These results confirm that endogenous plant hormones like GA play an important role in seed dormancy release. On one hand, ABA inhibits germination, while on the other hand GA increases germination [39]. Also, the methods to soften artificially waterproof seeds can cause positive changes in germination [40].

4.4. Relationship among Physiological Variables Related to Germination

Knowledge of the existing correlations among the traits of economic importance is a useful tool for indirect selection [41]. The increase in desirable variables (GI, GS, and GP) led to a reduction of the most undesirable variables, such as DS and HS. These results can be useful in future works, which will require a smaller number of test traits.

5. Conclusions

Of the 11 treatments included in the present study, the one that increased the desirable characteristics of physiological potential of the germination of genotypes was the gibberellic acid. This showed that dormancy on piquin pepper seed is mostly influenced by physiological aspects.

Genotypes 8 and 10, originating in Colatlán (Nursery), Ixhuatlán de Madero, Veracruz and La Laborcilla, Rioverde, and San Luis Potosí showed a greater germination capacity, as they were statistically superior in 5 of 6 evaluated variables.

The analysis of the main components through a biplot graph helps to understand in a practical way the interactions. The treatments had different effects on each genotype. G8, G2, and G10 genotypes showed higher germination speed when applying gibberellic acid and its combination with sanding and hydrochloric acid. Likewise, the interaction of the G8 and G10 genotypes with the Peroxide treatments of hydrogen + gibberellic acid and hydrochloric acid showed superiority in the germination index. In the case of the germination percentage, the combinations G2 and G7 with sanding + gibberellic acid and G8 without treatment stood out. Abnormal seedlings were reduced especially in the genotypes G1 and G3 by applying sanding + gibberellic acid and G9 without any treatment. A significant reduction of dead seeds in the G6 genotype was achieved by sanding and G7 with hydrogen peroxide + gibberellic

acid. The combination of G3 with hydrochloric acid and G9 with hydrogen peroxide + gibberellic acid and Agromil-V® greatly reduced hard seeds.

The relationship between the variables is an important factor that will allow us to predict a certain feature in future work.

The association between genotypes made it possible to know their similarity and diversity according to the characteristics studied.

Author Contributions: Conceptualization, J.S.G.J.A.-R., and A.L.-B.; methodology, J.S.G.J.A.-R., A.L.-B., and M.E.V.-B.; software, J.S.G.J.A.-R., and M.A.P.-R.; validation, D.S.-A., and F.R.-G.; formal analysis, J.S.G.J.A.-R., A.L.-B., S.A.R.-H., and M.E.V.-B.; investigation, J.S.G.J.A.-R., A.L.-B., and M.E.V.-B.; resources, J.S.G.J.A.-R., and A.L.-B.; data curation, J.S.G.J.A.-R. and S.A.R.-H.; writing—original draft preparation, J.S.G.J.A.-R. and A.L.-B.; writing—review and editing, J.S.G.J.A.-R., A.L.-B., M.E.V.-B., D.S.-A., S.A.R.-H., M.A.P.-R., and F.R.-G.; visualization, J.S.G.J.A.-R., A.L.-B., M.E.V.-B., D.S.-A., S.A.R.-H., M.A.P.-R., and F.R.-G.; supervision, J.S.G.J.A.-R. and A.L.-B.; project administration, J.S.G.J.A.-R. and A.L.-B.; funding acquisition, J.S.G.J.A.-R. and A.L.-B. All authors have read and approved the final manuscript.

Funding: This research was funded by Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAA), project 2134.

Acknowledgments: We thank to the National Council for Science and Technology (CONACYT) for a graduate student's scholarship.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Medina-Martínez, T.; Villalón-Mendoza, H.; Pérez-Hernández, J.M.; Sánchez-Ramos, G.; Salinas-Hernández, S. Avances y perspectivas de investigación del chile piquín en Tamaulipas, México. *Ciencia UAT* **2010**, *4*, 16–21.
- González-Jara, P.; Moreno-Letelier, A.; Fraile, A.; Piñero, D.; García-Arenal, F. Impact of human management on the genetic variation of wild pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum*. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e28715.
- Cano-Vázquez, A.; López-Peralta, M.C.; Zavaleta-Mancera, H.A.; Cruz-Huerta, N.; Ramírez-Ramírez, I.; Gardea-Béjar, A.; González-Hernández, V.A. Variation in seed dormancy among accessions of chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Bot. Sci.* **2015**, *93*, 175–184.
- Rueda-Puente, E.O.; Murillo-Amador, B.; Castellanos-Cervantes, T.; García-Hernández, J.L.; Tarazon-Herrera, M.A.; Medina, S.M.; Barrera, L.E.G. Effects of plant growth promoting bacteria and mycorrhizal on *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* ([Dierbach] D'Arcy and Eshbaugh) germination under stressing abiotic conditions. *Plant Physiol. Biochem.* **2010**, *48*, 724–730. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Montes, H.S.; Ramírez, M.M.; Villalón, M.H.; Medina, M.T.; Morales, C.A.; Heredia, G.E.; Soto, R.J.M.; López, L.R.; Cardona, E.A.; Martínez, T.H.L. Conservación y aprovechamiento sostenible de chile silvestre (*Capsicum* spp. *Solanaceae*) en México. In *Avances Investigacion la Red Hortalizas del SINAREFI*; Libro Científico; INIFAP-CIR-CENTRO: Guanajuato, Mexico, 2006; pp. 71–134.
- Pedraza, R.L.C.; Gómez, G.A.A. Análisis exploratorio del mercado y la comercialización de chile piquín (*C. annuum*, var. *aviculare* Dierb.) en México. *Tecsistecatl* **2008**, *1*, 5.
- De la Rosa, M. Germination of simojovel pepper seeds (*Capsicum annuum* L.) previously exposed to NaCl and gibberellic acid. *Phytton (Buenos Aires)* **2012**, *81*, 165–168.
- Votava, E.J.; Nabhan, G.P.; Bosland, P.W. Genetic diversity and similarity revealed via molecular analysis among and within an *in situ* population and ex situ accessions of chiltepín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Conserv. Genet.* **2002**, *3*, 123–129. [[CrossRef](#)]
- Eshbaugh, W.H. Genetic and biochemical systematic studies of chili peppers (*Capsicum-Solanaceae*). *Bull. Torrey Bot. Club* **1975**, *102*, 396–403. [[CrossRef](#)]
- Finch-Savage, W.E.; Leubner-Metzger, G. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.* **2006**, *171*, 501–523. [[CrossRef](#)]
- Finkelstein, R.; Reeves, W.; Ariizumi, T.; Steber, C. Molecular aspects of seed dormancy. *Annu. Rev. Plant Biol.* **2008**, *59*, 387–415. [[CrossRef](#)]
- Doll, U.; Fredes, V.M.; Soto, V.C. Effect of different pre-germination treatments on germination of six native species from the mediterranean area of Chile. *IDESIA (Arica)* **2013**, *31*, 71–76. [[CrossRef](#)]

13. Prado-Urbina, G.; Lagunes-Espinoza, L.; García-López, E.; Bautista-Muñoz, C.; Camacho-Chiu, W.; Mirafuentes, G.F.; Aguilar-Rincón, V.H. Seed germination of wild chili peppers in response to pre-germination treatments. *Ecosistemas Recur. Agropecu.* **2015**, *2*, 139–149.
14. Félix-Herrán, J.A.; Sañudo-Torres, R.R.; Martínez-Ruiz, R.; Rojo-Martínez, G.E. Optimización del proceso germinativo de semillas de chile chiltepín [*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill]. *Juyyaania* **2013**, *1*, 57–69.
15. Quintero, C.M.F.; Castillo, O.G.; Sánchez, P.D.; Marín-Sánchez, J.; Guzmán, A.I.; Sánchez, A.; Guzmán, J.M. Relieving dormancy and improving germination of Piquín chili pepper (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) by priming techniques. *Cogent Food Agric.* **2018**, *4*, 1550275. [CrossRef]
16. García, F.A.; Montes, H.S.; Rangel, L.J.A.; García, M.E.; Mendoza, E.M. Physiological response of chili piquín [*Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill] seeds to gibberlic acid and hot water. *Rev. Mex. Cienc. Agrícolas* **2010**, *1*, 203–216.
17. Asgari, A.; Moghaddam, P.R.; Koocheki, A. Methods for breaking Chinese lantern (*Physalis alkekengi* L.) seed dormancy. Laboratory and greenhouse studies. *Rev. Fac. Agron. LUZ* **2018**, *35*, 127–151.
18. González-Cortés, N.; Jiménez, V.R.; Guerra, B.E.C.; Silos, E.H.; de la Payro, C.E. Germination of amashito Chili (*Capsicum annuum* L. var. *Glabriusculum*) in southeastern Mexico. *Rev. Mex. Cienc. Agrícolas* **2015**, *6*, 2211–2218.
19. Koornneef, M.; Bentsink, L.; Hilhorst, H. Seed dormancy and germination. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2002**, *5*, 33–36. [CrossRef]
20. Née, G.; Xiang, Y.; Soppe, W.J. The release of dormancy, a wake-up call for seeds to germinate. *Curr. Opin. Plant Biol.* **2017**, *35*, 8–14. [CrossRef]
21. Hayano-Kanashiro, C.; Gámez-Meza, N.; Medina-Juárez, L.Á. Wild pepper *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*: Taxonomy, plant morphology, distribution, genetic diversity, genome sequencing, and phytochemical compounds. *Crop Sci.* **2016**, *56*, 1–11. [CrossRef]
22. Hernandez-Verdugo, S.; Guevara-González, R.G.; Rivera-Bustamante, R.F.; Oyama, K. Screening wild plants of *Capsicum annuum* for resistance to pepper huasteco virus (PHV): Presence of viral DNA and differentiation among populations. *Euphytica* **2001**, *122*, 31–36. [CrossRef]
23. Meyer, S.E.; Allen, P.S.; Beckstead, J. Seed germination regulation in *Bromus tectorum* (Poaceae) and its ecological significance. *Oikos* **1997**, *78*, 475–485. [CrossRef]
24. Hernández-Verdugo, S.; López-España, R.G.; Porras, F.; Parra-Terraza, S.; Villarreal-Romero, M.; Osuna-Enciso, T. Variation in germination among populations and plants of wild chili pepper. *Agrociencia* **2010**, *44*, 667–677.
25. Yan, W.; Tinker, N.A. Biplot analysis of multi-environment trial data: Principles and applications. *Can. J. Plant Sci.* **2006**, *86*, 623–645. [CrossRef]
26. Kendal, E.; Sener, O. Examination of genotype × environment interactions by GGE biplot analysis in spring durum wheat. *Indian J. Genet.* **2015**, *75*, 341–348. [CrossRef]
27. Letta, T.; D'Egidio, M.G.; Abinasa, M. Stability analysis of quality traits in durum wheat (*Triticum durum* Desf.) varieties under south Eastern Ethiopian conditions. *World J. Agric. Sci.* **2008**, *4*, 53–57.
28. Muthoni, J.; Shimelis, H.; Melis, R. Genotype x environment interaction and stability of potato tuber yield and bacterial wilt resistance in Kenya. *Am. J. Potato Res.* **2015**, *92*, 367–378. [CrossRef]
29. Haider, Z.; Akhter, M.; Mahmood, A.; Khan, R.A.R. Comparison of GGE biplot and AMMI analysis of multi-environment trial (MET) data to assess adaptability and stability of rice genotypes. *Afr. J. Agric. Res.* **2017**, *12*, 3542–3548.
30. Hagos, H.G.; Abay, F. AMMI and GGE biplot analysis of bread wheat genotypes in the northern part of Ethiopia. *J. Plant Breed. Genet.* **2013**, *1*, 12–18.
31. Gedif, M.; Yigzaw, D. Genotype by environment interaction analysis for tuber yield of potato (*Solanum tuberosum* L.) using a GGE biplot method in Amhara region, Ethiopia. *Agric. Sci.* **2014**, *5*, 239–249. [CrossRef]
32. Baraki, F.; Tsehay, Y.; Abay, F. Analysis of genotype x environment interaction and seed yield stability of sesame in Northern Ethiopia. *J. Plant Breed. Crop Sci.* **2016**, *8*, 240–249.
33. Araya, E.; Gómez, L.; Hidalgo, N.; Valverde, R. Efecto de la Luz y del ácido gibérelico sobre la germinación in vitro de Jaul (*Alnus acuminata*). *Agron. Costarric.* **2000**, *24*, 75–80.
34. Karimpour, S.; Davarynejad, G.H.; Rouhbakhsh, H.; Ardakani, E. Data on scarification and stratification treatments on germination and seedling growth of *Ziziphus Jujuba* seeds. *Adv. Environ. Biol.* **2013**, *7*, 501–505.

35. Fredrick, C.; Muthuri, C.; Ngamau, K.; Sinclair, F. Provenance and pretreatment effect on seed germination of six provenances of *Faidherbia albida* (Delile) A. Chev. *Agrofor. Syst.* **2017**, *91*, 1007–1017. [[CrossRef](#)]
36. Batlla, D.; Benech-Arnold, R.L. A framework for the interpretation of temperature effects on dormancy and germination in seed populations showing dormancy. *Seed Sci. Res.* **2015**, *25*, 147–158. [[CrossRef](#)]
37. Nguyen, T.C.T.; Obermeier, C.; Friedt, W.; Abrams, S.R.; Snowdon, R.J. Disruption of germination and seedling development in *Brassica napus* by mutations causing severe seed hormonal imbalance. *Front. Plant Sci.* **2016**, *7*, 322. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Liu, R.; Wang, L.; Tanveer, M.; Song, J. Seed heteromorphism: An important adaptation of halophytes for habitat heterogeneity. *Front. Plant Sci.* **2018**, *9*, 1515. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Kucera, B.; Cohn, M.A.; Leubner-Metzger, G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Sci. Res.* **2005**, *15*, 281–307. [[CrossRef](#)]
40. Rolston, M.P. Water impermeable seed dormancy. *Bot. Rev.* **1978**, *44*, 365–396. [[CrossRef](#)]
41. Rodriguez, L.Y.; Depestre, M.T.L.; Palloix, A. Behavior of new pepper (*Capsicum annuum* L.) F₁ hybrid and varieties with multiresistance to virus in open field conditions. *Cultiv. Trop.* **2014**, *35*, 51–59.



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

SEGUNDO ARTÍCULO

DIVERSIDAD MORFOLÓGICA EN FRUTOS DE GENOTIPOS DE CHILE
PIQUÍN (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) DEL NORESTE Y CENTRO DE
MÉXICO

1 **Diversidad morfológica en frutos de genotipos de chile piquín (*Capsicum***
2 ***annuum var. *glabriusculum**) del noreste y centro de México**

3 **Morphological diversity in fruits of piquin pepper genotypes (*Capsicum***
4 ***annuum var. *glabriusculum**) from northeast and central Mexico**

5 Juan Samuel Guadalupe Jesús Alcalá-Rico¹, Alfonso Lopéz-Benítez^{2*}, Reinaldo Méndez-
6 Aguilar¹, Moisés Ramírez-Meraz¹, Nicolás Maldonado-Moreno¹, Leila Minea Vásquez
7 Siller²

8 ¹ Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias –Centro de
9 investigación Regional Noreste, Campo Experimental Las Huastecas, Carretera Tampico-
10 Mante km 55, Cuauhtémoc, Altamira, Tamaulipas, México. ² Departamento de
11 Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio, Calzada Antonio Narro 1923,
12 Buenavista, 25315 Saltillo, Coahuila, México. Autor para la correspondencia:
13 alfopezbe_2000@hotmail.com

14 **Resumen**

15 **Antecedentes y objetivos:** El chile piquín es una especie muy apreciada y demandada por
16 su fruto, el cual presenta un sabor y pungencia particulares ademas que se le atribuye que
17 es un condimento que no causa malestar estomacal. Su aprovechamiento intensivo se ha
18 visto limitado por la escasa información que presenta. Por tal motivo el objetivo de este
19 trabajo fue explorar la variación morfológica en frutos de genotipos de chile piquín.

20 **Métodos:** Se utilizaron diez genotipos de chile piquín, los cuales se establecieron en un
21 diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Evaluándose 21 caracteres
22 morfológicos relacionados con el fruto.

23 **Resultados clave:** El análisis de varianza reveló diferencias altamente significativas ($p <$
24 0.01) para la mayoría de variables en la fuente Genotipos de caracteres cuantitativos. De
25 acuerdo a su similitud se formaron seis grupos para caracteres cuantitativos y cuatro grupos
26 para caracteres pseudocualitativos. Así mismo, estos caracteres por medio del análisis de
27 componentes principales, los dos primeros componentes explicaron el 67.22% y 78.16% de
28 la variabilidad total. En el caso de caracteres cuantitativos, cuatro variables fueron las más
29 discriminatorias y los genotipos G7 y G8 presentaron los mayores valores por encima de la
30 media. Por otro lado, los caracteres pseudocualitativos presentaron cinco variables
31 discriminantes y ubicando a los genotipos G6 y G7 como los más altos en las categorías
32 que representa cada variable. Las características cualitativas no presentaron diferencias
33 entre genotipos indicando que estos caracteres son propios de los chiles piquínes.

34 **Conclusiones:** En general cada genotipo presentó un comportamiento diferente lo cual los
35 hace indispensables como recurso fitogenético para posteriores programas de
36 mejoramiento.

37 **Palabras clave:** Chile silvestre, variabilidad, cuantitativo, cualitativo, pseudocualitativo.

38 **Abstract:**

39 **Background and Aims:** Piquin pepper are a species that is highly prized and demanded for
40 its fruit, which has a particular flavor and pungency. Its use in commercial exploitation has

41 been limited by the limited information it presents. For this reason, the objective of this
42 work was to explore the morphological variation in fruits of genotypes of piquin pepper.

43 **Methods:** Ten piquin pepper genotypes were used, which were established in a randomized
44 complete block design with three replications. Evaluating 21 morphological characters
45 related to the fruit.

46 **Key results:** The analysis of variance revealed highly significant differences ($p < 0.01$) for
47 the majority of variables in the source Genotypes of quantitative characters. According to
48 their similarity, six groups were formed for quantitative characters and four groups for
49 pseudo-qualitative characters. Also, these characters through the analysis of main
50 components the first two components explained 67.22% and 78.16% of the total variability.

51 In the case of quantitative characters, four variables were the most discriminatory and
52 genotypes G7 and G8 had the highest values above the average. On the other hand, the
53 pseudo-qualitative characters presented five discriminant variables and placing the G6 and
54 G7 genotypes as the highest in the categories represented by each variable. The qualitative
55 characteristics did not show differences between genotypes indicating that these characters
56 are typical of the piquin peppers.

57 **Conclusions:** In general, each genotype presented a different behavior, which makes them
58 indispensable as a plant genetic resource for subsequent breeding programs.

59 **Keywords:** wild pepper, variability, quantitative, qualitative, pseudo-qualitative.

60

Introducción

61 El género *Capsicum* presenta al menos 32 especies silvestres y 5 domesticadas, su
62 origen y domesticación se encuentra en México (Bosland y Votava, 2012; Chiou y Hastorf,
63 2014), país donde el chile piquín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) es altamente
64 preferido presentando demanda en los mercados nacionales e internacionales, por su sabor
65 particular y pungencia por lo cual tiene un alto valor económico importante (Rodríguez-del
66 Bosque, 2005; Valiente-Banuet y Gutiérrez-Ochoa, 2016; Maiti et al., 2015). Por tal motivo
67 se ha intentado domesticar, pero esto no ha sido posible debido a las dificultades para
68 germinar la semilla, su limitada información fisiológica y la variabilidad en su morfología y
69 genética (García et al., 2010). En consecuencia, gran parte de su producción en forma
70 natural depende de las lluvias y de las temperaturas (Maiti et al., 2015). La planta
71 comúnmente se desarrolla debajo de una planta nodriza que le brinda cierta protección. Las
72 plantas nodrizas facilitan el crecimiento y el desarrollo de otras especies de plantas bajo su
73 dosel ya que ofrecen condiciones favorables de microclima (temperatura reducida del suelo
74 con mayor humedad del suelo y materia orgánica) para la germinación de semillas, el
75 crecimiento temprano y el desarrollo de las plantas (Bañuelos et al., 2008). *Capsicum*
76 *annuum* var. *glabriusculum* está ampliamente distribuido en México, el sur de los Estados
77 Unidos de América, América Central, Colombia y hasta muchas regiones del Perú (Barboza
78 y De Bem Bianchetti, 2005). En México, esta especie está registrada en todos los estados y
79 se encuentra ampliamente en la zona costera del país desde Sonora hasta Chiapas sobre el
80 Pacífico y desde Tamaulipas hasta Yucatán y Quintana Roo por el Golfo de México
81 (Pickersgill, 1988). La diversidad genética es el resultado de la evolución, sobrevivencia y
82 adaptación, lo cual es necesario para que los fitomejoradores puedan desarrollar nuevas
83 variedades (Ulukan, 2011). El chile piquín se caracteriza por una alta plasticidad fenotípica
84 debido a la variación de rasgos como la morfología de las hojas y el patrón de germinación

85 de las semillas (González-Jara et al., 2011). Además, esta especie se considera el pimiento
86 con mayor variación en el tamaño, la forma y el color de sus frutos (Hernández-Verdugo *et*
87 *al.*, 2001). A partir de esta diversidad genética es posible identificar accesiones necesarias
88 para su aprovechamiento y conservación, la cual se puede medir a partir de descriptores
89 morfológicos, bioquímicos, citogenéticos y moleculares (Mondini et al., 2009; López-Báez
90 *et al.*, 2018). Actualmente existe poca información sobre el desarrollo y potencial del fruto
91 del chile piquín. Con base en ello se realizó la siguiente investigación, cuyos objetivos
92 fueron determinar la variabilidad de genotipos a través sus características morfológicas en
93 fruto y fijar los descriptores que permitan discriminar los genotipos de chile piquín.

94 **Materiales y Métodos**

95 **Localización del sitio experimental**

96 La investigación se desarrolló en el invernadero No. 7 del Departamento de
97 Fitomejoramiento y bajo mallasombra al 30% en el Departamento de Forestal de la
98 Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizado en Buenavista, Saltillo,
99 Coahuila, México cuyas coordenadas son 25°21'12.05''N y 101°01'38.43''O, y una altitud
100 de 1781 msnm. Presentando un clima templado semiseco, temperatura media anual 17°C,
101 con una precipitación anual de 481 mm.

102 **Material vegetal**

103 Se utilizaron diez genotipos de chile piquín de diferentes orígenes geográficos de
104 México (Cuadro 1), los cuales fueron proporcionados por el Instituto Nacional de

105 Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental las
 106 Huastecas.

107 **Cuadro 1:** Identificación y sitios de colecta de los genotipos de chile piquín.

| ID | Localidad | Municipio | Estado | Coordenadas | Altitud (msnm) |
|----|--------------------------|------------------------|------------|-----------------------------|----------------|
| G1 | Estación Álamo | Villaldama | Nuevo León | 26°23'51" N 100°23'42" O | 492 |
| G2 | Ej. Potrero de Zamora | Aramberri | Nuevo León | 24°02'20" N 99°55'15" O | 1667 |
| G3 | Ej. Lázaro Cárdenas | Burgos | Tamaulipas | 24°56'56" N 98°47'59" O | 174 |
| G4 | Barranco Azul | San Carlos | Tamaulipas | 24°24'01" N 99°06'50" O | 260 |
| G5 | Palo Blanco | Castaños | Coahuila | 26°46'02" N 101°30'01" O | 806 |
| G6 | Colatlán | Ixhuatlán de Madero | Veracruz | 20°49'04" N 98°05'45" O | 289 |
| G7 | Tiopancahuatl | Ixhuatlán de Madero | Veracruz | 20°41'06" N 98°00'44" O | 273 |
| G8 | Colatlán (Vivero) | Ixhuatlán de Madero | Veracruz | 20°49'04" N 98°05'45" O | 289 |
| G9 | El Rincón | Linares | Nuevo León | 24°53'40" N 99°28'13" O | 351 |

| | | | | | |
|-----|---------------|----------|--------------------|----------------------------|-----|
| G10 | La Laborcilla | Rioverde | San Luis Potosí | 21°51'37" N 99°54'40" O | 990 |
| 108 | | | | | |

109

Metodología

110 Los genotipos se incrementaron en invernadero por medio de autofecundaciones. Al
 111 momento de inicio de floración cada botón floral fue cubierto con un glassin para evitar
 112 polinización cruzada. Posteriormente los frutos se cosecharon en estado maduro y se les
 113 extrajo la semilla.

114

Siembra

115 Antes de la siembra se realizó un tratamiento pregerminativo dejando sumergida la
 116 semilla en ácido giberélico a 5000 ppm por 24 horas a temperatura ambiente. Se utilizaron
 117 charolas germinadoras de 200 cavidades, como sustrato se empleó peat moss, se colocaron
 118 dos semillas por cavidad y 60 semillas por genotipo, esto se realizó por la baja y variada
 119 germinación que pueden presentar los genotipos además de tomar en cuenta las probables
 120 plántulas que no puedan desarrollar. Después se asperjó un fungicida orgánico llamado
 121 BIORGAN SF® a una concentración de 2.5 ml L⁻¹ de agua. En seguida se procedió a
 122 realizar el sellado el cual consiste en poner una charola sobre otra, dejándolas empalmadas
 123 y siendo cubiertas por una película de plástico negro con la finalidad de acelerar el proceso
 124 de germinación. Se hicieron revisiones constantes de emergencia de plántulas, retirando el
 125 sellado a los 7 días después de la siembra.

126

Trasplante

127 Este proceso se realizó en mallasombra donde las plántulas a los dos meses después
 128 de la siembra fueron trasplantadas en bolsas de polietileno negras de 30x30 cm, cuyo
 129 sustrato fue tierra de lombricomposta, estas se colocaron sobre estructuras metálicas de 1 m
 130 de altura.

131 **Diseño experimental**

132 Los diez genotipos de chile piquín se estableció en un diseño experimental con una
 133 distribución en bloques completos a azar con tres repeticiones y la unidad experimental
 134 constó de seis plantas por repetición. La distancia entre plantas fue de 0.5 m, entre hileras
 135 de 0.9 m y entre calles de 1 m.

136 **Manejo**

137 Se aplicaron dos tipos de fertilizaciones dos veces por semana cada uno, el primero
 138 fue foliar utilizando el producto Maxigrow® a una dosis de 500 cc ha⁻¹; el segundo fue al
 139 suelo aplicando la fórmula de fertilización que se presenta en el cuadro 2. Los riegos se
 140 aplicaron dependiendo de los requerimientos hídricos de las plantas. Se realizaron tres
 141 deshierbes manuales a lo largo del ciclo del cultivo.

142 **Cuadro 2:** Formula de fertilización para el suelo.

| Fertilizante | Dosis (g ha ⁻¹) |
|--------------------|-----------------------------|
| Quelato de Fierro | 28 |
| Urea | 14 |
| Fosfato de Amonio | 28 |
| Sulfato de Potasio | 84 |

| | |
|-------------------------|-----|
| Sulfato de Magnesio | 84 |
| Borato de Sodio | 1 |
| Sulfato de Amonio | 28 |
| Proquelato de Manganeso | 28 |
| Nitrato de Calcio | 280 |

143

144 **Parámetros evaluados**

145 Se utilizaron dos guías técnicas para la descripción varietal de chile (*Capsicum*
 146 *annuum* L) la primera propuesta por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo
 147 Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y el Servicio Nacional de Inspección y
 148 Certificación de semillas (SNICS) y la segunda propuesta por el Instituto Internacional de
 149 Recursos Fitogenéticos (IPGRI).

150 Se evaluaron siete características cuantitativas, tres cualitativas y 14
 151 pseudocualitativas (Cuadro 3).

152 **Cuadro 3:** Características evaluadas en relación al fruto de chile piquín.

| | ID | Variable | Forma de medir |
|---------------|-------|---------------------|----------------|
| Cuantitativas | FL | Longitud | Centímetros |
| | FD | Diámetro | Centímetros |
| | FL/FD | Relación | Centímetros |
| | | Longitud/Diámetro | |
| | FNPL | Número Predominante | Número |

| | | | |
|--------------------|------|---------------------------------|---|
| | | de Loculos | |
| | FGPR | Grosor del pericarpio | Milímetros |
| | FLP | Longitud del Pedúnculo | Centímetros |
| | FGPE | Grosor del Pedúnculo | Milímetros |
| Cualitativas | FrP | Posición | 1 = Erecta, 2 = Horizontal, 3 = pendiente |
| | FCP | Cavidad Pedúncular | 1 = Ausente, 9 = Presente |
| | | Contenido de | 1 = Ausente, 9 = Presente |
| | FCCP | Capsaicina en la | |
| | | placenta | |
| Pseudocualitativas | FCAM | Color antes de la madurez | 1 = Blanco verdoso, 2 = Amarillento, 3 = Verde, 4 = Purpura 1= Aplanada, 2= Redonda, 3= De corazón, 4= Cuadrada, 5 = Rectangular, 6= Trapezoidal, 7=Triangular, 8=Triangular estrecha, 9 = de cuerno |
| | FF | Forma | |
| | FFST | Forma de la sección transversal | 1= Elíptica, 2= Angular, 3= Circular |
| | FOT | Ondulación Transversal | 1= Débil, 2= Media, 3= Fuerte |
| | FCM | Color en Madurez | 1= Amarillo, 2= Naranja, 3= Rojo, 4= Café |
| FICAM | | Intensidad de Color | 3= Claro, 5=Medio, 7= Oscuro |
| | | antes de Madurez | |

| | | | |
|------|-------------------------|------------------------|---|
| | | Intensidad de Color en | 3= Claro, 5=Medio, 7= Oscuro |
| FICM | | Madurez | |
| FFA | Forma del Apice | | 1= Agudo, 2= Redondeado, 3= Hundido, 4= Hundido y Agudo |
| FT | Textura | | 1= Liso, 2= Corchoso, 3= Rugoso |
| | Profundidad de | | 1=Ausentes, 2= Poco profundas, 3= Medianas, |
| FPDI | Depresiones | | 4= Profundas, 5= Muy profundas |
| | interloculares | | |
| FS | Sabor | | 1= Dulce, 2= Pungente |
| FPP | Posición de la placenta | | 3= Compacta, 5= Semidistribuida, 7= Distribuida |
| FAC | Aspecto del Cáliz | | 1= No desarrollado, 2= Desarrollado |
| FMC | Margen del Cáliz | | 1= Entero, 2= Intermedio, 3= Dentado |

153

Análisis

154 El análisis de varianza se efectuó solo en caracteres cuantitativos. Se realizaron
 155 análisis de componentes principales y análisis de conglomerados jerárquicos con el Método
 156 de Grupo de Pares no Ponderados con Media Aritmética (UPGMA) y con la distancia
 157 euclíadiana como media de disimilitud a partir de los cuales se construyó un dendrograma
 158 para caracteres cuantitativos y pseudocualitativos. En lo que respecta los caracteres
 159 cualitativos se analizaron a través de un gráfico de barras. Cada proceso se hizo utilizando
 160 el software Excel 2019 y R versión 3.6 (R Core Team, 2019).

161

Resultados

162 En el análisis de varianza para caracteres cuantitativos se encontraron diferencias
 163 altamente significativas ($p < 0.01$) para la mayoría de variables en la Fuente de Variación
 164 Genotipos con excepción de FNPL. Por otro lado, la Fuente Repetición solo mostró
 165 diferencias ($p < 0.05$) para FD. En lo que respecta la fuente Planta tuvo significancia ($p <$
 166 0.01) para las variables FL, FD, FL/FD y diferencias ($p < 0.05$) para FLP (Cuadro 4). Estas
 167 divergencias pudieran deberse a la constitución genética específica en cada genotipo.

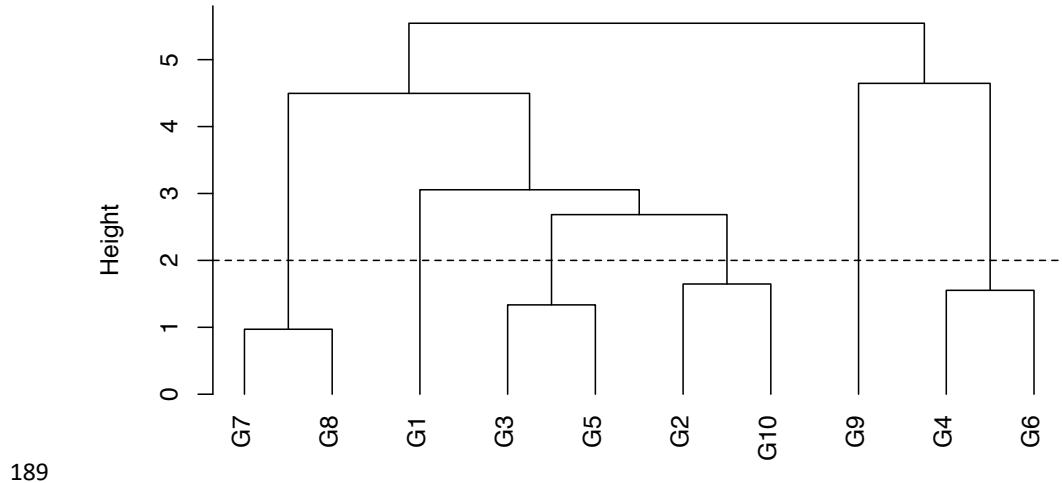
168 **Cuadro 4:** Cuadrados medios del análisis de varianza para caracteres cuantitativos en diez
 169 genotipos de chile piquín.

| Variables | Fuente de Variación | | | Media | CV | R^2 |
|-----------|---------------------|-----------|----------|-------|-------|-------|
| | Rep | Gen | Pta | | | |
| FL | 0.71 | 142.26 ** | 19.69 ** | 8.65 | 6.38 | 0.97 |
| FD | 0.39 * | 10.12 ** | 18.91 ** | 5.86 | 6 | 0.9 |
| FL/FD | 0.01 | 8.33 ** | 0.12 ** | 1.54 | 7.65 | 0.97 |
| FNPL | 0.29 | 0.33 | 0.24 | 2.21 | 19.16 | 0.14 |
| FGPR | 0.03 | 0.11 ** | 0.01 | 0.67 | 22.17 | 0.24 |
| FLP | 0.25 | 0.89 ** | 0.23 * | 2.19 | 12.37 | 0.45 |
| FGPE | 0.05 | 0.09 ** | 0.02 | 0.99 | 16 | 0.19 |

170 *, ** Significativos a los niveles de probabilidad 0.05 y 0.01, Gen= Genotipos,
 171 Rep=Repeticiones, Pta=Plantas, CV=Coeficiente de Variación, R^2 = Coeficiente de
 172 determinación.

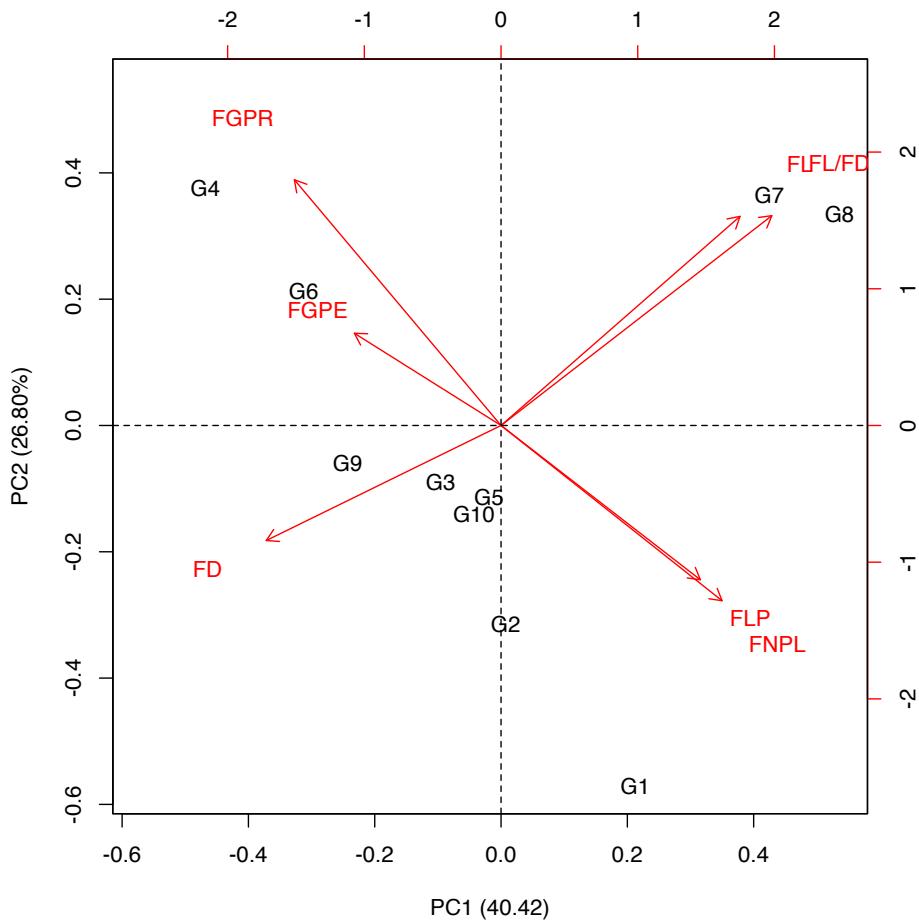
173 De acuerdo a las características cuantitativas los genotipos pudieron conglomerarse
 174 en seis grupos a dos unidades. El primer grupo estuvo conformado por el G7 y G8
 175 originarios de Veracruz caracterizándose por tener valores altos de FL y FLP e intermedios

176 en FGPE, el segundo grupo fue representado por el G1 de Villaldama, Nuevo León
 177 teniendo valores bajos en FGPR y FL/FD, en el tercer grupo se integró el G3 de Burgos,
 178 Tamaulipas y G5 de Castaños, Coahuila el cual se asoció con valores altos en FGPR y
 179 FGPE, así como valores bajos en FL/FD y FLP además de tener valores intermedios en FD,
 180 en el cuarto grupo estuvo incluido el G2 de Aramberri, Nuevo León y G10 de Rioverde,
 181 San Luis Potosí presentando valores intermedios en FGPR y FLP además de tener valores
 182 bajos en FL/FD, el quinto grupo lo representó el G9 de Linares, Nuevo León teniendo
 183 valores intermedios en FL y FL/FD así mismo presentando valores bajos en FLP y el
 184 ultimo grupo se integró por G4 de San Carlos, Tamaulipas y G6 de Ixhuatlán de Madero,
 185 Veracruz teniendo valores altos en las variables FL/FD y FLP, así mismo coinciden en
 186 tener valores bajos en FGPE (Fig. 1). Estas agrupaciones pudieron deberse a la
 187 conformación genética que comparten los genotipos, a la adaptacion evolutiva de cada sitio
 188 particular y a la distancia geográfica.



189
 190 **Figura 1:** Dendrograma de diez genotipos de chile piquín en siete características
 191 cuantitativas.

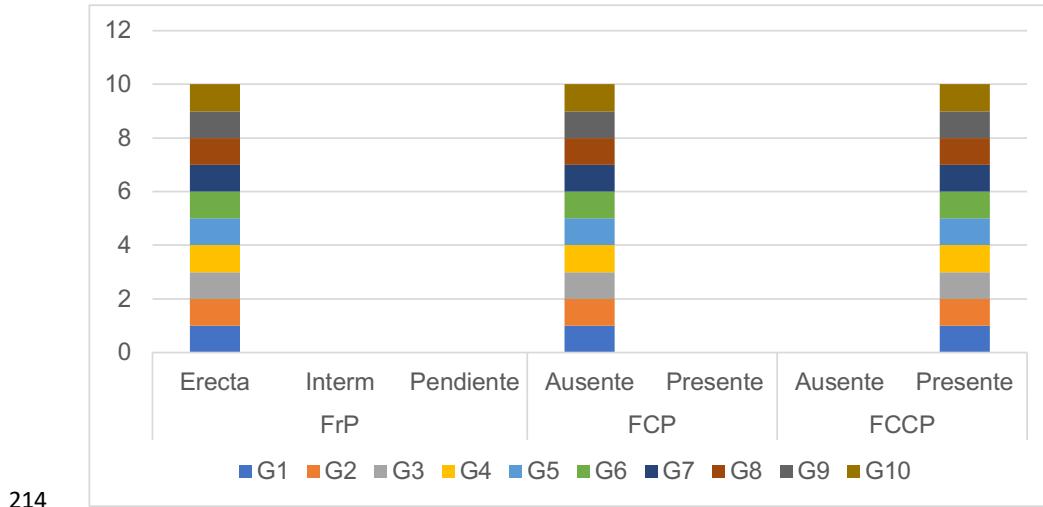
192 En lo que respecta el análisis de componentes principales, los dos primeros
193 componentes explicaron el 67.22% de la variabilidad total de las características evaluadas,
194 siendo el PC1 el más importante con mayor porcentaje de participación (40.42%), estando
195 asociado con las variables FL, FL/FD, FNPL y FLP, de la misma manera el PC2 se
196 relacionó con FGPR y FGPE. Además, se observó una correlación positiva entre el FGPR,
197 FGPE y FD, de la misma forma existió asociación entre FLP y FNPL, también hubo
198 similitud entre FL con FL/FD. Por otro lado, se presentó correlación negativa entre las
199 variables FGPE y FGPR con FLP y FNPL, mostrando la misma condición FL y FL/FD con
200 FD. De las siete variables solo cuatro fueron las más discriminatorias (FD, FGPR, FL/FD y
201 FNPL). En general, los genotipos que sobresalieron con los mayores valores fue el G7 y G8
202 a diferencia del G4 que mostró tener los más bajos valores y por otro lado el G2, G5 y G10
203 se colocaron muy cerca de la linea vertical, lo que indica que presentó valores cercanos al
204 promedio general. En cuanto a la estabilidad destacaron los genotipos G9, G3, G10 y G5
205 (Fig. 2). Cada variable en cada genotipo representa un valor específico, lo cual puede
206 deberse a la diversidad fenotípica que presentan.



207

208 **Figura 2:** Análisis de componentes principales de diez genotipos a través de sus
209 características cuantitativas.

210 En la evaluación de características cualitativas se observó una uniformidad lo que
211 significa que no hubo variación entre genotipos para cada característica (Fig. 3). Estas
212 pudieran considerarse para detectar morfológicamente el fruto de chile piquín, pero no para
213 discriminar entre accesiones de la misma especie.



214 **Figura 3:** Características cualitativas de fruto en diez genotipos de chile piquín.

215 De acuerdo a las características pseudocualitativas se formaron cuatro grupos. El
 216 primero lo conformaron tres genotipos originarios de Aramberri, Villaldama y Burgos, los
 217 primeros dos genotipos del estado de Nuevo León y el tercero de Tamaulipas
 218 caracterizándose principalmente por tener la forma del fruto redonda, el segundo grupo
 219 estuvo conformado por el G4 de San Carlos, Tamaulipas, G5 de Castaños, Coahuila, G9 de
 220 Linares, Nuevo León y G10 de Rioverde, San Luis Potosí teniendo en común la forma de
 221 fruto de corazón, el tercer grupo estuvo integrado por el G8 de Colatlán, Ixhuatlán de
 222 Madero, Veracruz caracterizándose por tener un color e intensidad de fruto antes de
 223 madurez blanco verdoso y claro, así mismo el cuarto grupo se integró por el resto de
 224 genotipos de Veracruz teniendo la forma del fruto rectangular y la intensidad de color antes
 225 de madurez oscuro (Fig. 4). Esta asociación pudo deberse sobre todo al origen geográfico y
 226 a las condiciones particulares en las que ha evolucionado los genotipos, lo que los impulsó
 227 a desarrollar características específicas.
 228

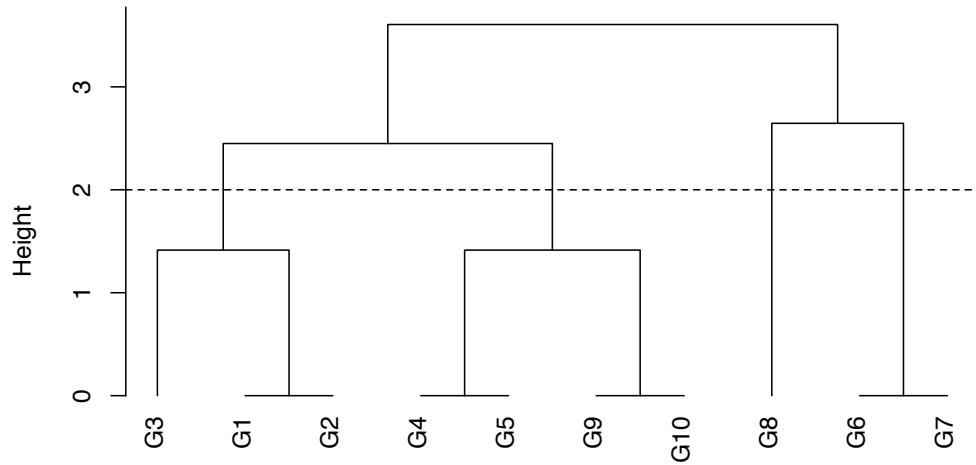
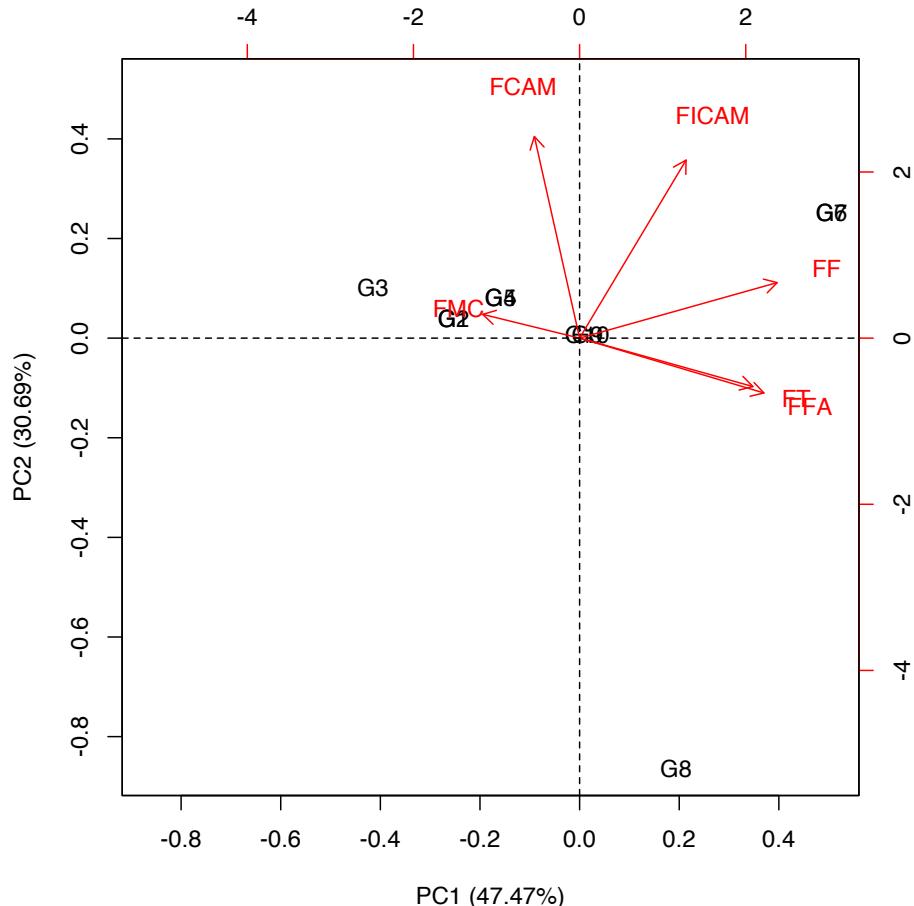


Figura 4: Dendrograma de diez genotipos de chile piquín en 14 características pseudocualitativas.

En el análisis de componentes principales de características pseudocualitativas los dos primeros componentes lograron explicar el 78.16% de la variación. Se descartaron aquellas variables que no presentaron diferencias entre los genotipos, por lo cual se analizaron 6 de 14 características. El PC1 estuvo asociado con las variables FF, FFA y FT, así mismo el PC2 con FCAM y FICAM. Se obtuvo una correlación positiva entre las variables FMC y FCAM, teniendo la misma condición las variables FICAM, FF, FT y FFA. Siendo la FFA la más discriminante de estas dos últimas variables las cuales presentaron una relación negativa con FMC. Cabe destacar que el genotipo G6 y G7 presentaron en la mayoría de casos la categoría más alta de cada variable evaluada y por el contrario el G3 estuvo involucrado en las categorías más bajas (Fig. 5).



242

243

244

245

Figura 5. Análisis de componentes principales de diez genotipos a través de sus características pseudocualitativas.

Discusión

246

247

248

En características cuantitativas los frutos de chile presentaron diferencias entre y dentro de genotipos lo cual es de vital importancia en un programa de mejoramiento genético, ya que se requiere de una amplia base genética y la caracterización morfológica

249 es el primer paso en el mejoramiento de cultivos donde se pueden identificar plantas y
250 conservar los recursos genéticos (Onamu et al., 2012).

251 Estas diferencias son indispensables para la creación de nuevas variedades
252 sostenibles y competitivas, que contemple la producción de híbridos con buen potencial de
253 rendimiento, estables y resistentes a las principales enfermedades (Díaz et al., 2010;
254 Rodríguez et al., 2007)

255 Por otro lado, la agrupación de los genotipos representa cierto parentesco entre cada
256 uno de ellos de acuerdo a las características evaluadas, esto indica poca variabilidad entre
257 los genotipos estudiados (González et al., 2011). En el 2005, (Adetula, 2006) estimó la
258 relación entre accesiones de *Capsicum* las cuales serían usadas en el mejoramiento de la
259 productividad y la estabilidad en el rendimiento de los cultivos

260 Así mismo, a través del Biplot se lograron observar asociaciones entre variables y la
261 condición de los genotipos, indicando que cada genotipo tiene una forma particular en la
262 expresión de cierto carácter. La interacción ocurre cuando diferentes genotipos responden
263 diferente a distintos ambientes en este caso variables (Allard y Bradshaw, 1964).

264 Por lo tanto la diversidad del fruto es un punto clave en la morfológica del chile
265 piquín, ya que se ha observado que las variables de planta y fruto han sido las de mayor
266 contribución en la explicación de los primeros componentes principales de chiles (Villota-
267 Cerón et al., 2012).

268 Por otro lado, también se detectaron las variables mas discriminantes por lo que al
269 eliminar aquellas variables que no muestran significancia a la explicación de la variación

270 mejora el análisis de componentes principales y disminuye el trabajo en la toma de datos
271 (Castañón-Nájera et al., 2008). Así mismo las variables con vectores más largos
272 discriminan más los genotipos, mientras que un marcador de variable con un vector muy
273 corto proporciona poca o ninguna información sobre las diferencias de genotipo (Yan et al.,
274 2007).

275 Los genotipos se distribuyeron en cuatro cuadrantes de la grafica, lo que indica que
276 la variabilidad en las características está enfocada en los primeros dos componentes
277 principales (Cruz-Lázaro et al., 2017).

278 También se detectaron los genotipos mas sobresalientes con mayores y menores
279 valores. Siendo los genotipos y entornos con PC1 mayor que cero clasificados como
280 genotipos de valores mayores a la media general y entornos favorables, mientras que
281 aquellos con PC1 menor que cero se clasificaron como genotipos con valores bajos
282 menores a la media y entornos desfavorables (Yan y Thinker, 2006).

283 La asociación entre variables y genotipos es un aspecto que nos indica en cual
284 variable cierto genotipo presentó valores sobresalientes y está determinada tanto por la
285 longitud de sus vectores como por el coseno del ángulo entre ellos (Yan y Thinker, 2006).

286 En cuestión de los caracteres cualitativos no se encontraron diferencias indicando
287 que estas son características representativas del chile silvestre (Mongkolporn y Taylor,
288 2011; Narez-Jiménez et al., 2014).

289 De acuerdo a los caracteres pseudocualitativos se formaron menos grupos en
290 comparación con las características cuantitativas, a pesar de que se evaluó un número

291 mayor de variables, indicando que existe mayor similitud en este tipo de caracteres. Estas
292 agrupaciones también pudieron deberse a las condiciones específicas de cada región a las
293 que cada genotipo tuvo que adaptarse.

294 En lo que respecta el análisis de componentes principales cada genotipo y variable
295 se presentaron de manera diferente, lo que pudo deberse a la distinta condición genética que
296 presentan los genotipos. Estó confirma que la diferencia de los rasgos se debió tanto a los
297 efectos principales como a los de interacción (Baraki et al., 2016).

298 Tanto en caracteres cuantitativos como en pseudocualitativos los dos primeros
299 componentes principales explicaron mas de 60% de la variabilidad de los datos lo que
300 implicó que el biplot se pueden interpretar de manera segura como una representación
301 gráfica (Yang et al., 2009; Rakshit et al., 2012)

302 El uso de herramientas estadísticas como lo son las distancias y componentes
303 principales ayudan en el desarrollo, identificación y selección de genotipos adecuados.

304 **Conclusiones**

305 Se encontró variabilidad morfológica de fruto de chile piquín de genotipos de
306 diferentes orígenes geográficos, lo que representa un reservorio de genes que pueden tener
307 un uso potencial para la domesticación, mejoramiento genético y solución de problemas
308 agrícolas futuros de este cultivo.

309 Se demostró que solo cuatro características cuantitativas y cinco pseudocualitativas
310 son las adecuadas para poder discriminar y caracterizar genotipos a través de la variabilidad
311 morfológica del fruto.

312 **Contribución de los autores**

313 Los autores al contribuyeron de igual manera en el desarrollo del trabajo de
 314 investigación desde el diseño y realización de la investigación, análisis, interpretación de
 315 datos, preparación de las figuras y redacción del manuscrito.

316 **Agradecimientos**

317 A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por financiar el proyecto, al
 318 INIFAP, campo experimental las Huastecas por proporcionarnos el material vegetal y al
 319 Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca de posgrado.

320 **Literatura citada.**

- 321 Adetula, O.A. 2006. Genetic diversity of *Capsicum* using random amplified polymorphic
 322 DNAs. *African Journal of Biotechnology*, 5(2): 120–122.
- 323 Allard, R.W. y Bradshaw, A.D. 1964. Implication of genotype by environmental interaction
 324 in applied plant breeding. *Crop Science*, 4(5): 503–506.
- 325 Bañuelos, N., Salido, P.L. y Gardea, A. 2008. Etnobotánica del chiltepín. Pequeño gran
 326 señor en la cultura de los sonorenses. *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)*, 16(32):
 327 177–205. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-45572008000200006 16 July 2019.
- 329 Baraki, F., Tsehay, Y. y Abay, F. 2016. Analysis of genotype x environment interaction
 330 and seed yield stability of sesame in Northern Ethiopia. *Journal of Plant Breeding and*
 331 *Crop Science*, 8(11): 240–249. <http://www.academicjournals.org/JPBCS> 22 November

- 332 2018.
- 333 Barboza, G.E. y De Bem Bianchetti, L. 2005. Three New Species of *Capsicum*
334 (Solanaceae) and a Key to the Wild Species from Brazil. *Systematic Botany*, 30(4):
335 863–871. [http://www.ingentaselect.com/rpsv/cgi-](http://www.ingentaselect.com/rpsv/cgi-bin/cgi?ini=xref&body=linker&reqdoi=10.1600/036364405775097905)
336 7 August
337 2019.
- 338 Bosland, P.W. y Votava, E.J. 2012. *Peppers : vegetable and spice capsicums*. CABI.
- 339 Castañón-Nájera, G., Latournerie-Moreno, L., Mendoza-Elos, M., Vargas-López, A. y
340 Cárdenas-Morales, H. 2008. Colección y caracterización de chile (*Capsicum* spp.) en
341 Tabasco, México. *Phyton*, 77: 189–202.
- 342 Chiou, K.L. y Hastorf, C.A. 2014. A Systematic Approach to Species-Level Identification
343 of Chile Pepper (*Capsicum* spp.) Seeds: Establishing the Groundwork for Tracking the
344 Domestication and Movement of Chile Peppers through the Americas and Beyond.
345 *Economic Botany*, 68(3): 316–336. <http://link.springer.com/10.1007/s12231-014-9279-2> 22 June 2019.
- 347 Cruz-Lázaro, E.D.L., Márquez-Quiroz, C., Osorio-Osorio, R., Preciado-Rangel, P. y
348 Márquez-Hernández, C. 2017. Caracterización morfológica in situ de chile silvestre
349 Pico de paloma (*Capsicum frutescens*) en Tabasco, México. *Acta universitaria*, 27(2):
350 10–16.
- 351 Díaz, A., Quiñones, M., Hernández, A. y del Barrio, G. 2010. Evaluación de los parámetros
352 analíticos para la detección molecular de potyvirus que afectan al cultivo del pimiento
353 en Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, 25(2): 80–87.

- 354 García, F.A., Montes, H.S., Rangel, L.J.A., García, M.E. y Mendoza, E.M. 2010.
355 Physiological response of chili piquin [*Capsicum annuum* var. *glabriusculum* (Dunal)
356 Heiser & Pickersgill] seeds to gibberelic acid and hot water. *Revista mexicana de*
357 *ciencias agrícolas*, 1(2): 203–216.
358 http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342010000200007 12 April 2019.
- 360 González-Jara, P., Moreno-Letelier, A., Fraile, A., Piñero, D. y García-Arenal, F. 2011.
361 Impact of Human Management on the Genetic Variation of Wild Pepper, *Capsicum*
362 *annuum* var. *glabriusculum* N. Salamin, ed. *PLoS ONE*, 6(12): e28715.
363 <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0028715> 12 April 2019.
- 364 González, I., Arias, Y., Quiñones, M., Miranda, I., Rodríguez, Y. y Peteira, B. 2011.
365 Variabilidad molecular de genotipos de pimiento (*capsicum annuum* l.) del programa
366 de mejoramiento genético para la resistencia a pvy. *Revista de Protección Vegetal*,
367 26(2): 69–73.
- 368 Hernández-Verdugo, S., Luna-Reyes, R. y Oyama, K. 2001. Genetic structure and
369 differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum*
370 (Solanaceae) from Mexico. *Plant Systematics and Evolution*, 226(3–4): 129–142.
371 <http://link.springer.com/10.1007/s006060170061> 16 July 2019.
- 372 López-Báez, L.I., Taboada-Gaytán, O.R., Gil-Muñoz, A., López, P.A., Ortiz-Torres, E.,
373 Vargas-Vázquez, M.L.P. y Díaz-Cervantes, R. 2018. Morpho-agronomic diversity of
374 the runner bean in the central-eastern highland plateau of Puebla. *Rev. Fitotec. Mex.*,
375 41(4-A): 487–497. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/41-487-497.pdf>

- 376 4A/1a.pdf 22 June 2019.
- 377 Maiti, R., Rodriguez, H.G. y Valencia-Narvaez, R.I. 2015. A Study on Autoecology and
378 Ecophysiology of Chile Piquin (*Capsicum annuum Aviculare* Dierb), a Wild Chilli of
379 High Medicinal and Commercial Value in Northeast Mexico. *International Journal of*
380 *Bio-Resource & Stress Management*, 6(2): 292–299.
381 <https://web.a.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtyp=e=crawler&jrnl=09763988&AN=120371739&h=6wuepGYy9Ne%2FKVzz0cnQu5xXH6ppg4fDjqz%2Be%2BjcE7lHRUiyD2Uw0kLrQskEMuDqBHpr0tyGhGaR2p%2BdziqtMw%3D%3D&crl=c&resultNs=AdminWebAuth&result> 22 June 2019.
- 385 Mondini, L., Noorani, A., Pagnotta, M., Mondini, L., Noorani, A. y Pagnotta, M.A. 2009.
386 Assessing Plant Genetic Diversity by Molecular Tools. *Diversity*, 1(1): 19–35.
387 <http://www.mdpi.com/1424-2818/1/1/19> 22 June 2019.
- 388 Mongkolporn, O. y Taylor, P.W. 2011. *Capsicum*. In Wild Crop relatives: Genomic and
389 breeding resources. In *Springer, Berlin, Heidelberg*. 43–57.
- 390 Narez-Jiménez, C.A., De la Cruz-Lazaro, E., Gómez-Vázquez, A., Castañón- Nájera, G.,
391 Cruz-Hernández, A. y Márquez-Quiroz, C. 2014. La diversidad morfológica in situ de
392 chiles silvestres (*Capsicum* spp.) de Tabasco, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*,,
393 37(3): 209–215.
- 394 Onamu, R., Legaria, S.J.P., Sahagún, C.J., Rodríguez, de la O.J. y Pérez, N.J. 2012.
395 Análisis de marcadores morfológicos y moleculares en papa (*Solanum tuberosum* L.).
396 *Rev. Fitotec. Mex.*, 35(4): 267–277.
- 397 Pickersgill, B. 1988. The genus *Capsicum*: a multidisciplinay approach to the taxonomy of

- 398 cultivated and wild plants. *BIOLOGISCHES ZENTRALBLATT*, 107: 381–389.
- 399 <https://worldveg.tind.io/record/17713/> 7 August 2019.
- 400 R Core Team. 2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R
- 401 Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org>.
- 402 Rakshit, S., Ganapathy, K.N., Gomashe, S.S., Rathore, A., Ghorade, R.B., Nagesh Kumar,
- 403 V.M., Ganesmurthy, K., Jain, S.K., Kamtar, M.Y., Sachan, J.S., Ambekar, S.S.,
- 404 Ranwa, B.R., Kanawade, D.G., Balusamy, M., Kadam, D., Sarkar, A., Tonapi, V.A. y
- 405 Patil, J. V. 2012. GGE biplot analysis to evaluate genotype, environment and their
- 406 interactions in sorghum multi-location data. *Euphytica*, 185(3): 465–479.
- 407 Rodríguez-del Bosque, L.A. 2005. Preferencia del consumidor por el chile piquín en
- 408 comparación con otros chiles en el noroeste de México. *Revista Chapingo Serie*
- 409 *Horticultura*, 11(2): 279–281. <https://www.redalyc.org/html/609/60911214/> 22 June
- 410 2019.
- 411 Rodríguez, Y., Depestre, T. y Gómez, O. 2007. Obtención de líneas de pimiento (*Capsicum*
- 412 *annuum*) progenitoras de híbridos F1, resistentes a enfermedades virales, a partir del
- 413 estudio de cuatro sub-poblaciones. *Ciencia e investigación agraria*, 34(3): 237–242.
- 414 Ulukan, H. 2011. The use of plant genetic resources and biodiversity in classical plant
- 415 breeding. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science*, 61(2): 97–
- 416 104. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09064710903573390> 22 June 2019.
- 417 Valiente-Banuet, J.I. y Gutiérrez-Ochoa, A. 2016. Effect of Irrigation Frequency and Shade
- 418 Levels on Vegetative Growth, Yield, and Fruit Quality of Piquin Pepper (*Capsicum*
- 419 *annuum* L. var. *glabriusculum*). *HortScience*, 51(5): 573–579.

420 https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/51/5/article-p573.xml 22 June
421 2019.

422 Villota-Cerón, D., Bonilla-Betancourt, M.L., Carmen-Carrillo, H., Jaramillo-Vásquez, J. y
423 García-Dávila, M.A. 2012. Caracterización morfológica de introduc- ciones de
424 *Capsicum* spp. existentes en el Banco de Germoplasma activo de Corpoica C.I.
425 Palmira, Colombia. *Acta Agronómica*, 61(1): 16–26.

426 Yan, W., Kang, M.S., Wood, S. y Cornelius, P.L. 2007. GGE biplot vs. AMMI analysis of
427 genotype by environment data. *Crop Science*, 47(2): 643–655.

428 Yan, W. y Thinker, N.A. 2006. Biplot analysis of multi-environment trial data: Principles
429 and applications. *Canadian Journal of Plant Science*, 86(3): 623–645.
430 <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.4141/P05-169> 13 April 2019.

431 Yang, R.C., Crossa, J., Cornelius, P.L. y Burgueño, J. 2009. Biplot analysis of genotype×
432 environment interaction: Proceed with caution. *Crop Science*, 49(5): 1564–1576.

433

434

CONCLUSIÓN GENERAL

La latencia de chile piquín se debe principalmente a aspectos fisiológicos y se puede solventar con la aplicación de Ácido giberélico, siendo los genotipos 8 y 10, originarios de Colatlán (Vivero), Ixhuatlán de Madero, Veracruz y La Laborcilla, Rioverde y San Luis Potosí los que demostraron mayor potencial germinativo en la semilla.

En cuestión de la variabilidad de fruto la asociación entre variables y entre genotipos nos permitirá predecir características de interés y conocer la similitud de los genotipos.

Existen características propias del chile piquín con las cuales podemos identificar a la especie y características específicas con las que se puede discriminar entre genotipos de la misma especie.

La variabilidad morfológica que se encontró sera de gran importancia para programas futuros de mejoramiento genético.

REFERENCIAS

- Aguilar-Melendez, A., Morrell, P.L., Roose, M.L. and Kim, S.C. 2009. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum*; Solanaceae) from Mexico. *American Journal of Botany*, 96(6): 1190–1202. <http://doi.wiley.com/10.3732/ajb.0800155> 15 July 2019.
- Almanza, J.G. 1998. Estudios ecofisiológicos, métodos de propagación y productividad del “chile piquín” (*Capsicum annuum L. var aviculare Dierb.*). Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, 99 p.
- Araiza, L.N., Araiza, L.E. and Martínez, M.J.G. 2011. Evaluation of germination and seedling Growth of Chiltepin (*Capsicum annuum L* variedad *glabriusculum*) greenhouse. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIII(2). <https://www.redalyc.org/html/776/77621587016/> 1 June 2019.
- Arc, E., Sechet, J., Corbineau, F., Rajjou, L. and Marion-Poll, A. 2013. ABA crosstalk with ethylene and nitric oxide in seed dormancy and germination. *Front. Plant Sci.*, 4(63): 1–19.
- Bañuelos, N., Salido, P.L. y Gardea, A. 2008. Etnobotánica del chiltepín. Pequeño gran señor en la cultura de los sonorenses. *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)*, 16(32): 177–205.
- Barboza, G.E. and De Bem Bianchetti, L. 2005. Three New Species of Capsicum (Solanaceae) and a Key to the Wild Species from Brazil. *Systematic Botany*, 30(4): 863–871.
- Barchenger, D.W. and Bosland, P.W. 2016. Exogenous applications of capsaicin inhibit seed germination of *Capsicum annuum*. *Scientia Hort.*, 203: 29–31.
- Baskin, C.C. and Baskin, J.M. 2014. Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Two editio. E. Press, ed. San Diego, 150-162 p.
- Baskin, J.M. and Baskin, C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed. Sci. Res.*, 14: 1–16.
- Bewley, D.J. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, 9: 1055–1066.
- Bosland, P.W. 1996. Capsicums: Innovative uses of an ancient crop. *Progress in*

- new crops. ASHS Press, Arlington, VA: 479–487.*
- Bosland, P.W., Bailey, A.L. and Iglesias-Olivas, J. 1990. *Capsicum* pepper varieties and classification. Cooperative Extension Service, New Mexico State University. <https://worldveg.tind.io/record/15481/> 16 July 2019.
- Bosland, P.W. and Iglesias, J. 1992. NuMex Bailey Piquin'Chile Pepper. *HortScience*, 27: 941–942.
- Bosland, P.W. and Votava, E.J. 2012. Peppers : vegetable and spice *Capsicums*. CABI, 230 p.
- Bran, R.A.A., Moya, C., Ponce, P., Alvarez Gil, M.A. and Varela Nualles, M. 2007. Participatory diagnosis of socio-cultural conditions associated with the conservation of wild chili peppers (*Capsicum* spp.) In the central depression of Chiapas, Mexico. *Cultivos Tropicales*, 28(1): 69–73.
- Cano-Vázquez, A., López-Peralta, M.C., Zavaleta-Mancera, H.A., Cruz-Huerta, N., Ramírez-Ramírez, I., Gardea-Béjar, A. and González-Hernández, V.A. 2015. Variation in seed dormancy among accessions of chile piquin (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Botanical Sciences*, 93(1): 175–184.
- Casas, A., Otero-Arnaiz, A., Pérez-Negrón, E. and Valiente-Banuet, A. 2007. In situ management and domestication of plants in Mesoamerica. *Ann. Bot.*, 100: 1101–1115.
- Castañón-Nájera, G., Ramírez-Meraz, M., Mayek-Pérez, N., García, A.C. and Ruíz-Salazar, R. 2014. Molecular comparison of wild and commercial chilies from Tamaulipas and Tabasco, Mexico. *Pak. J. Bot*, 46(6): 2101–2106.
- Coronado, M.A., Ordova, A.C., García, M., Santiago, V.G. y Vásquez, R.A. 2013. Estrategias de mercado para productos elaborados a base de chiltepín en la sierra de Sonora. *Rev. Mex. Agroneg.*, 42(32): 359–370.
- Desai, B.B., Kotecha, M.P. and Salunkhe, D.K. 1997. Seed Morphology and Development. In *Seeds Handbook*. USA, Marcel Dekker Inc: 7–28.
- Eshbaugh, W.H. 1975. Genetic and Biochemical Systematic Studies of Chili Peppers (*Capsicum-* Solanaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 102(6): 396.
- FAO. 2019. Semillas y recursos fitogenéticos. Semillas y recursos fitogenéticos:

- una base para la vida: 1. <http://www.fao.org/agriculture/crops/mapa-matica-del-sitio/theme/seeds-pgr/es/>.
- Finkelstein, R., Reeves, W., Ariizumi, T. and Steber, C. 2008. Molecular Aspects of Seed Dormancy. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1): 387–415. <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092740> 12 April 2019.
- González-Cortés, N., Jiménez, V.R., Guerra, B.E.C., Silos, E.H. and Payro, de la C.E. 2015. Germination of amashito Chili (*Capsicum annuum* L. var. *Glabriusculum*) in southeastern Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(11): 2211–2218.
- González-Jara, P., Moreno-Letelier, A., Fraile, A., Piñero, D. and García-Arenal, F. 2011. Impact of Human Management on the Genetic Variation of Wild Pepper, *Capsicum annuum* var. *glabriusculum* N. Salamin, ed. *PLoS ONE*, 6(12): e28715.
- González, A.F. y Pita, V.J.M. 2001. Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos. Edit. Mund. España, 279 p.
- González, I., Arias, Y., Quiñones, M., Miranda, I., Rodríguez, Y. y Peteira, B. 2011. Variabilidad molecular de genotipos de pimiento (*capsicum annuum* l.) del programa de mejoramiento genético para la resistencia a pvy. *Revista de Protección Vegetal*, 26(2): 69–73.
- Guerrero-Velázquez, R. 2015. Niveles de dormancia en semillas de chile silvestre de diferentes ecorregiones y desarrollo de protocolos para la germinación y regeneración de accesiones. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Aguascalientes, 133 p.
- Gunn, S. 2004. Why genetic diversity matters?. International Board for Plant Genetic Resources. Edit. Marc. Roma, Italia. 22 p.
- Guzmán, F.A., Ayala, H., Azurdia, C., Duque, M.C. and de Vicente, M.C. 2005. AFLP Assessment of Genetic Diversity of Genetic Resources in Guatemala. *Crop Science*, 45(1): 363.
- Hayano-Kanashiro, C., Gámez-Meza, N. and Medina-Juárez, L.Á. 2016. Wild Pepper *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*: Taxonomy, Plant

- Morphology, Distribution, Genetic Diversity, Genome Sequencing, and Phytochemical Compounds. *Crop Science*, 56(1): 1.
- Hernández-López, V.M., Vargas-Vázquez, M.L.P., Muruaga-Martínez, J.S., Hernández-Delgado, S. and Mayek-Pérez, N. 2013. Origin, domestication and diversification of common beans. Advances and perspectives. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(2): 95–104.
- Hernández-Verdugo, S., Aranda-Dávila, P. y Oyama, K. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. Review of taxonomy, origin and domestication of the genus *Capsicum*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México.*, (64): 65–84.
- Hernández-Verdugo, S., Luna-Reyes, R. and Oyama, K. 2001. Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from Mexico. *Plant Systematics and Evolution*, 226(3–4): 129–142.
- Hernández-Verdugo, S., Porras, F., Pacheco-Olvera, A., López-España, R.G., Villarreal-Romero, M., Parra-Terraza, S. y Osuna Enciso, T. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) silvestre del noroeste de México. *Polibotánica*, 33: 175–191.
- Hernández, S., Luna, R., Sánchez, C., Rodríguez, A.G., Rivera, R.F., Guevara, R.G., Sánchez, P., Casas, A. y Oyama, K. 2004. Variación genética y en la resistencia a virus en poblaciones silvestres de chile (*Capsicum annuum*) silvestre de México. I. Torrez P., MM González, S. Montes, R. Bejarano, y RG Guevara.(Eds). *Memoria de la Primera convención mundial de chile*: 447-453 Hallauer.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J. and Wardle, D.A. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75(1): 3-35.

- Ibiza, V.P., Blanca, J., Cañizares, J. and Nuez, F. 2012. Taxonomy and genetic diversity of domesticated *Capsicum* species in the Andean region. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(6): 1077–1088.
- IBPGR. 1983. Genetic resources of *Capsicum*: a global plan of action. ROMA: 49 p. <https://scholar.google.com/scholar?q=INTERNATIONAL+BOARD+FOR+PLANT+GENETIC+RESOURCES>. IBPGR %281983%29 Genetics resources of Capsicum%2C a global plan and action. 49. Rome%2C IBPGR 11 August 2019.
- Kim, H.J. 2016. Opportunities and challenges of alternative specialty crops: The global picture. *HortScience : A Publication of the American Society for Horticultural Science*, 51(11): 1316–1319.
- Kole, C. 2011. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. 488 p. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-21102-7> 7 August 2019.
- Kraft, K.H., Brown, C.H., Nabhan, G.P., Luedeling, E., Ruiz, J. de J.L., d'Eeckenbrugge, G.C., Hijmans, R.J. and Gepts, P. 2014. Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17): 6165–6170.
- Latournerie, L., Chávez, J.L., Pérez, M., Castañón, G., Rodríguez, S.A., Arias, L.M. and Ramírez, P. 2002. Valoración in situ de la diversidad morfológica de chiles (*Capsicum annuum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.) en Yaxcabá, Yucatán. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 25(1): 25–33.
- Leubner-Metzger, G. 2003. Functions and regulations of β -1,3-glucanases during seed germination, dormancy and after-ripening. *Seed Sci. Res.*, 13: 17–34.
- Márquez-Quiroz, C., López-Espinosa, S.T., Cano-Ríos, P. and Moreno-Resendez, A. 2013. Organic fertilization: an alternative to produce piquín pepper under protected conditions. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, XIX(3): 279–286.
- Martín, N. y González, W. 1991. Caracterización de accesiones de chile (*Capsicum* spp.). *Agronomía Mesoamericana*, 2: 31–39.

- Medina-Martínez, T., Villalón-Mendoza, H., Pérez-Hernández, J.M., Sánchez-Ramos, G.y Salinas-Hernández, S. 2010. Avances y perspectivas de investigación del chile piquín en Tamaulipas, México. *CienciaUAT*, 4(4): 16–21.
- Montes, H.S., Ramírez, M.M., Villalón, M.H., Medina, M.T., Morales, C.A., Heredia, G.E., Soto, R.J.M., López, L.R., Cardona, E.A. y Martínez, T.H.L. 2006. Conservación y aprovechamiento sostenible de chile silvestre (*Capsicum spp. Solanaceae*) en México. *Avances de investigación de la red de hortalizas del SINAREFI. INIFAP-CIR-CENTRO. Celaya, Guanajuato, México. Libro científico*, (1): 71–134.
- Moscone, E.A., Scaldaferro, M.A., Grabiele, M., Cecchini, N.M., Sánchez García, Y., Jarret, R., Daviña, J.R., Ducasse, D.A., Barboza, G.E. and Ehrendorfer, F. 2007. The evolution of chili peppers (*Capsicum - solanaceae*): a cytogenetic perspective. *Acta Horticulturae*, (745): 137–170.
- Murillo-Amador, B., Rueda-Puente, E.O., Troyo-Diéguex, E., Córdoba-Matson, M.V., Hernández-Montiel, L.G. and Nieto-Garibay, A. 2015. Baseline study of morphometric traits of wild *Capsicum annuum* growing near two biosphere reserves in the Peninsula of Baja California for future conservation management. *BMC Plant Biology*, 15(1): 118.
- Nabhan, G. 1985. For the Bird: the Red-hot Mother of Chiles. In *Gathering the Desert*. Tucson, Arizona: 123–133.
- Nabhan, G., Slater, M. and Yarger, L. 1990. New Crops Small Farmers in Marginal Lands? Wild Chiles as a Case Study. In *Agroecology and Small Farm Development*. EUA: 19–34.
- Nattero, J., Sérsic, A.N. and Cocucci, A.A. 2011. Geographical variation of floral traits in *Nicotiana glauca*: relationships with biotic and abiotic factors. *Acta oecologica*, 37: 503–511.
- Née, G., Xiang, Y. and Soppe, W.J. 2017. The release of dormancy, a wake-up call for seeds to germinate. *Current Opinion in Plant Biology*, 35: 8–14.
- Nonogaki, H. 2014. Seed dormancy and germination-emerging mechanisms and new hypotheses. *Front. Plant Sci.*, 5: 1–15.

- Nonogaki, H., Bassel, G.W. and Bewley, J.D. 2010. Germination Stil a mystery. *Plant Science*, 179: 574–581.
- Okada, R., Kiyota, E., Sabanadzovic, S., Moriyama, H., Fukuhara, T., Saha, P., Roossinck, M.J., Severin, A., Valverde, R.A. and Rodrigo Valverde, C.A. 2011. Bell pepper endornavirus: molecular and biological properties, and occurrence in the genus *Capsicum*. *Journal of General Virology*, 92: 2664–2673.
- Pagán, I., Betancourt, M., de Miguel, J., Piñero, D., Fraile, A. and García-Arenal, F. 2010. Genomic and biological characterization of chiltepín yellow mosaic virus, a new tymovirus infecting *Capsicum annuum* var. *aviculare* in Mexico. *Archives of Virology*, 155(5): 675–684.
- Paparella, S., Araujo, S.S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D. and Balestrazzi, A. 2015. Seed priming: State of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports*, 34(8): 1281–1293.
- Pedraza, L.C. y Omez, A.A.G. 2008. Análisis exploratorio del mercado y la comercialización de chile piquín (*Capsicum annuum* var. *aviculare* Dierb.) en México. *Tecsistecatl: Economía y sociedad de México*, 1(5): 1–8.
- Perramond, E.P. 2005. The politics of ecology: Local knowledge and wild chili collection in Sonora, Mexico. *J. Lat. Amer. Geogr.*, 4(1): 59– 75.
- Petruzzelli, L., Muller, K., Hermann, K. and Leubner-Metzger, G. 2003. Distinct expression patterns of β -1,3-gluconases and chitinases during the germination of Solanaceae seeds. *Seed Sci. Res.*, 13: 139–153.
- Pickersgill, B. 1984. *Migration of Chili Peppers, Capsicum spp, in the Americas*. In Pre-Col. edited by D. Stone, ed. Harvard University, Cambridge: Harvard University Press. 105-1124 p. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10018105522/> 11 August 2019.
- Pickersgill, B. 1988. The genus *Capsicum*: a multidisciplinay approach to the taxonomy of cultivated and wild plants. *BIOLOGISCHES ZENTRALBLATT*, 107: 381–389.
- Power, A.G. 2010. Ecosystem services and agriculture: tradeoffs and synergies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*,

- 365(1554): 2959–2971.
- Prado-Urbina, G., Lagunes-Espinoza, L. del C., García-López, E., Bautista-Muñoz, C. del C., Camacho-Chiu, W., Mirafuentes G, F. and Aguilar-Rincón, V.H. 2015. Seed germination of wild chili peppers in response to pre-germination treatments. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 2(5): 139–149.
- Rands, M.R.W., Adams, W.M., Bennun, L., Butchart, S.H.M., Clements, A., Coomes, D., Entwistle, A., Hodge, I., Kapos, V., Scharlemann, J.P.W., Sutherland, W.J. and Vira, B. 2010. Biodiversity conservation: challenges beyond 2010. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5997): 1298–303.
- Rodelo-Urrego, M., García-Arenal, F. and Pagán, I. 2015. The effect of ecosystem biodiversity on virus genetic diversity depends on virus species: A study of chiltepin-infecting begomoviruses in Mexico. *Virus Evolution*, 1(1).
- Rodríguez-del-Bosque, L.A., Anchez, R.S. and Silva, M.M. 2005. Effect of sunlight regimes on growth and yield of Piquin Pepper (*Capsicum annuum* L. var *aviculare*). *Rev. Chapingo Ser. Hort*, 11(2): 357–359.
- Rodriguez-del-Bosque, L.A., Ramirez-Meraz, M. y Pozo-Campodónico, O. 2004. Tecnología de producción de chile piquín en el noreste de México. Rio bravo, 43 p.
<http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1013/26.pdf?sequence=1> 17 July 2019.
- Rodríguez-del Bosque, L.A. 2005. Preferencia del consumidor por el chile piquín en comparación con otros chiles en el noroeste de México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 11(2): 279–281.
- Rodríguez-Uribe, L., Hernandez, L., Kilcrease, J.P., Walker, S. and O'Connell, M.A. 2014. Capsaicinoid and carotenoid composition and genetic diversity of Kas I and Ccs in New Mexican *Capsicum annuum* L. Landraces. *HortScience : A Publication of the American Society for Horticultural Science*, 49(11): 1370–1375.
- Russo, V.M. 2012. Peppers : botany, production and uses. CABI. 280 p.
- SAGARPA y SNICS. 2014. *Guía técnica para la descripción varietal de chile*

- (*Capsicum annuum L.*). Tlalnepantla, Edo. de México, 24 p.
- Salinas, H.M.R., Liévano, L.E.A., Ulín-Montejo, F., Mercado, N.J. y Jiménez, P.D. 2010. Caracterización morfológica y cambios durante la vida postcosecha de cuatro tipos de chile amashito (*Capsicum annuum L.*) variedad *glabriusculum* (Dunal) Heiserand Pickersgill. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(1): 92–100.
- Sandoval-Rangel, A. 2011. El cultivo del chile piquín y la influencia de los ácidos orgánicos en el crecimiento, productividad y calidad nutricional. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Nuevo León, 119 p.
- Sandoval-Rangel, A., Benavides-Mendoza, A., Alvarado-Vázquez, M.A., Foroughbakhch-Pournavab, R., Núñez-González, M.A. and Robledo-Torres, V. 2011. Organic Acids Influence on the Growth, Dietetic Profile and Secondary Metabolites in Piquin Pepper. *TERRA LATINOAMERICANA*, 29: 395–401.
- Smith, C.E. 1987. Current archaeological evidence for the beginning of American agriculture. *BAR. International Series*, (349): 81–101.
- Solís-Neffa, V.G. 2010. Geographic patterns of morphological variation in *Turnera sidoides* subsp. *pinnatifida* (Turneraceae). *Plant Syst. Evol.*, 284: 231–253.
- Tucker, S.P. 2001. Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Air in a Pickle and Pepper Processing Plant. *AIHAJ - American Industrial Hygiene Association*, 62(1): 45–48.
- Valadéz, L.A. 1998. *Producción de Hortalizas*. Ed. Limusa. Noriega. 298 p.
- Valiente-Banuet, J.I. and Gutiérrez-Ochoa, A. 2016. Effect of Irrigation Frequency and Shade Levels on Vegetative Growth, Yield, and Fruit Quality of Piquin Pepper (*Capsicum annuum L.* var. *glabriusculum*). *HortScience*, 51(5): 573–579.
- Villalón-Mendoza, H., Medina-Martínez, T. and Ramírez-Meráz, M. 2013. Quality factors of wild chili pepper (*Capsicum annuum L.* var. *glabriusculum*) seeds. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 4(17): 182–187.
- Villalon-Mendoza, H., Ramirez-Meraz, M., Garza-Ocanas, F. and Maiti, R. 2016. Value Chain of Chile Piquin Wild Chili (*Capsicum annuum L.* var.

- glabriusculum)* from Northeastern Mexico. *International Journal of Bio-Resource and Stress Management*, 7(3): 455–460.
- Villalón-Mendoza, H., Ramírez-Meráz, M., Luna-Ruiz, J. de J., Garza-Ocañas, F. and Carrillo-Parra, A. 2015. Impact of the cultural roots of the wild chilli ‘piquín’ (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*) in the northeast of Mexico. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 3(3): 226–231.
- Villalón, H., T. Medina, J.M., Soto, L.A., Rodríguez, O., Pozo, M., Ramírez, F., Garza, R., López, A., R. López, L. y Lara., M. 2003. Efecto de diferentes intensidades de luz en la producción de chile piquín (*Capsicum annuum* L. var *aviculare*). *Revista Ciencia Universidad Autónoma de Nuevo León*, en prensa.
- Votaba, E.J., Nabhan, G.P. and Bosland, P.W. 2002. Genetic diversity and similarity revealed via molecular analysis among and within an in situ population and ex situ accessions of chiltepín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*). *Conservation Genetics*, 3(2): 123–129.
- Zhigila, D.A., AbdulRahaman, A.A., Kolawole, O.S. and Oladele, F.A. 2014. Fruit Morphology as Taxonomic Features in Five Varieties of *Capsicum annuum* L. Solanaceae. *Journal of Botany*, 2014: 1–6.