



Agrociencia

ISSN: 1405-3195

agrocien@colpos.mx

Colegio de Postgraduados

México

Teodoro-Pardo, Claudia V. De; García-Velázquez, Armando; Corona-Torres, Tarsicio
POLIMORFISMO CROMOSÓMICO EN *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) EN RECOLECTAS DE
PUEBLA, MORELOS Y QUERÉTARO, MÉXICO
Agrociencia, vol. 41, núm. 8, 2007, pp. 873-881
Colegio de Postgraduados
Texcoco, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30220203007>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

POLIMORFISMO CROMOSÓMICO EN *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) EN RECOLECTAS DE PUEBLA, MORELOS Y QUERÉTARO, MÉXICO

CHROMOSOME POLYMORPHISM IN *Capsicum annuum* L. (Solanaceae) IN COLLECTIONS FROM PUEBLA, MORELOS AND QUERÉTARO, MÉXICO

Claudia V. De Teodoro-Pardo, Armando García-Velázquez y Tarsicio Corona-Torres

Laboratorio de Citogenética. Genética. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. 56230.
Montecillo, Estado de México (teodopar@colpos.mx)

RESUMEN

Existe variación morfológica en frutos de chile (*Capsicum annuum*) y hay pocos estudios de variabilidad genética en México en esta especie. Se analizaron los cariotipos de *C. annuum* criollos en 32 recolectas provenientes de los Estados de Puebla, Morelos y Querétaro. Se empleó la técnica de aplastado en ápices radicales para observar los complementos cromosómicos. Se determinó el número somático (y básico, X), la longitud total (LT), el tamaño relativo (LR%), el tamaño del brazo largo (BL) y del corto (BC), posición del centrómero o relación de brazos (r) y la presencia y tamaño de satélite (s). Se presentan las fórmulas cariotípicas de las recolectas. El número cromosómico observado en las recolectas fue de $2n=2x=24$. La longitud total promedio del genoma varió de 16 a 84 μm , lo cual sugiere diferentes grados de compactación del genoma. En Puebla se observó la recolecta con la mayor longitud total del genoma (84 μm), en Querétaro los valores fueron menores, (24 a 29 μm) y en Morelos fueron intermedios (21 a 52 μm). El análisis cariotípico mostró diferencias en el número de cromosomas con centrómeros en posición media, submedia y subterminal, lo cual sugiere la existencia de polimorfismo en las recolectas de chile estudiadas. Sólo se presentó un par de cromosomas con satélites y la posición de éstos varió: en unas recolectas se observó en el par 12, y en otras en los pares 6, 10 u 11. El análisis del comportamiento meiótico en diacinesis y metafase I de algunas recolectas de chile, reveló que en la metafase I se apreciaron 12 bivalentes en todas las recolectas, lo cual indica que la meiosis fue regular y confirma la condición diploide de esta especie.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, cariotipos, citogenética, meiosis, variabilidad cromosómica.

INTRODUCCIÓN

El género *Capsicum* pertenece a la familia Solanaceae, está conformado por aproximadamente 30 especies (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999) y

ABSTRACT

Morphological variation exists in chili pepper fruits (*Capsicum annuum*) and there are few studies on genetic variability in this species in México. The karyotypes of native *C. annuum* in 32 collections from the States Puebla, Morelos, and Querétaro were analyzed. Squash technique in root tips was employed in order to observe chromosomal complements. The somatic (and basic, X) number, total length (TL), relative size (RS%), long arm size (LA) and short arm size (SA), centromere position or relation of arms (r), and satellite presence and size (s) were determined. Karyotypic formulas of the collections are presented. The chromosomal number observed in the collections was $2n=2x=24$. Total average length of the genome varied from 16 to 84 μm , which suggests different degrees of genome compaction. In Puebla, the collection with the highest total genome length was observed (84 μm), in Querétaro the values were lower (24 to 29 μm), and in Morelos they were intermediate (21 to 52 μm). The karyotypic analysis showed differences in chromosome number with centromeres in medium, submedium, and subterminal position, suggesting the existence of polymorphism in the collections of studied chili peppers. Only one pair of chromosomes with satellites was presented and its position varied: in some collections it was observed in pair 12, in others in pairs 6, 10, or 11. The analysis of meiotic behavior in diakinesis and metaphase I of some chili pepper collections revealed that in metaphase I, 12 bivalents were appreciated in all collections, which indicates that meiosis was regular and confirmed the diploid condition of this species.

Key words: *Capsicum annuum*, karyotypes, cytogenetics, meiosis, chromosomal variability.

INTRODUCTION

Genus *Capsicum*, belonging to the Solanaceae family, is made up of approximately 30 species (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999) and probably was domesticated simultaneously in Central and South America. There are five domesticated species: *Capsicum annuum*, *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. frutescens*, and *C. baccatum*. *Capsicum annuum* is the

pudo haber sido domesticado simultáneamente en Centroamérica y Sudamérica. Hay cinco especies domesticadas: *Capsicum annuum*, *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. frutescens* y *C. baccatum*. *Capsicum annuum* es la más importante por su producción, distribución geográfica, variabilidad de formas y amplia diversidad de usos (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999).

El género *Capsicum* se cultiva en las principales regiones tropicales, subtropicales y templadas de México. En los Estados de Puebla, Morelos y Querétaro, se encuentra la mayor diversidad de chiles cultivados y silvestres (Walker y Bosland, 1999). Esta especie se cultiva de 0 hasta 2500 m de altitud y sus frutos se encuentran en el mercado todo el año para consumo fresco, seco o industrializado (Pozo *et al.*, 1991). Los frutos de *C. annuum* son una fuente importante de capsicinas (compuesto orgánico cíclico que es el pungente presente en frutos de *Capsicum*), y se usan para la producción de cosméticos, esencias y medicinas (Luján y Acosta, 2004).

Las especies cultivadas de *Capsicum* y sus congéneres silvestres presentan el número cromosómico de $n=x=12$ ó $2n=24$ (Pickersgill, 1997), aunque *C. ciliatum*, *C. buforum*, *C. campylopodium*, *C. cornutum*, *C. schottianum* y *C. villosum* var. *villosum* presentan valores de $n=13$. Éstas crecen en el oeste de Sudamérica, sureste de Brasil y en Querétaro (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999; Toniolo y Schifino-Wittmann, 2006). *C. chinense* y *C. frutescens* presentan 11 pares de cromosomas metacéntricos y un par acrocéntrico, mientras que *C. annuum* presenta 10 pares metacéntricos y dos pares acrocéntricos (Pickersgill, 1971; Lanteri, 1991).

El análisis cariotípico de algunas de las especies de *Capsicum* indica variación en el tamaño cromosómico. La longitud de los cromosomas de *C. annuum* varía de 2.1 a 9.9 μm , particularmente en los tipos esmeralda, jalapeño, mirasol, pánuco y piquín (Corona *et al.*, 1999). La variación intraespecífica es común en este género, en las variedades silvestres, y la variación cariotípica intraespecífica puede ser mayor que la interespecífica (Chennaveeraiah y Habib, 1966; Datta, 1968; Pickersgill, 1971; Kuriachan, 1981).

Aunque la presencia de satélites no es una característica constante en algunas solanáceas (Moscone, 1989), ellos aparecen regularmente en *Capsicum chacoense* y en otras especies, lo que permite usar cromosomas satelitados como marcadores citogenéticos. Además, se ha encontrado translocaciones en *C. annuum* (Meshram *et al.*, 1981) y en *C. chinense* Jacq. (Abida *et al.*, 1983), que pueden tener una función importante en la evolución de las especies de *Capsicum* (Pickersgill, 1971).

most important because of its production, geographical distribution, variability of forms, and wide diversity of uses (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999).

Genus *Capsicum* is cultivated in the principal tropical, subtropical, and temperate regions of México. In the States of Puebla, Morelos, and Querétaro it is found the largest diversity of cultivated and wild chili peppers (Walker and Bosland, 1999). This species is cultivated from 0 to 2500 m altitude, and its fruits are found on the market, fresh, dry, or industrialized, for consumption throughout the year (Pozo *et al.*, 1991). The fruits of *C. annuum* are an important source of capsaicins (cyclic organic compound, which is the hot spicy element present in *Capsicum* fruits) and they are used to produce cosmetics, essences and medicines (Luján and Acosta, 2004).

The cultivated *Capsicum* species and their wild kind have the chromosomal number $n=x=12$, or $2n=24$ (Pickersgill, 1997), though *C. ciliatum*, *C. buforum*, *C. campylopodium*, *C. cornutum*, *C. schottianum*, and *C. villosum* var. *villosum* present values of $n=13$. These grow in the west of South America, southeast of Brazil, and in Querétaro (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999; Toniolo and Schifino-Wittmann, 2006). *C. chinense* and *C. frutescens* present 11 pairs of metacentric chromosomes and one acrocentric pair, whereas *C. annuum* have 10 metacentric pairs and two acrocentric pairs (Pickersgill, 1971; Lanteri, 1991).

The karyotypic analysis of some of the *Capsicum* species indicates variation in chromosomal size. The length of the *C. annuum* chromosomes varies from 2.1 to 9.9 μm , particularly in the emerald, jalapeño, sunflower, pánuco, and piquín types (Corona *et al.*, 1999). Intraspecific variation is common in this genus in the wild varieties, and the intraspecific karyotypic variation may be greater than the interspecific (Chennaveeraiah and Habib, 1966; Datta, 1968; Pickersgill, 1971; Kuriachan, 1981).

Although the presence of satellites is not a constant characteristic in some solanaceous species (Moscone, 1989) they regularly appear in *Capsicum chacoense* and other species, which allows using satellite chromosomes as cytogenetic markers. Furthermore, translocations have been found in *C. annuum* (Meshram *et al.*, 1981) and in *C. chinense* Jacq. (Abida *et al.*, 1981), which may have an important function in the evolution of *Capsicum* species (Pickersgill, 1971).

The studies on chromosomal variation in chili pepper provide significant information for efficient improvement or reliable prediction about the genetic potential of this species. Cytogenetics of domesticated taxa of *Capsicum* and their wild ancestors has been studied (Lippert *et al.*, 1966; Pickersgill, 1991). Success of interspecific crosses related to genomic

Los estudios sobre la variación cromosómica en chile proporcionan información significativa para un mejoramiento eficiente o una predicción confiable acerca del potencial genético de esta especie. La citogenética de taxa domesticados de *Capsicum* y sus antepasados silvestres se ha estudiado (Lippert *et al.*, 1966; Pickersgill, 1991). El éxito de cruzamientos interespecíficos relacionados con la homología genómica de las especies parentales, podría permitir el mejoramiento genético de cultivos introduciendo alelos valiosos (Boiteux *et al.*, 1993). Un amplio conocimiento cariológico del género será útil en proyectos de hibridación y enfoques biotecnológicos, incluyendo la transformación genética (Ochoa y Ramírez, 2001).

Dada la gran diversidad morfológica en los frutos de *Capsicum annuum*, se esperaría variación en el número y en la morfología de los cromosomas de esta especie. Por tanto, el objetivo principal de este estudio fue el análisis de los cariotipos de poblaciones cultivadas de *C. annuum* nativos de los Estados de Puebla, Morelos y Querétaro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon semillas de 32 recolectas de chiles criollos de los Estados de Puebla, Morelos y Querétaro de 2000 a 2004, de una colección de 350 muestras. De éstas ocho son de Puebla, 19 de Morelos y 5 de Querétaro (Figura 1). Esta selección se apoyó en las diferencias de tamaño y forma del fruto.

Las semillas se desinfectaron por 5 a 10 min en etanol (60%); se lavaron con agua corriente 2 a 3 min, luego de 10 a 20 min en una mezcla de agua-clorox 3:1 (v/v) y se lavaron 5 a 6 veces (2 a 3 min) en agua destilada. Se sembraron 20 semillas desinfectadas por muestra en papel filtro húmedo en cajas petri, a 20-22 °C, excepto las semillas de chile piquín que se colocaron en una estufa

homology of parental species, might allow genetic crop improvement, introducing valuable alleles (Boiteux *et al.*, 1993). A wide karyological knowledge of the genus will be useful in projects of hybridization and biotechnological approaches, including genetic transformation (Ochoa and Ramírez, 2001).

Given the great morphological diversity in *Capsicum annuum* fruits, variation in number and morphology of the chromosomes of this species could be expected. Therefore, the main objective of this study was the analysis of the karyotypes of cultivated native *C. annuum* populations of the States of Puebla, Morelos, and Querétaro.

MATERIALS AND METHODS

Seeds from 32 harvests of native chili peppers of the States of Puebla, Morelos, and Querétaro were utilized, from a collection of 350 samples, in the years 2000 to 2004. Eight crops were from Puebla, 19 from Morelos, and 5 from Querétaro (Figure 1). The selection was based on the differences of size and fruit shape.

The seeds were disinfected 5 to 10 min in ethanol (60%). They were rinsed with running water for 2-3 min, then they stayed 10 to 20 min in a mixture of 3:1 (v/v) water-clorox and they were washed 5 to 6 times (2-3 min) in distilled water. Twenty disinfected seeds per sample were sown on wet filter paper in Petri dishes, at 20-22 °C, except for piquín chili pepper seeds, which were placed in an incubation oven (28 °C) to obtain a faster and more uniform germination.

In order to obtain mitotic chromosomes, root tips were placed in watery (0.05%) (w/v) colchicine solution for 3 h, at environmental temperature, in the dark. Afterwards, they were transferred to Farmer fixative 3:1 (v/v) alcohol: acetic acid for 12 h. It was hydrolyzed 8 min in HCl 1 N at 60 °C and then colored with Feulgen at 60 °C for 5 min. The colored tips were macerated in citasa (gastric gut of the garden snail, *Helix* spp.) for 2 h at

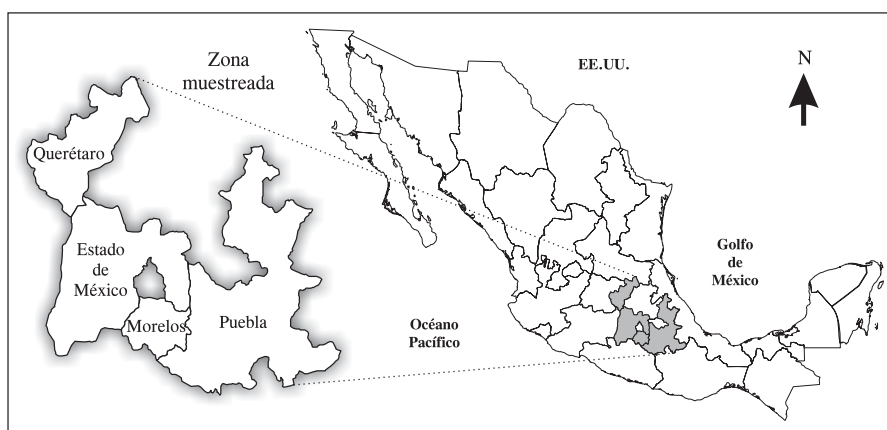


Figura 1. Localización geográfica de las localidades de recolectas de *Capsicum annuum*.
Figure 1. Geographic location of *Capsicum annuum* collection sites.

de incubación (28 °C) para tener una germinación más rápida y uniforme.

Para obtener cromosomas mitóticos, se colocaron los ápices radicales en una solución acuosa de colchicina (0.05%) (p/v) por 3 h a temperatura ambiente y en oscuridad. Luego se transfirieron al fijador Farmer 3:1 (v/v) alcohol: ácido acético por 12 h. Se hidrolizó 8 min en HCl 1 N a 60 °C y se coloreó con Feulgen a 60 °C por 5 min. Los ápices coloreados se maceraron en citasa (jugo gástrico del caracol de jardín, *Helix* spp.) 2 h a temperatura ambiente, para ablandar el tejido con el fin de separar las células. El aplastado se hizo en ácido acético 45% (García, 1990).

De estas preparaciones se obtuvieron cinco fotomicrografías por muestra y se eligió la mejor en la cual se recortaron los cromosomas, los que fueron ordenados de mayor a menor tamaño para elaborar los cariotipos. La longitud total (LT) se obtuvo sumando la longitud del brazo largo y la del brazo corto de cada cromosoma. La longitud relativa (LR%) se midió a partir de la LT de un cromosoma dividido por la LT del genoma. Para la relación de brazos (r), se registró la longitud del brazo largo entre la longitud del brazo corto para cada cromosoma. Se presentan las fórmulas cariotípicas según la clasificación de Levan *et al.*, (1964). El cariotipo de cada recolecta se analizó usando LT, LR% y r del complemento cromosómico. Se aplicó la prueba de t para determinar diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre la LT promedio de los cariotipos de cada Estado, mediante la siguiente fórmula (Reyes, 1978):

$$t = \frac{\text{Diferencia de medias}}{\text{Error estándar de la diferencia}} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

Para analizar el comportamiento meiótico se sembraron 10 plantas de chile representativas de los tres Estados en macetas (1 L) en un invernadero, y otras 10 en el laboratorio de citogenética del Colegio de Postgraduados. Las plántulas (4 cm, tamaño aproximado) se trasplantaron a vasos de unicel (1 L), que contenían una mezcla de tierra y agrolita 1:1 (v/v). En el estadio de floración se seleccionaron 10 botones florales por planta: cinco se usaron en fresco y cinco se fijaron en Farmer (etanol-ácido acético glacial 3:1 v/v) para observar diacinesis y metafase I. Para las preparaciones meióticas se usó la técnica descrita por García (2001).

Para las pruebas de fertilidad de polen se usó la tinción de granos: se eligió un botón floral, se tiñó con orceína y se observó al microscopio la cantidad y tipos de granos (García, 1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las recolectas mostraron el mismo número cromosómico $2n=2x=24$ (Figura 2), que coincide con lo reportado por Ohta (1962); Shopova (1966); Pickersgill (1997) y Corona *et al.* (1999) y, además, es similar al de otras Solanáceas (Golblatt, 1985). Sin embargo hay especies de chile con números cromosómicos superiores ($2n=36$ y 48; Pal *et al.*, 1941, Toniolo *et al.*, 2006).

environmental temperature in order to soften the tissue with the purpose of separating the cells. Squash was made in acetic acid at 45% (García, 1990).

From these preparations 5 photomicrographs per sample were obtained, and the best was chosen, in which the chromosomes were cut out and put in order from largest to smallest size to elaborate the karyotypes. Total length (TL) was obtained adding the length of the long arm to that of the short arm of each chromosome. Relative length (RL%) was measured from TL of a chromosome divided by the TL of the genome. For the relation of arms (r), the length of the long arm divided by the length of the short arm was recorded for each chromosome. The karyotypic formulas are presented according to the classification by Levan *et al.* (1964). The karyotype of each material was analyzed using TL, RL% and r of the chromosomal complement. The t-test was applied to determine significant differences ($p \leq 0.05$) between the mean TL of the karyotypes of each State by the following formula (Reyes, 1978).

$$t = \frac{\text{Mean difference}}{\text{Standard error of difference}} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

In order to analyze the meiotic behavior, 10 chili pepper plants, representative of the three States, were sown in flower pots (1 L) in a greenhouse, and another 10 at the cytogenetics laboratory of the Colegio de Postgraduados. The seedlings (approximately 4 cm high) were transplanted to plastic containers with a mixture of 1:1 (v/v) soil and agrolite. At flowering stage, 10 flower buds per plant were selected; five were used fresh, and five were fixed in Farmer solution (3:1 v/v ethanol- icy acetic acid) to observe diakinesis and metaphase I. For meiotic preparations the technique described by García (2001) was used.

For pollen fertility tests, grain staining was used: a flower bud was chosen, stained with orceine solution and quantity and grain types were observed under the microscope (García, 1990).

RESULTS AND DISCUSSION

All the collections showed the same chromosomal number $2n=2x=24$ (Figure 2), which agrees with what was reported by Ohta (1962); Shopova (1966); Pickersgill (1997) and Corona *et al.* (1999) and, besides, it is similar to that of other Solanaceae (Golblatt, 1985). However, there are chili pepper species with higher chromosomal numbers ($2n=36$ and 48; Pal *et al.*, 1941; Toniolo *et al.*, 2006).

Genome total length varied from 16 to 84 μm , considered as small (Marks, 1952), although Sinha (1950) mentions that chili pepper chromosomes are large. The 12 chromosome pairs observed in this species diminish gradually in their total length. Furthermore, differences in length of chromosome 1 compared to chromosome 12 were observed (Table 1), which may be attributed to significant differences in the degree of spiralling of DNA helices, due to the

La longitud total del genoma varió de 16 a 84 μm , consideradas como chicas (Marks, 1952), aunque Sinha (1950) menciona que los cromosomas de Chile son grandes. Los 12 pares de cromosomas observados en esta especie van disminuyendo gradualmente en su longitud total. Además, se observaron diferencias en la longitud del cromosoma 1 comparado con el 12 (Cuadro 1), las cuales se pueden atribuir a diferencias significativas en el grado de espiralización del ADN debido a que se seleccionaron metafases en diferentes estadios de condensación.

La distribución de ADN entre cromosomas eucarióticos implica que el ADN es empaquetado uniformemente de brazo a brazo y de cromosoma a cromosoma en una metafase dada (Dupraw, 1970). Es decir, la concentración de ADN puede ser constante porque se encontraron diferentes longitudes del genoma en las colectas de Chile debido a la diferencia en el grado de compactación del ADN. Por tanto, un mayor grado de compactación en los cromosomas no indica diferentes contenidos de ADN (Corona *et al.*, 1999).

La longitud promedio para cada estadio sugiere que en Puebla los cromosomas de la recolectas presentan la mayor LT, mientras que en Querétaro es la menor. Esto permite sugerir que en Puebla los chiles se encuentran más avanzados en el proceso de domesticación en comparación con Querétaro y Morelos. Existen restos arqueológicos de semillas de Chile en el Valle de Tehuacán, Puebla (MacNeish, 1964) con una antigüedad de 7000 a 5000 años antes de nuestra era (a.n.e.). Las semillas aumentaron de tamaño gradualmente, y ya en el año 900 a.n.e., corresponderían a chiles domesticados posiblemente pertenecientes a *C. annuum* (Pickersgill, 1969, 1984).

La mayoría de los organismos relacionados cercanamente difieren en la organización de su material cromosómico (White, 1978), por lo que se espera evidencia de alguna variación cromosómica para diferenciar especies de *Capsicum*. Éstas se observarían como una simple aberración individual en células, con baja frecuencia en poblaciones, o en razas cromosómicas en especies polimórficas. El hecho de que en la mayoría de las especies relacionadas cercanamente están diferenciadas cromosómicamente ha dado lugar a cambios cromosómicos en los procesos de especiación (Parker *et al.*, 1988). Esta consideración se ha dado para el proceso por el cual variantes cromosómicas muestran heterosis y ésta se ha fijado durante la especiación. Las especies bulbosas de *Scilla autumnales* (Liliaceae) son diversas cromosómicamente, con 11 citotipos (Ainsworth *et al.*, 1983) y todas las poblaciones tienen polimorfismo cromosómico.

Así como la especie estudiada presenta 11 citotipos, el análisis cariotípico realizado presenta polimorfismo

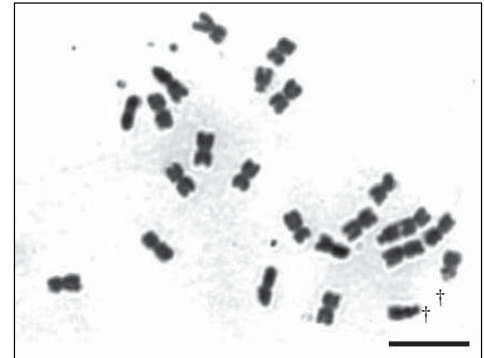


Figura 2. Complemento cromosómico de *Capsicum annuum* ($2n=24$). Escala 10 μm . † = satélites.

Figure 2. Chromosomal complement of *Capsicum annuum* ($2n=24$). Scale 10 μm . † = satellites.

fact that metaphases at different stages of condensation were selected.

DNA distribution among eukaryotic chromosomes implies that the DNA is uniformly packed from arm to arm and chromosome to chromosome in a given metaphase (Dupraw, 1970). That is, the DNA concentration may be constant, because different genome lengths were found in the chili pepper collections, due to the difference in the compaction degree of DNA. Therefore, a higher degree of compaction in chromosomes does not indicate different DNA contents (Corona *et al.*, 1999).

The average length for each stage suggests that in Puebla chromosomes of the collections present the highest TL, whereas in Querétaro it is the lowest. This allows suggesting that in Puebla chili peppers are more advanced in the domestication process than in Querétaro and Morelos. There are archaeological remains of chili pepper seeds in the Valle de Tehuacán (MacNeish, 1964), from 7000 to 5000 years before the Christian era. The seeds gradually increased in volume, and already by the year 900 B. C. they would correspond to domesticated peppers, possibly belonging to *C. annuum* (Pickersgill, 1969, 1984).

Most of the closely related organisms differ in the organization of their chromosomal material (White, 1978), that is why evidence of some chromosomal variation is expected to differentiate *Capsicum* species. These would be observed as a simple individual aberration in cells with low frequency in populations, or in chromosomal races in polymorphous species. The fact that in most of the closely related species they are chromosomally differentiated, has given rise to chromosomal changes in speciation processes (Parker *et al.*, 1988). This consideration has arisen for the process by which chromosomal variants show heterosis and has become fixed during speciation, The

Cuadro 1. Clave de recolectas de *C. annuum*, $2n=2x=24$, localidades en que fueron colectadas y su fórmula cariotípica, longitud del genoma y cromosómica.**Table 1. Collection key of *C. annuum*, $2n=2x=24$; localities where they were collected, and their karyotypic formula, genome and chromosomal length.**

Clave de recolectas	Localidad	Fórmula cariotípica	Genoma (X=12)	Longitud (μm)	
				Cromosoma	
				1	12
CP632	Tepanco de López Tencholera, Puebla	1 M + 10 m + 1 st	83,78	8,43	4,28
CP636	Tepanco de López San Juan, Puebla	2 M + 9 m + 1 st	30,37	3,09	1,71
CP638	Tehuacán San Cristobal Tepeteopan, Puebla	10 m + 1 sm [†] + 1 st	28,00	3,02	1,76
CP640	Miahuatlán, Puebla	10 m + 1 sm [†] + 1 st	24,21	2,49	1,33
CP648	Pericotepec, Tlaxcopec Puebla	10 m + 2 sm	24,50	2,84	1,35
CP661	Tecomatlán San Miguel de Lozano, Puebla	10 m + 1 sm [†] + 1 st	27,38	3,00	1,58
CP662	Tecomatlán San Miguel de Lozano, Puebla	11 m + 1 st	22,20	2,31	1,42
CP662-A	Tecomatlán San Miguel de Lozano, Puebla	10 m + 1 sm [†] + 1 st	15,97	1,80	0,87
CP387	Xoxotla, Morelos	10 m + 1 sm [†] + 1 st [†]	23,26	2,47	1,39
CP394	Xoxotla, Morelos	1 M + 9 m + 1 sm [†] + 1 st	29,68	3,14	1,66
CP408	Coatetelco, Morelos	10 m + 1 sm [†] + 1 st [†]	35,06	4,00	2,08
CP411	Coatetelco, Morelos	10 m + 2 sm [†]	24,25	2,59	1,41
CP415	Chimalacatlán, Morelos	10 m + 1 sm [†] + 1 st [†]	25,25	2,81	1,31
CP428	Chimalacatlán, Morelos	1 M + 9 m + 1 sm [†] + 1 st	37,63	4,27	2,19
CP443	Olinala, Guerrero	10 m + 1 sm [†] + 1 st [†]	28,99	3,19	1,69
CP445	Olinala, Guerrero	11 m + 1 st	34,64	3,84	2,05
CP450	Tepalcingo, Morelos	11 m + 1 st	25,30	2,75	1,36
CP457	Tepalcingo, Morelos	10 m + 2 sm [†]	24,19	2,66	1,56
CP462	Tepalcingo, Morelos	11 m [†] + 1 sm	25,89	2,75	1,61
CP463	Tepalcingo, Morelos	11 m + 1 st	39,91	4,36	2,40
CP464	Tepalcingo, Morelos	11 m + 1 st	51,75	5,62	2,91
CP472	Atlatlahuacán, Morelos	11 m + 1 st	28,47	3,18	1,47
CP473	Tepalcingo, Morelos	10 m + 1 sm [†] + 1 st [†]	21,85	2,36	1,37
CP476	Atlatlahuacán, Morelos	10 m + 1 sm [†] + 1 st [†]	20,79	2,17	1,35
CP478	Chalcancingo, Morelos	10 m + 1 sm [†] + 1 st [†]	36,68	3,75	2,27
CP479	Chalcancingo, Morelos	11 m + 1 st	25,85	2,65	1,60
CP483	Chalcancingo, Morelos	10 m + 1 sm + 1 st	30,71	3,58	1,90
Colecta 8	Jalpan, Querétaro	11 m + 1 sm [†]	29,03	2,88	1,60
Colecta 10	Polvareda, Querétaro	11 m + 1 sm [†]	26,48	2,80	1,42
Colecta 21	Sierra Zongolica, Veracruz	11 m + 1 sm [†]	24,48	3,23	1,76
Colecta 23	Camp. Excatic, Campeche	1 M + 10 m + 1 st [†]	29,30	3,29	1,63
Colecta Ver. 1	Cazones, Veracruz	10 m + 2 sm	27,74	3,29	1,62

† = Presenta satélites ♦ Presents satellites.

en las 32 muestras recolectadas en los tres Estados, debido a que los cariotipos exhiben cromosomas con centrómeros en posición media, submedia y subterminal (Figura 3). Sólo se encontró un par de cromosomas con satélites y la posición de éstos varió. En algunas recolectas se observó en el par 12 y en otras en los pares 6 o 10 u 11 (Figura 3, Cuadro 1 y Cuadro 2, †=satélites), lo cual coincide con Ohta (1962) quien reporta un solo par de cromosomas satelitados en *C. annuum*. Las recolectas CP387, CP394, CP408, CP411, CP473, CP483, CP632, CP636, CP638 y 21 presentaron un par con satélites en condición homocigótica, la cual sugiere que ha ocurrido cruzamiento entre materiales que presentan satélites en diferentes posiciones, por lo cual se presenta un par con satélite en condición heteromórfica. El polimorfismo cromosómico y la posición de los satélites indican cambios estructurales en los

bulbous species of *Scilla autumnales* (Liliaceae) are chromosomally diverse, with 11 cytotypes (Ainsworth *et al.*, 1983) and all the populations have chromosomal polymorphism.

As well as the species under study shows 11 cytotypes, the conducted karyotypic analysis presents polymorphism in the 32 samples collected in the three States, due to the fact that the karyotypes exhibit chromosomes with centromeres in medium, submedium, and subterminal position (Figure 3). Only one pair of chromosomes with satellites was found and their position varied. In some collections, it was observed in pair 12, in others in pair 6, or 10, or 11 (Figure 3, Table 1 and Table 2, †=satellites), which agrees with Ohta (1962) who reports only one pair of satellite chromosomes in *C. annuum*. The collections CP387, CP394, CP408, CP411, CP437, CP483,

cromosomas, lo que permite sugerir que estos cambios pueden tener una función importante en la evolución de las variedades de *Capsicum* (González de León, 1986).

Las observaciones realizadas en las diferentes muestras revelan la existencia de siete cariotipos: los cariotipos 10 m + 1 sm + 1 st y 11 m + 1 st son los más frecuentes (Cuadro 2). De acuerdo con la clasificación de Levan *et al.* (1964), los cariotipos de las recolectas de los tres estados coinciden con lo propuesto para el género el cual está integrado por once pares de cromosomas metacéntricos o submetacéntricos y un par subtelocéntrico. Además hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la LT del genoma entre los tres Estados.

En las recolectas de chile analizadas meióticamente se observaron en metafase I 12_{II} (Figura 4a), lo cual indica que el comportamiento meiótico fue regular (Toniolo y Schifino-Wittmann, 2006), debido a que no se encontró otro tipo de configuración. Además se observaron algunas células en diacinesis (Figura 4b), en anafase I y granos de polen con 99% de fertilidad.

CONCLUSIONES

Las recolectas de chile (*Capsicum annuum*) de los Estados de Puebla, Morelos y Querétaro, analizadas citogenéticamente muestran variabilidad cromosómica. El análisis cariotípico mostró diferencias en el

CP632, CP636, CP638, and 21 presented one pair with satellites under homozygous condition, which suggests that crossing has occurred among materials presenting satellites in different positions; because of this, one pair with satellite in heteromorphic condition is present. Chromosomal polymorphism and the position of the satellites indicate structural changes in the chromosomes, which allows suggesting that these changes may have an important function in the evolution of *Capsicum* varieties (González de León, 1986).

The observations carried out in the different samples reveal the existence of seven karyotypes: the karyotypes 10 m + 1 sm + 1 st and 11 m + 1 st are the most frequent ones (Table 2). According to the classification of Levan *et al.* (1964), the karyotypes of the collections of the three states agree with what was proposed for the genus, integrated by 11 pairs of metacentric or submetacentric, and one pair of subtelocentric chromosomes. Furthermore, there are significant differences ($p \leq 0.05$) in TL genome, among the three states.

In the collections of meiotically analyzed chili peppers, in metaphase I 12_{II} were observed (Figure 4a), which indicates that the meiotic behavior was regular (Toniolo and Schifino-Wittmann, 2006) due

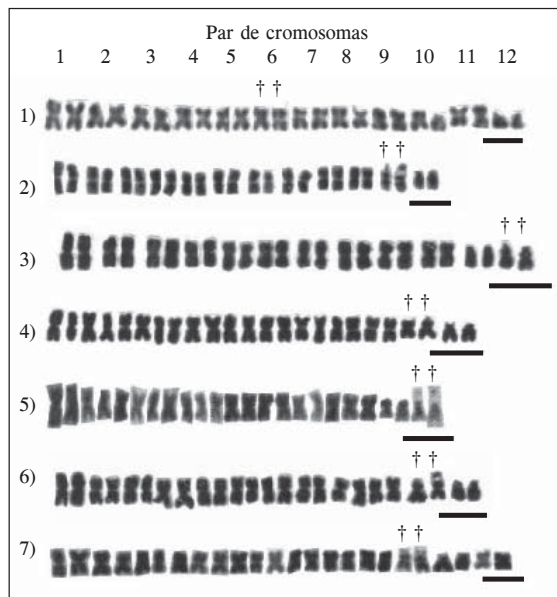


Figura 3. Cariotipos de *Capsicum annuum*. Escala 10 μ m. † = satélites.

Figure 3. Karyotypes of *Capsicum annuum*. Scale 10 μ m. † = satellites

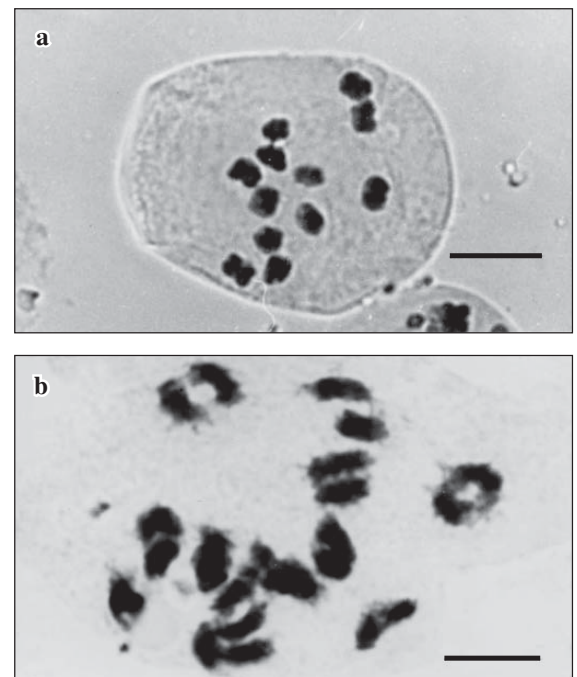


Figura 4. a) Metafase I, $2n=24$, 12_{II} ; b) Diacinesis en *Capsicum annuum*. Escala 10 μ m.

Figure 4. a) Metaphase I, $2n=24$, 12_{II} ; b) Diakinesis in *Capsicum annuum*. Scale 10 μ m.

Cuadro 2. Cariotipos presentes en las recolectas de chile (*Capsicum annuum* L.), en Puebla, Morelos y Querétaro.
Table 2. Karyotypes present in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) collections, in Puebla, Morelos, and Querétaro.

Fórmula cariotípica	Clave de recolectas
1) 10 m + 1 sm [†] + 1 st [†]	CP387, CP408, CP415, CP443, CP473, CP476, CP478, CP483, CP638, CP640, CP661, CP662-A
2) 1 M + 9 m + 1 sm [†] + 1 st	CP394, CP428
3) 10 m + 2 sm [†]	CP411, CP457, CP648, Colecta Ver. 1
4) 11 m [†] + 1 st	CP445, CP450, CP463, CP464, CP472, CP479, CP662
5) 11 m + 1 sm [†]	CP462, Colecta 8, Colecta 10, Colecta 21
6) 1 M + 10 m + 1 st [†]	CP632, Colecta 23
7) 2 M + 9 m [†] + 1 st	CP636

[†] = Presenta satélites en algún par de cromosomas ♦ Presents satellites in any pair of chromosomes.

número de cromosomas con centrómeros en posición media, submedia y subterminal, lo cual sugiere la existencia de polimorfismo en las recolectas de chile estudiadas. La variación en el tamaño y la forma del fruto de varios tipos de *C. annuum* se pueden considerar como una evidencia del proceso de evolución en esta especie.

LITERATURA CITADA

- Abida, K., P. I. Kuriachan, and P. Kuriachan. 1983. A spontaneous interchange heterozygote in *Capsicum chinense* Jacq. *Caryologia* 36: 183-187.
- Ainsworth, C. C., J. S. Parker, and D. H. Horton. 1983. Chromosome variation and evolution in *Scilla autumnalis*. In: Kew Chromosome Conference II. P. E. Brandham, and M. D. Bennett (eds). Allen and Unwin, London. pp: 261-268.
- Boiteux, L. S., T. Nagata, W. P. Dutra, and M. Fonseca. 1993. Sources of resistance to tomato spotted wilt virus (TSWV) in cultivated and wild species of *Capsicum*. *Euphytica* 67: 89-94.
- Chennaveeraiah, M. S., and A. F. Habib. 1966. Recent advances in the cytogenetics of *Capsicums*. *Proc. Autumn School in Botany. Mahabaleswar* pp: 69-90.
- Corona, T. T., A. García V., F. Castillo G., V. Montero T., y S. H. Azpiroz. 1999. Variabilidad en el contenido de ADN nuclear en chile (*Capsicum annuum* L. y *C. chinense* Jacq.) de México. *Agric. Téc. Méx.* 25: 115-122.
- Datta, P. C. 1968. Karyology of Indian varieties of *Capsicum annuum* Linn. (Solanaceae). *Caryologia* 21: 121-126.
- Dupraw, J. E. 1970. The ultrastructure of metaphase chromosomes. In: Ebert, J. D., A. G. Loewy, R. S. Miller and H. A. Schneiderman (eds). *DNA and Chromosomes*. United States of America. pp: 132-171.
- García V., A. 1990. Técnicas y Procedimientos de Citogenética Vegetal. 3a. ed. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 144 p.
- García V., A. 2001. Two desynaptic mutants of *Rhoeo spathacea* (Commelinaceae). *Cytologia* 66: 269-274.
- Golblatt, P. 1985. Index to plant chromosome numbers 1982-1983. *Monographs in Systematic Botany*. Missouri Bot. Garden. 13: 224.
- González de León, R. D. 1986. Interspecific Hybridization and the Cytogenetic Architecture of two Species of Chili pepper (*Capsicum*-Solanaceae). *Departament of Agricultural Botany. University of Reading*. 203 p.
- Hernández-Verdugo, S., A. P. Dávila, y K. Oyama. 1999. Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del género *Capsicum*. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 64: 65-84.

to the fact that no other type of configuration was found. Besides, some cells in diakinesis were observed (Figure 4b) in anaphase I, and pollen grains with 99% fertility.

CONCLUSIONS

The collections of chili pepper (*Capsicum annuum*) from the States of Puebla, Morelos, and Querétaro cytogenetically analyzed present chromosomal variability. Karyotypic analysis showed differences in the number of chromosomes with centromeres in medium, submedium, and subterminal position, which suggests the existence of polymorphism in the studied collections of chili pepper. The variation in size and fruit shape of various types of *C. annuum* may be considered as an evidence of the evolution process in this species.

—End of the English version—



- Kuriachan, P. 1981. A cytogenetic study of the wild and cultivated varieties of *Capsicum baccatum* L. *Indian J. Bot.* 4: 27-32.
- Lanteri, S. 1991. Lack of a karyotype class and skewed chromosome segregation in two backcross progenies of *Capsicum*. *J. Genetic and Breeding* 45: 51-58.
- Levan, A., K. Fredga, and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas* 52: 201-220.
- Lippert, L. F., P. G. Smith, and B. O. Bergh. 1966. Cytogenetics of the vegetable crops. Garden pepper, *Capsicum* sp. *Bot. Rev.* 32: 24-55.
- Luján, F. M., y G. F. Acosta. 2004. Selección de genotipos de chile para el Norte de México. *Primera Convención Mundial del Chile 2004*. León, Gto. Junio 2004. pp: 454-459.
- MacNeish, R. S. 1964. Ancient mesoamerican civilization. *Science* 143: 531-537.
- Marks, G. E. 1952. A controllable carmine technique for plants with small chromosomes. *Stain Technique* 27: 333-336.
- Meshram, L. D., M. N. Narkhede, and N. Y. Deshmukh. 1981. Spontaneous multiple translocations in *Capsicum annuum* L. *Cytologia* 46: 75-79.
- Moscone, E. A. 1989. Karyotype analyses in three Patagonian and S. Andean endemic genera of Nicotianae (Solanaceae). *Plant Systematic Evolution* 166: 31-39.

- Ochoa, A. N., and R. M. Ramírez. 2001. *In vitro* chili pepper biotechnology. *In vitro* Cellular and Development Biol. 37: 701-729.
- Ohta, Y. 1962. Karyotype analysis of *Capsicum* species. Seiken Zihō 13: 93-99.
- Pal, B. P., S. Ramanujan, and A. B. Joshi. 1941. Colchicine induced polyploidy in crop-plants. II Chilli (*Capsicum annuum* L.). Indian J. Gen. Plant Breeding 1: 28.
- Parker, J. S., A. S. Wilby, and S. Taylor. 1988. Chromosome stability and instability in plants. In: Brandham, P. E. (ed). Kew Chromosome Conference III. London. Royal Botanic Gardens, Kew. pp: 131-140.
- Pickersgill, B. 1969. The domestication of chili peppers: In: Ucko P. J., and G. W. Dimbley (eds). The Domestication and Exploration of Plants and Animals. Duckworth, London. pp: 443-450.
- Pickersgill, B. 1971. Relationships between weedy and cultivated forms in some species of chili peppers (Genus *Capsicum*). Evolution 25: 683-691.
- Pickersgill, B. 1984. Migration of chili peppers, *Capsicum* spp. in the Americas. In: Stone, D. (ed). Papers of the Peabody Museum of Archeology and Ethnology. Harvard University Press. pp: 105-123.
- Pickersgill, B. 1991. Cytogenetics and evolution of *Capsicum* L. In: Tsuchiya T., and P. K. Gupta (eds). Chromosome Engineering in Plants: Genetics, Breeding, Evolution, Part B. Elsevier. Amsterdam. pp: 139-160.
- Pickersgill, B. 1997. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. Euphytica 96: 129-133.
- Pozo C., O., S. Montes., y E. Rendón. 1991. Chile (*Capsicum* ssp.). In: Ortega, R., G. Palomino, F. Castillo, V. A. González, y M. Livera (eds). Avances en el Estudio de los Recursos Genéticos de México. Sociedad Mexicana de Fitogenética. Chapingo, Edo. de Méx., México. pp: 217-238.
- Reyes C., P. 1978. Diseño de Experimentos Aplicados. Trillas. México. 348 p.
- Shopova, M. 1966. Studies in the genus *Capsicum* I. Species differentiation. Chromosoma 19: 340-348.
- Sinha, N. P. 1950. The somatic chromosomes and meiosis in *Capsicum*. Indian J. Genet. 10: 36-42.
- Toniolo, P. M., and T. Schifino-Wittmann, 2006. A meiotic study of the wild and semi-domesticated Brazilian species of genus *Capsicum* L. (Solanaceae). Cytologia 71: 259-269.
- Toniolo, P. M., M. T. Schifino-Wittmann, and B. L. De Bem. 2006. Chromosome numbers in wild and semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species: do $X = 12$ and $X = 13$ represent two evolutionary lines? Botanical Journal of the Linnean Society 151: 259-269.
- Walker, S. J., and P. W. Bosland. 1999. Inheritance of Phytophthora root rot and foliar blight resistance in pepper. J. Am. Soc. Hort. Sci. 124: 14-18.
- White, M. J. D. 1978. Modes of Speciation. W. J. Freeman, San Francisco. 159: 1065-1070.