

Formación de Poblaciones de Chile (*Capsicum annuum* L.) para Selección Recurrente y Caracterización mediante Marcadores AFLP

Reinaldo Méndez Aguilar¹, Gaspar Martínez Zambrano¹, Moisés Ramírez Meraz², Netzahualcoyotl Mayek Pérez³, Alfonso López Benitez¹, Humberto de León Castillo¹

¹Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro No. 1923, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México. E-mail: m_reinaldo@yahoo.com (*Autor responsable).

²Campo Experimental Sur de Tamaulipas, INIFAP. ³Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional.

Abstract

The genetic melioration of hot pepper has been performed by genealogical selection outlines, mass method, and descendants of a seed. However, attention has recently been paid to the selection sketches applied on allogamous species, as is recurrent selection. The objectives of this assay were: a) forming populations of hot pepper with: serrano, jalapeno, guajillo, and poblano types, all of them with an ample genetic base profitable in a breeding program for recurrent selection and b) characterizing the genetic variation in populations of hot pepper obtained from several parents, by means of intra and inter racial crosses, obtained through AFLP markers. The used materials originated from 37 diallelic parent crosses bred at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), in Saltillo, Coah., Mexico. The molecular analysis was accomplished at the Centro de Biotecnología Genómica (Genomic Biotechnology Center) at the Instituto Politécnico Nacional (Polytechnic National Institute) (CBG-IPN), in Reynosa, Tamps., Mexico. The results with four first AFLP combinations showed 64,9 % of polymorphism; this allowed the discrimination of the seven analyzed populations. Likewise, the diversity index (ID) to analyze the genetic variation of every population was determined, finding out that the population P-AXGXJXS was the one with a higher ID (0,48). A dendrogram was obtained by the UPGMA method and some differences were found in the way the populations are grouped, therefore it is concluded that the formation of two or more racial types increments the genetic variability, and makes them appropriate to accomplish population melioration by recurrent selection, depending on the racial implicated types.

Key words: *Capsicum annuum* L., AFLP.

Resumen

El mejoramiento genético de chile se ha realizado mediante esquemas de selección genealógica, método masivo y descendencia de una semilla. Sin embargo, recientemente se ha puesto atención en los esquemas de selección utilizados en especies alógamas, como la selección recurrente. Los objetivos de este estudio fueron: a) formar poblaciones de chile con los tipos serrano, jalapeño, guajillo, y ancho, de amplia base genética aprovechables en un programa de mejoramiento por selección recurrente y b) caracterizar la variabilidad genética en poblaciones de chile obtenidas de varios progenitores mediante cruza intra e inter raciales, mediante marcadores AFLP. Se utilizaron materiales de los tipos raciales ancho, guajillo, serrano y jalapeño; originados de 37 cruza progenitoras dialélicas formadas en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), Saltillo, Coah., México. El análisis molecular se realizó en el Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (CBG-IPN), en Reynosa, Tamps., México. En el análisis obtenido con cuatro combinaciones de primer AFLP se obtuvo 64.9 % de polimorfismo, lo que permitió la discriminación de las siete poblaciones examinadas. Así también se determinó el índice de diversidad (ID) para analizar la variabilidad genética de cada una de las poblaciones, encontrándose que la población P-AXGXJXS fue la que tuvo mayor ID con 0.48. Se obtuvo un dendrograma por el método UPGMA y se encontraron diferencias en la forma de agrupamiento de las poblaciones. Se concluye que la formación de dos o más tipos raciales incrementa la variabilidad genética y las hace apropiadas para realizar mejoramiento poblacional por selección recurrente, dependiendo de los tipos raciales involucrados.

Palabras clave: *Capsicum annuum* L., AFLP.

Introducción

El mejoramiento de chile se ha realizado mediante esquemas de selección como: selección genealógica, método masivo y descendencia de una semilla (Márquez, 1991), que por lo general se utilizan dos progenitores y su progenie se somete a endocría y selección continua, hasta que alcanzan homocigosis total. Sin embargo, también se ha puesto atención en esquemas de selección como la selección recurrente, utilizados en especies alógamas; con este método se seleccionan y recombinan de forma cíclica, aquellas plantas con expresiones fenotípicamente superiores y permite aumentar la frecuencia de genes favorables en caracteres cuantitativos en una población, sin pérdida significativa de variabilidad genética.

A pesar del éxito logrado con la aplicación de esquemas de selección recurrente para el mejoramiento poblacional en especies alógamas como el maíz, las experiencias en autógamas han sido poco estudiadas y se tiene poca información sobre poblaciones caracterizadas, ya sea fenotípicamente o a nivel molecular. Se han realizado estudios con marcadores moleculares para estudiar variación genética en algunos cultivos importantes: *Lycopersicon* (Miller y Tanksley, 1990), *solanum* (Gebhardt *et al.*, 1989; Orona *et al.*, 2004), y *Capsicum* (Loaiza *et al.*, 1989; Zewdie y Zeven, 1997; Paran *et al.*, 1998 y Guzmán *et al.*, 2005).

La hipótesis que se plantea es que las poblaciones formadas con la recombinación de varios progenitores entre tipos raciales, representan una mejor estrategia de mejoramiento con base en la variabilidad y diversidad genética acumulada, que las formadas dentro de tipos raciales.

Es por esto que los objetivos de este estudio fueron: a) formar poblaciones de chile con los tipos serrano, jalapeño, guajillo, y ancho, de amplia base genética aprovechables en un programa de mejoramiento por selección recurrente y b) caracterizar la variabilidad genética en poblaciones de chile obtenidas de varios progenitores mediante cruza intra e inter raciales, mediante marcadores AFLP.

Materiales y Métodos

Este trabajo se realizó en un invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coah., México, de 2003 a 2005. Se partió de semillas F1 obtenidas de un diseño de cruza dialélicas entre y dentro de los tipos raciales ancho (A), guajillo (G), jalapeño (J) y serrano (S). Se utilizaron cinco materiales de cada tipo racial (A, G, J y S) los cuales son variedades comerciales actualmente en uso y líneas experimentales proporcionadas por el INIFAP.

Poblaciones intra-raciales

El 20 de Febrero de 2004 se establecieron en campo las progenies dialélicas de cada tipo racial y al momento de la floración se eligieron cuatro de la misma raza y se hizo una recombinación entre ellos, de los cuales dos se utilizaron como hembra y dos como macho (Cuadro 1). Se emascularon botones florales de las plantas elegidas como hembra y enseguida se polinizaron en cada tipo racial. El amarre de los frutos se observó a los 6 días, los cuales cuando llegaron a la madurez fisiológica se cortaron, se secaron al sol durante tres días, y después se les extrajo la semilla. Se utilizaron 150 semillas de cada uno de los materiales y se hizo un compuesto balanceado, de acuerdo con la técnica de recombinación denominada cruza mezo-fraternales con mezcla de polen (Márquez, 1991), se obtuvieron tres poblaciones intra-raciales (P-GXG, P-JXJ, y P-SXS), cada una formada por 300 semillas.

Poblaciones inter-raciales

El 3 de Abril de 2004 se establecieron en campo las progenies dialélicas de las cuatro razas mencionadas anteriormente, en la etapa de floración se eligieron cuatro materiales pero esta vez entre tipos raciales y se siguió la misma metodología mencionada anteriormente. Así también, se obtuvo una población-macro en la que se involucraron todos los materiales inter-raciales donde intervinieron las cuatro razas y se hizo una recombinación de todos ellos, utilizándose la misma técnica (Cuadro 2). En total se obtuvieron cuatro poblaciones inter-raciales (P-GXJ, P-GXS, P-JXS incluyendo la inter-racial macro P-AXGXJXS).

Cuadro 1. Progenitores utilizados para formar poblaciones intra-raciales.

No.	Progenitores	
	♀	♂
1	[Guajillo Zacatecas 1 (G)]	x [Guajillo Zacatecas 2 (G*)]
2	[Guajillo Zacatecas 2 (G)]	x [Guajillo INIFAP (G)]
3	[Guajillo San Luis (G)]	x [Guajillo INIFAP (G)]
4	[Guajillo INIFAP (G)]	x [Guajillo-Puya-Salitrillo (G)]
5	[Don Pancho (J)]	x [Chijal 10-19 (J)]
6	[Chijal 10-19 (J)]	x [Don Benito (J)]
7	[Don Benito (J)]	x [Criollo Chiapas Largo (J)]
8	[Criollo Chiapas Largo (J)]	x [Chijal EB-13 (J)]
9	[Gigante Ébano (S)]	x [Chiser P8-60 (S)]
10	[Chiser P8-60 (S)]	x [Chiser 16-31 (S)]
11	[Chiser 16-31 (S)]	x [Paraíso (S)]
12	[Paraíso (S)]	x [Tampiqueño 74 (S)]

*G=Guajillo; J=Jalapeño; S=serrano

Cuadro 2. Progenitores utilizados para formar poblaciones inter-raciales.

No.	Progenitores
	♀ ♂
1	[AP 99-6 (*A)] x [Guajillo Zacatecas 1 (G)]
2	[AP 99-6 (A)] x [Don Pancho (J)]
3	[AP 97-24 (A)] x [Guajillo-Puya-Salitrillo (G)]
4	[AP 97-24 (A)] x [Chijal 10-19 (J)]
5	[Ancho Saltillo 79-4 (A)] x [Don Benito (J)]
6	[Carmín 6-1 (A)] x [Don Pancho (J)]
7	[AM 97-47 (A)] x [Guajillo Zacatecas 1 (G)]
8	[AM 97-47 (A)] x [Don Benito (J)]
9	[Guajillo Zacatecas 1 (G)] x [Chijal 10-19 (J)]
10	[Guajillo Zacatecas 1 (G)] x [Gigante Ébano (S)]
11	[Guajillo Zacatecas 2 (G)] x [Chijal 10-19 (J)]
12	[Guajillo Zacatecas 2 (G)] x [Chiser P8-60 (S)]
13	[Guajillo San Luis (G)] x [Don Benito (J)]
14	[Guajillo San Luis (G)] x [Chiser 16-31 (S)]
15	[Guajillo INIFAP (J)] x [Criollo Chiapas Largo (J)]
16	[Guajillo INIFAP (J)] x [Paraíso (S)]
17	[Guajillo-Puya-Salitrillo (G)] x [Don Pancho (J)]
18	[Guajillo-Puya-Salitrillo (G)] x [Chijal EB-13 (J)]
19	[Guajillo-Puya-Salitrillo (G)] x [Tampiqueño 74 (S)]
20	[Don Pancho (J)] x [Gigante Ébano (S)]
21	[Chijal 10-19 (J)] x [Chiser P8-60 (S)]
22	[Don Benito (J)] x [Paraíso (S)]
23	[Criollo Chiapas Largo (J)] x [Paraíso (S)]
24	[Chijal 10-19 (J)] x [Gigante Ébano (S)]
25	[Chijal EB-13 (J)] x [Tampiqueño 74 (S)]

*A = Ancho; G=Guajillo; J=Jalapeño; S=serrano

Aislamiento de ADN

La parte molecular se desarrollo en el Laboratorio Vegetal II del Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (CBG-IPN), en Reynosa, Tamps., México. Para la extracción de ADN se utilizaron 15 plantas jóvenes por población, se utilizó la metodología de Dellaporta *et al.* (1983) con mínimas modificaciones. Este material biológico se lavó con agua destilada estéril y posteriormente se congeló a -20 °C. El ADN se cuantificó en geles de agarosa al 1 %, con uso de una concentración conocida de ADN del fago en un transiluminador marca Cole Parmer.

Análisis AFLP

La detección de polimorfismo se hizo mediante AFLP (polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados) de acuerdo con Vos *et al.* (1995). La digestión se efectuó

en un termociclador GeneAmp®PCR System 9700-032, con muestras de ADN a una concentración de 170 ng/ µl. En un volumen final de 25 µl se mezclaron 3.3 µl de ADN, 1 µl *EcoRI*, 1 µl *Tru9I*, 2.5 µl Buffer RL y 17.2 µl agua milli-q. Para efectuar la reacción se incubó a 37 °C por dos horas y media, más 15 min a 70 °C para inactivar las enzimas de restricción. A los productos de restricción, se agregó la mezcla de ligación de los adaptadores *EcoRI* 5'-C T C G T A G A C T G C G T A C C - 3' / 3' - AATTGGTACGCAGTC-5'; y la del adaptador *MseI* 5'-GACGATGAGTCCTGAG-3'/3'-TACTCAGGACTCAT-5'. En un volumen final de 10 il la mezcla de ligación contenía 1 µl Adaptador *MseI*, 1 µl Adaptador *EcoRI*, 1 µl ATP (mM), 1 µl Buffer RL (10X) y 5.0 µl agua milli-q. Se incubó a 20 °C por dos horas en el termociclador. Para la pre-amplificación se utilizaron los iniciadores *EcoRI*+A 5'AGACTGCGTACCAATTC/A-3') y *MseI*+C (5'-GACGATGAGTCCTGAGTAA/C-3'). Se colocaron 2.5 µl de ADN digerido-ligado (diluido 1:60), mas 23.5 µl de la mezcla para la reacción de pre-amplificación la cual contenía 1.5 µl *MseI*+C, 1.5 µl *EcoRI*+A, 2.5 µl Buffer PCR (10X), 2.0 µl dNTPs (10 mM), 0.20 µl Taq DNA polimerasa (5 U/µl) y 14.8 µl de agua milli-q. Se efectuó bajo el siguiente programa: 20 ciclos de 30 s a 94 °C, 60 s a 56 °C, 60 s a 72 °C. La combinación de oligonucleótidos para la amplificación selectiva fue *EcoRI* + 3 (5'-GACTGCGTACCAATTC/ACA-3') y *MseI* + 3 (5'-GATGAGTCCTGAGTAACTG-3'). Se aplicaron 3.0 µl de ADN preamplificado-diluido, más 12.0 µl de mezcla para la reacción de amplificación (0.6 µl *EcoRI*, 0.5 µl *MseI*, 1.5 µl Buffer PCR (10X), 0.4 µl dNTPs (10mM), 0.15 µl Taq DNA polimerasa (5 U/µl) y 8.85 µl agua milli-q). Se utilizaron cuatro combinaciones de iniciadores (*EcoRI*/*MseI*) ACA/CTG, AAG/CAG, AAG/CAC y AAG/CAA. Finalmente los productos del PCR se desnaturalizaron mediante incubación de 4 min a 94 °C y se colocaron en hielo antes de ser cargados en geles de acrilamida al 6 % y separados en una cámara de electroforesis vertical marca Owl®, modelo S3S durante 2 h 30 min a 2000 V.

Análisis de datos

El polimorfismo que se detectó en las cuatro combinaciones de iniciadores AFLP se determinó en base a la presencia o ausencia de bandas, donde el 1 se asignó a la presencia y el 0 a la ausencia de éstas.

Una vez terminada la interpretación en el gel de acrilamida se hizo una base de datos basándose en 0 y 1 y está se utilizó para determinar el índice de diversidad mediante la fórmula $ID = 1 - p^3$, donde pi es la frecuencia del alelo in; en este caso, cada alelo individual se considera un locus único y, a su vez, un fragmento de amplificación (Powell *et al.*, 1996).

Mediante el programa Gendist se obtuvieron las distancias genéticas entre las siete poblaciones (Nei y Li, 1979), usando el paquete de software PHYLIP Versión 3.6 (Felsenstein, 2005). La matriz de distancias generadas se utilizó para producir un dendograma por el método UPGMA (Método de agrupamiento de pares no ponderados con medias aritméticas), ver Figura 2. La matriz de ceros y unos se usó también para calcular el análisis de varianza molecular (AMOVA).

Resultados y Discusión

Formación de poblaciones

Se obtuvieron siete poblaciones de forma satisfactoria, de las cuales tres fueron intra-raciales (P-SXS, P-JXJ, P-GXG) y cuatro inter-raciales (P-JXS, P-GXJ, P-GXS), incluyendo la inter-racial macro P-AXGXJXS, en las que se involucraron los tipos raciales ancho. No se pudieron formar las poblaciones P-AXG y P-AXS por fallas al hacer las cruza correspondientes y en el caso de P-AXJ se obtuvo poca cantidad de semilla, por lo que no se incluyeron en este estudio.

Estos problemas también se presentaron en el trabajo de investigación de Robledo (2005) al hacer cruza inter-raciales que incluían progenitores del tipo racial ancho.

La razón de lo anterior pudiera deberse a problemas de adaptación de este tipo racial, particularmente en lo que se refiere a los factores climáticos locales.

Análisis AFLP

Con las cuatro combinaciones de iniciadores AFLP se amplificaron un total de 203 productos a partir de cuatro combinaciones, de los cuales 134 fueron polimórficos, esto representó el 64.9 % (Cuadro 3). Este porcentaje de polimorfismo fue alto en comparación con los resultados obtenidos por Paran *et al.* (1998) quienes trabajando con AFLP en 34 accesiones de Chile encontraron 13% de bandas polimórficas. Sin embargo, en un trabajo realizado por Hernández *et al.* (2004) en poblaciones domesticadas, las cuales pertenecieron a chiles tipo serrano, jalapeño y morrón, reportaron 84.6 % de loci polimórficos en el análisis con isoenzimas. Las diferencias encontradas en dichos trabajos posiblemente se deben a que en el primero se utilizaron accesiones estrechamente relacionadas, por eso fue bajo, mientras que en el segundo se trabajó con poblaciones, y esto permitió que se encontrara mayor polimorfismo. Cuando se trabaja a nivel molecular, el polimorfismo juega un papel muy importante, ya que está relacionado con la variabilidad.

Cuadro 3. Productos amplificados por combinación mediante AFLP.

Combinación AFLP	Productos amplificados		Polimorfismo (%)	
	EcoRI/MseI	Monomórficos	Polimórficos	Total
ACA/CTG	11	32	43	74.4
AAG/CAG	16	39	55	70.9
AAG/CAC	21	18	39	46.2
AAG/CAA	21	45	66	68.2
Total/Media	69	134	203	64.9

En el análisis de varianza molecular (AMOVA) se detectaron diferencias significativas ($P < 0.0001$), tanto entre como dentro de poblaciones, con un porcentaje de variación de 37 % y 63 % respectivamente (Cuadro 4). Esto concuerda con Hernández *et al.* (1998) quienes, usando RAPD encontraron que en poblaciones domesticadas existe mayor variación dentro de poblaciones (51.12 %) que entre poblaciones (48.88 %). Esto indica una relación estrecha entre las siete poblaciones. Loaiza *et al.* (1989) y Paran *et al.* (1998) mencionan que materiales silvestres y domesticados de Chile mantienen bajos niveles de variación.

Cuadro 4. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de poblaciones de Chile mediante AFLP.

FV	GL	SC	CV	PV	P
Entre poblaciones	69	33.857	9.31823	37.00	<0.0001
Dentro de poblaciones	98	1555.200	15.86939	63.00	<0.0001
Total	104	2489.057	25.18762		

FV=Fuente de variación; GL= Grados de libertad; CV= Componentes de varianza; PV=Porcentaje de variación.

En la población intra-racial P-SXS se obtuvo un índice de diversidad media de 0.33 el cual fue igual al de la cruce inter-racial P-JXS, pero menor a la población P-GXS (0.36), con una ganancia de 3%; P-JXJ tuvo un índice de diversidad de 0.28 el cual fue menor que en las poblaciones inter-raciales P-JXS (0.33) y P-GXJ (0.32). En este caso se obtuvo ganancia de variabilidad de 5 y 4 % respectivamente al formar las poblaciones entre tipos. La variabilidad de la población intra-racial P-GXG fue menor a la población P-AXGXJXS con una diferencia de variación de 8%.

La población inter-racial macro P-AXGXJXS mostró la mayor variabilidad de las siete poblaciones, con un índice de diversidad media de 0.48 y una ganancia de 18 % de variabilidad; la población P-JXJ tuvo la menor variabilidad (Cuadro 5).

De acuerdo con la hipótesis planteada, de que la variabilidad se incrementa en la medida en que las poblaciones se forman con material más divergente, los resultados de esta investigación confirmaron que la mayor variabilidad se logró al recombinar todos los tipos raciales en una población (P-AXGXJXS). Lo cual se esperaba, de acuerdo con los estudios clásicos de cruza varietales en maíz (Moll *et al.*, 1962; Moll *et al.*, 1965) y ofrece *per se* mejores expectativas del comportamiento de las poblaciones al incorporar alelos distintos para diversos caracteres de interés (Goodman *et al.*, 2000; Lellis *et al.*, 2001), así como de las líneas e híbridos formados a partir de ella (Cortez *et al.*, 1985).

Se esperaba el siguiente nivel de variabilidad en orden descendente, en las cruza inter-raciales (P-GXJ, P-GXS y P-JXS), así como la más baja variabilidad dentro de los grupos raciales (P-GXG, P-JXJ, y P-SXS). Sin embargo, como se observa en el Cuadro 5, el espectro de variabilidad en las poblaciones entre pares de tipos raciales (0.28 y 0.40) incluyó la variabilidad de las poblaciones dentro de los grupos raciales (0.32 a 0.36). Considerando el promedio de ambos grupos de cruza, se encontró que su diversidad fue igual (0.34). La dispersión mostrada por el espectro de la diversidad en las poblaciones intra-raciales, puede explicarse al considerar que el tipo guajillo virtualmente no ha sido sometido a mejoramiento genético, ya que los materiales cultivados son variedades nativas y las variedades liberadas por diversas instituciones son simples accesiones con cierto grado de pureza y uniformidad genética (Ramiro, 1992; Ramiro, 2001). Por el contrario, los tipos jalapeño y serrano son los que más mejoramiento genético han recibido y probablemente han sufrido, por ello, algún grado de erosión genética, como lo asegura (Hernández *et al.*, 2004).

Independientemente de los sesgos que pudieran tener los resultados de esta investigación, derivados de la muestra germoplásmica en cada tipo racial y del nivel de mejoramiento a que estos materiales han sido sometidos, los resultados de esta investigación, dan evidencias de que la formación de poblaciones mediante la recombinación de dos o más tipos raciales es una estrategia importante para realizar mejoramiento poblacional por selección recurrente en Chile, lo cual coincide con resultados previamente obtenidos por Robledo (2005) y Robledo *et al.* (2005).

Cuadro 5. Índice de diversidad genética de poblaciones de Chile con base en la fórmula de (Powell *et al.*, 1996).

Poblaciones	Combinaciones				*I.D. media
	ACA/CTG	AAG/CAG	AAG/CAC	AAG/CAA	
P-SXS	0.62	0.35	0.02	0.33	0.33
P-AXGXJXS	0.67	0.46	0.24	0.54	0.48
P-GXG	0.44	0.43	0.30	0.43	0.40
P-JXS	0.52	0.37	0.15	0.29	0.33
P-GXJ	0.37	0.40	0.16	0.36	0.32
P-JXJ	0.32	0.24	0.15	0.42	0.28
P-GXS	0.63	0.43	0.15	0.22	0.36

* I.D. = Índice de diversidad.

Con los datos obtenidos se realizó un dendograma, que mostró que se formaron dos grupos: en el primero se encontraron las poblaciones P-AXGXJXS y P-GXG. En este grupo se encontraron las poblaciones más heterogéneas en su índice de diversidad; el segundo grupo a su vez se dividió en tres subgrupos: en el primero se encontró la población P-GXS; en el segundo P-JXJ y P-GXJ y en el tercero P-JXS y P-SXS. En el segundo grupo las poblaciones fueron más homogéneas (Figura 2).

Conclusiones

Se formaron satisfactoriamente siete poblaciones: Tres intra-raciales P-SXS, P-JXJ, P-GXG y cuatro inter-raciales

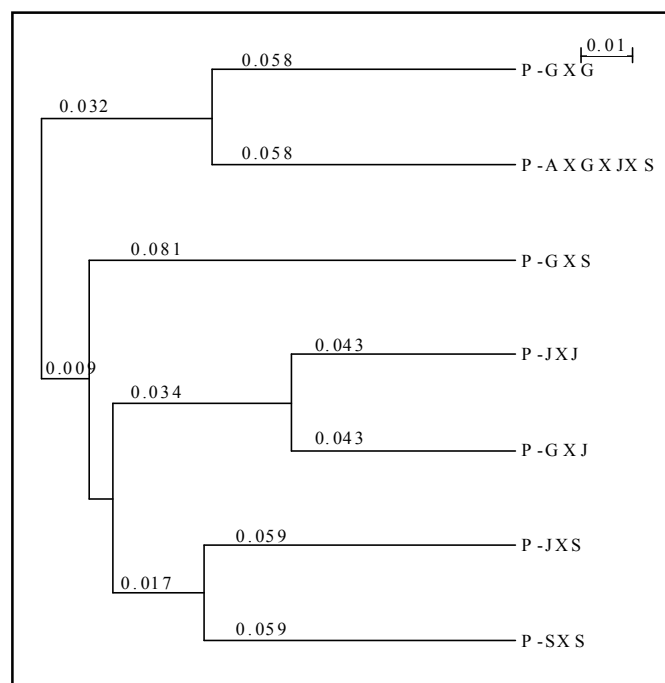


Figura 2. Dendrograma de disimilitudes genéticas entre poblaciones de Chile con base en el método UPGMA y datos AFLP.

P-JXS, P-GXJ, P-GXS, P-AXGXJXS. La variabilidad en las siete poblaciones, indicada por el índice de diversidad, varió de 0.28 a 0.48 y la mayor variabilidad se encontró en la población P-AXGXJXS seguida de P-GXG con un índice de diversidad de 0.48 y 0.40 respectivamente. La formación de poblaciones mediante la recombinación de dos o más tipos raciales incrementa la variabilidad genética y las hace apropiadas para realizar mejoramiento poblacional por selección recurrente, dependiendo de los tipos raciales involucrados.

Literatura Citada

- Cortez, M. H., A. Rodríguez, M. Gutiérrez, J. Durón, R. Girón, y M. Oyervides. 1985. Evaluation of broad-base improved populations of maize (*Zea mays* L.). I. Cumulative gene effects and heterosis. Publication especial. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 43 p.
- Dellaporta, S.L.; Wood, J.; Hicks, J.B. 1983. A plant DNA minipreparation versión II. Plant Mol. Biol. Reporter. 18: 61-64.
- Felsenstein, J. 2005. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Gebhardt, C., E. Ritte, T. Debener. 1989. RFLP analysis and linkage mapping in *Solanum tuberosum*. Theor. Appl. Genet. 78: 65-75.
- Goodman, M. M., J. Moreno, F. Castillo, R. N. Holley, and M. L. Carson. 2000. Using tropical maize germplasm for temperate breeding. Maydica 45: 221-234.
- Guzmán, F. A., H. Ayala, C. Azurdia, M. C. Duque, y M. C. de Vicente. 2005. AFLP Assessment of Genetic Diversity of *Capsicum* Genetic Resources in Guatemala: Home Gardens as an Option for Conservation. Crop Sci. 45:363-370.
- Hernández V. S., R. G. Guevara, R. F. Rivera, C. Vázquez, y K. Oyama. 1998. Los parientes silvestres del chile (*Capsicum spp.*) como recursos genéticos. Boletín de la Sociedad Botánica de México. 62: 171-181.
- Hernández V. S., R. Luna, C. Sánchez, A. G. Rodríguez, R. F. Rivera, R. G. Guevara, P. Sánchez, A. Casas, y K. Oyama. 2004. Variación genética y en la resistencia a virus en poblaciones silvestres de chile (*Capsicum annuum*) silvestre de México. In: I. Torrez P., M. M. González, S. Montes, R. Bejarano, y R. G. Guevara. (Eds). Memoria de la Primera convención mundial de chile. p. 447-453 Hallauer A. R., W. A. Russell, and K. R. Lamkey. 1988. Corn Breeding In: Corn and Corn Improvement. p. 463-564. 3a. Ed. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI.
- Lellis, M. C., J. Branco, y E. P. Gorgulho. 2001. Partial diallel cross between exotic and adapted maize populations evaluated in acid soil. Scientia Agrícola 58: 313-319.
- Loaiza, F. F., K. Ritland, J. A. Laborde, and S. D. Tanksley. 1989. Patterns of genetic variation of the genus *Capsicum* (Solanaceae) in Mexico. Plant Syst. Evol. 165: 159-188.
- Márquez S. F. 1991. Genotecnia Vegetal. Métodos, Teoría, Resultados. AGT Editor, México, D. F., México. Tomo II. 458 p.
- Miller, J. C., and S. D. Tanksley. 1990. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. Theor. Appl. Genet. 80: 437-448.
- Moll, R. H., S. Salhauana, and H. F. Robinson. 1962. Heterosis and genetic diversity in variety crosses of maize. Crop Sci. 2: 197-198.
- Moll, R. H., J. H. Lonquist, V. Fortuno, and E. C. Johnson. 1965. The relationship of heterosis and genetic divergence in maize. Genetics 52: 139-144.
- Nei, M., and W. H. Li. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc. Natl. Acad. Sci. 76: 5269-5273.
- Orona, C., V. Pecina, M. A. Rocha, V. M. Parga, O. Martínez, I. H. Almeida. 2004. Caracterización de variedades y líneas élite de papa (*Solanum tuberosum* L.) en México utilizando marcadores RAPD y SSR. Revista internacional de botánica experimental ÖYTON. p. 289-300.
- Paran, I., E. Aftergood, and C. Shiffriss. 1998. Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and AFLP markers. Euphytica 99: 167-174.
- Powell, W., M. Morgante, C. Andre, M. Hanaffey, J. Vogel, S. Tingey, and A. Rafalski. 1996. The comparasion of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol. Breed. 2: 225-238.
- Ramiro, C. A. 1992. VR-91 nueva variedad de chile mirasol o guajillo. Folleto Técnico #2. Campo Experimental Palma de la Cruz, San Luis Potosí, México.
- Ramiro, C. A. 2001. Guajillo San Luis y Guajillo INIFAP nuevas variedades de chile mirasol para Centro-Norte de México. Folleto Técnico #14. Campo Experimental Palma de la Cruz, San Luis Potosí, México.
- Robledo, G. E. 2005. Potencial genético de cruas inter-raciales en el mejoramiento de chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Maestría en Ciencias.

- Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. 66p.
- Robledo, G. E., G. Martínez, M. Ramírez, A. de la Rosa, J. A. R. Dorantes. 2005. Cruzas inter-raciales en chile: ¿Promiscuidad genética o estrategia de mejoramiento?. Memoria, XIX Congreso Nacional de Citogenética SOMEFI, A.C., El cerrillo, Toluca, México. 19-24 sep. P262.
- Vos P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, and M. Zabeau. 1995. AFPL: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23:4407-4414.
- Zewdie, Y. and A. C. Zeven. 1997. Variation in Yugoslavia hot pepper (*Capsicum annuum* L.) accessions. *Euphytica* 97: 81-89.
-