

Diversidad genética de *Capsicum pubescens* mediante marcadores genómicos funcionales del CYP450

Ana Karen Escalera-Ordaz¹

Héctor Guillén-Andrade^{1,5}

Pedro Antonio López²

Luis Mario Tapia Vargas³

1 Facultad de Agrobiología 'Presidente Juárez'-Unidad de Investigaciones Avanzadas en Agrobiotecnología-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Paseo Lázaro Cárdenas esquina con Berlín S/N, Emiliano Zapata, Uruapan, Michoacán, México. CP. 60170 Tel. 452 5236474. (ana.karen.escalera.ordaz@gmail.com).

2 Colegio de Postgraduados-Campus Puebla. Carretera federal México-Puebla km 125.5, Santiago Momoxpan, San Pedro Cholula, Puebla, México. CP. 72760. Tel. 222 2851442. (palopez@colpos.mx).

3 Campo Experimental Uruapan-INIFAP. Avenida Latinoamericana 1101. Colonia Revolución, Uruapan, Michoacán, México. CP. 60250. Tel. 452 5237392. (mariotv60@hotmail.com).

Autor para correspondencia: hector.guillen@umich.mx

Resumen

El trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Recursos Fitogenéticos de la Facultad de Agrobiología 'Presidente Juárez' de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en 2019 y 2022. La investigación se planteó con el objetivo de evaluar la utilidad de los marcadores funcionales derivados del CYP450 para estudios de diversidad genética en *Capsicum pubescens*. El material genético consistió en 31 variedades cultivadas de *C. pubescens* procedentes de tres diferentes localidades del estado de Michoacán, México. El ADN genómico fue obtenido con base en el protocolo de Huang *et al.* (2013) y en el análisis se incluyeron dos combinaciones de cebadores del CYP450. Los productos de amplificación fueron separados en geles de acrilamida al 8% y teñidos con nitrato de plata. Un total de 85 loci fueron detectados: la combinación CYP2B6F/CYP2C19R, detectó 34 loci polimórficos; mientras que con la combinación CYP2C19F/CYP1A1R, solo 27. El análisis de diversidad de *C. pubescens* permitió identificar 1.54 alelos por locus, 1.33 número efectivo de alelos por locus, índice de Shannon de 0.3, un índice de heterocigosidad de 0.2 y un 60.39% de loci polimórficos. Los resultados obtenidos muestran que los marcadores derivados del CYP450, son una alternativa eficiente y de bajo costo para estudios de diversidad genética en especies vegetales.

Palabras clave:

Capsicum pubescens, variabilidad genética.



License (open-access): Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una licencia **Creative Commons**

Introducción

La especie *C. pubescens* conocida comúnmente como chile perón, manzano, canario, cera o rocoto (Escalera-Ordaz, 2019), es originaria de las partes altas de América del Sur, florece en zonas elevadas entre 1 200 y 3 000 msnm. En México, se encuentra en los estados de México, Puebla, Veracruz, Michoacán y Chiapas (Aguirre y Muñoz, 2015).

Esta especie presenta una diversidad de usos: medicinales, se consume en fresco, deshidratado o como alimentos en conserva es una fuente de colorantes naturales (Escalera-Ordaz, 2019).

Para un mayor conocimiento, se han hecho estudios sobre la diversidad genética, estructura de poblaciones y relaciones filogenéticas. En este sentido, los marcadores moleculares son considerados una herramienta biotecnológica de importancia para la evaluación de la diversidad genética gracias a las características que poseen (Gil-Langarica, 2008). Entre las técnicas que se han utilizado se encuentran los AFLPs (Vos *et al.*, 1995) y las secuencias de microsatélites como los ISSRs (Zietkiewicz *et al.*, 1994) y SRAPs (Li y Quiros, 2001).

Sin embargo, en la actualidad estas técnicas presentan ciertas desventajas que pueden llegar a ser un obstáculo: requerimiento de grandes cantidades de ADN (Rentería, 2007), reproducibilidad (Ríos *et al.*, 2009) y conocimiento previo de las secuencias de ADN, entre otras (Carvalho *et al.*, 2015). Los trabajos de investigación en esta especie se han limitado principalmente en variedades, híbridos y líneas de diferentes especies de *capsicum* (Castañón-Nájera *et al.*, 2011; Contreras-Toledo *et al.*, 2011; Mahmoud, 2013; Carvalho *et al.*, 2015; Toledo-Aguilar *et al.*, 2016; Xiao-min *et al.*, 2016; López-Espinosa *et al.*, 2018). En contraste, con un menor nivel de investigación se encuentra *C. pubescens* (Pardey y García, 2011; Lijun y Xuexiao, 2012).

El citocromo CYP450 fue identificado en 1958 como un pigmento celular (Jaimes-Santoyo *et al.*, 2014), se encuentra en bajas concentraciones en distintos órganos de las plantas y en algunos organelos celulares como son: retículo endoplásmico, membrana plasmática, vacuola, mitocondria y aparato de Golgi. Al respecto, se han identificado diferentes moléculas de citocromo CYP450 en un solo organismo (Valencia-Quintana *et al.*, 2009) con diferentes funciones dentro de las plantas: síntesis de diversos compuestos de defensa contra insectos y patógenos, en la biosíntesis de las giberelinas, así como, en el proceso de maduración de frutos.

En *Arabidopsis*, se han determinado 270 genes pertenecientes a 45 distintas familias del CYP450 (González-Mendoza, 2009), lo que hace del CYP450 una de las familias más grandes de proteínas enzimáticas en las plantas (Bak, 2011). Asimismo, se han aislado genes de la familia CYP88A en *Cucurbita maxima* (Helliwell *et al.*, 2000) y *Zea mays* (Winkler y Helentjaris, 1995), de la familia CYP73A9v1 en *Pisum sativum* (Whitbred y Schuler, 2000) y CYP71A1 en *Persea americana*.

Los marcadores genómicos funcionales basados en el CYP450 (Shakeel *et al.*, 2019), fueron originados a partir de un estudio en donde se evaluó el polimorfismo detectado por el CYP450 en mamíferos y posteriormente, utilizados como herramientas universales para evaluar la diversidad genética de especies vegetales. Alrededor de 51 especies han sido evaluadas con este marcador (Yamanaka *et al.*, 2003) y con éxito en diferentes especies vegetales: *Musa* spp, (Wan *et al.*, 2005), *Withania coagulans* (Gilani *et al.*, 2009), *Curcuma amada* (Shakeel *et al.*, 2019), *Eleusine coracana* (Panwar *et al.*, 2010), *Moringa oleífera* (Saini *et al.*, 2013), *Oryza Sativa* (Yamanaka *et al.*, 2011), *Sechium edule* (Machida-Hirano *et al.*, 2015), entre otras.

Los niveles de polimorfismo determinados oscilan desde 0.28% hasta un 88.25%. Dadas las características y los resultados obtenidos con el marcador CYP450 en estudios de diversidad genética en diferentes especies, se planteó su utilización para estudios preliminares de variabilidad genética en variedades cultivadas de *C. pubescens*.



Materiales y métodos

Material vegetal

En la presente investigación se utilizaron 31 variedades cultivadas de *C. pubescens*: 11 de ellas procedentes del municipio de Tingambato (TIN) y 20 de dos localidades del municipio de Uruapan: 11 de Toreo el Bajo (TOB) y 9 en Tiamba (TIA). Los sitios de origen de los materiales analizados oscilan entre los 1623 y 2282 msnm.

Obtención de ADN genómico

El ADN fue obtenido con base en el procedimiento descrito por Huang *et al.* (2013). Algunas modificaciones hechas consistieron en la liofilización del tejido foliar sin el uso previo de nitrógeno líquido y la sustitución de cloroformo y alcohol isoamílico por diclorometano (CH_2Cl_2) y etanol, respectivamente. La concentración del ADN aislado se determinó con la ayuda de un NanoDrop 2000c (Thermo Scientific®).

Amplificación, separación e identificación de amplicones

Para la obtención de amplicones se utilizaron 10 μl de la siguiente mezcla de reacción de PCR: 2.5 μl de ddH₂O, 0.3 mM de MgCl₂, 0.6 μM de cada iniciador 3.5 μl 2X red Taq (0.7 X) y 2 μl de una solución de ADN (25 ng μl^{-1}). Los oligonucleótidos utilizados fueron dos combinaciones de cebadores derivados del citocromo CYP450: CYP2B6F (5' gac tct tgc tac tcc tgg gtt 3')/CYP2C19R (3' cca tcg att ctt ggt gtt ct 5') y CYP2C19F (5' tcc ttg tgc tct gtc tct ca 3')/CYP1A1R (3' aag gac atg ctc tga cca tt 5') (Inui *et al.*, 2000). Para la amplificación, se utilizó un termociclador 3 PrimeG techne®.

Para la combinación de oligos CYP2B6F/CYP2C19R fue el siguiente: una etapa inicial de 5 min a 94 °C, seguidos de 35 ciclos de amplificación de la siguiente manera: desnaturalización 60 s a 94 °C, hibridación 60 s a 47 °C y una extensión de 60 s a 72 °C. Para la combinación de oligos CYP2C19F/CYP1A1R la hibridación se realizó en 60 s a 54 °C. Para ambas combinaciones se incluyó una extensión final de 10 min a 72 °C. Los amplicones fueron separados mediante electroforesis en gel de acrilamida al 8% en sistemas verticales de 200 ml (Enduro™ Power Supplies 300V).

Los marcadores moleculares de referencia fueron de 20 pb y 100 pb. La detección de los productos amplificados se llevó a cabo mediante tinción por nitrato de plata y visualizados en un fotodocumentador Gel Logic 112 Carestream® (Sanguinetti y Simpson, 1994).

Análisis de datos moleculares

Para este procedimiento, se organizaron tres grupos de variedades, considerando como criterio de agrupamiento el sitio de procedencia. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico GenAlex (Peakall y Smouse, 2012) para calcular parámetros de diversidad genética: número de alelos (N), número promedio de alelos/locus (Na), número efectivo de alelos (Ne), índice de Shannon (I), heterocigosidad (He) y porcentaje de loci polimórficos (% P). A partir de una matriz de promedios, se calculó la matriz de distancias genéticas entre variedades y se hizo el análisis de agrupamiento con el método de Neighbor-Joining. El dendrograma fue generado mediante el programa MEGA5 (Tamura *et al.*, 2011).

Resultados y discusión

Nivel de polimorfismo determinado. Las combinaciones utilizadas de marcadores generaron bandas entre 40 y 500 pb. Lo anterior, contrasta con lo obtenido por otros autores (Mahmoud, 2013) en estudios hechos en *C. anuum*, en este último caso, utilizaron marcadores codominantes del tipo ISSRs. En total fueron detectados 85 loci, la combinación CYP2B6F/CYP2C19R, reveló 34 bandas polimórficas; mientras que la combinación CYP2C19F/CYP1A1R, reveló 27 bandas polimórficas, para un nivel de polimorfismo de 60.39%, este valor fue superior en promedio en un 8.83%, al

determinado en otras especies de *Capsicum* y un 29.14% superior al reportado (Pardey y García, 2011) para *C. pubescens* mediante SSRs.

En general las combinaciones del CYP450 detectaron un mayor nivel de polimorfismo, superior en un 41.9% y 35.59% con respecto al detectado con ISSRs (Lijun y Xuexiao, 2012) y con RAPDs (Bobadilla-Larios *et al.*, 2017), respectivamente. En contraste, en estudios hechos en variedades de *C. frutescens* y *C. annuum* (Castañón-Nájera *et al.*, 2011) y en poblaciones criollas de *C. chinense* (López-Espinosa *et al.*, 2018) se han reportado niveles de polimorfismo promedio de 95.4% utilizando marcadores ISSRs y AFLPs.

Es de resaltar el nivel de polimorfismo (60.39%) determinado en *C. pubescens* en comparación al promedio (20.91%) detectado con otros marcadores (Pardey y García, 2011; Lijun y Xuexiao, 2012) en esta misma especie. Por otra parte, existen pocos estudios sobre la utilización de los marcadores derivados del CYP450 en otras especies vegetales, destacan los hechos en *Musa ssp.*, y en *Curcuma amada* (Shakeel *et al.*, 2019), en donde se han determinado polimorfismos de 65.2% y 94.6%, respectivamente.

Este tipo de marcadores se basa en una familia multigénica que registra la diversidad en regiones funcionales del genoma, esto explica los niveles de polimorfismo obtenidos y, por ende, se han empleado para caracterizar la diversidad genética y variabilidad de especies de insectos (Giraldo *et al.*, 2011), mamíferos ungulados y cetáceos (Irwin *et al.*, 1991).

Asimismo, los genes derivados del CYP450, ampliamente distribuidos dentro del genoma de las plantas, pueden emplearse universalmente; sin embargo, su utilización en especies vegetales (Yamanaka *et al.*, 2003; Wan *et al.*, 2005; Gilani *et al.*, 2009; Panwar *et al.*, 2010; Yamanaka *et al.*, 2011; Saini *et al.*, 2013; Machida-Hirano *et al.*, 2015; Shakeel *et al.*, 2019) ha sido limitada.

Análisis de diversidad genética. El análisis permitió identificar un promedio de 1.54 alelos por locus, 1.33 número efectivo de alelos por locus, un índice de Shannon de 0.3, un índice de heterocigosidad de 0.2 y un porcentaje de loci polimórficos de 60.39% (Cuadro 1). El valor de heterocigosidad estimado fue bajo (0.2), con respecto a los reportados por Xiao-min *et al.* (2016); Toledo-Aguilar *et al.* (2016) en donde se determinaron valores que oscilan de 0.36 a 0.59. La heterocigosidad determinada en *C. annuum* (Contreras-Toledo *et al.*, 2011), *C. frutescens* y *C. chinense* (Carvalho *et al.*, 2015; López-Espinosa *et al.*, 2018) con marcadores SSRs arrojó valores promedio de 0.42, superiores a los reportados en esta investigación.

Cuadro 1. Parámetros básicos de diversidad genética obtenidos mediante la combinación de marcadores CPY450 en variedades cultivadas de *C. Pubescens* R. y P. procedentes del estado de Michoacán, México.

Poblaciones	N ^a	Na ^b	Ne ^c	I ^d	He ^e	P ^f (%)
Toreo el Bajo	11	1.66	1.38	0.34	0.23	67.06
Tingambato	11	1.55	1.31	0.29	0.19	60
Uruapan	9	1.42	1.3	0.27	0.18	54.12
Media	10.33	1.54	1.33	0.3	0.2	60.39

^a = número de alelos; ^b = número promedio de alelos/locus; ^c = número efectivo de alelos; ^d = índice de Shannon; ^e = heterocigosidad; y ^f = porcentaje de loci polimórficos.

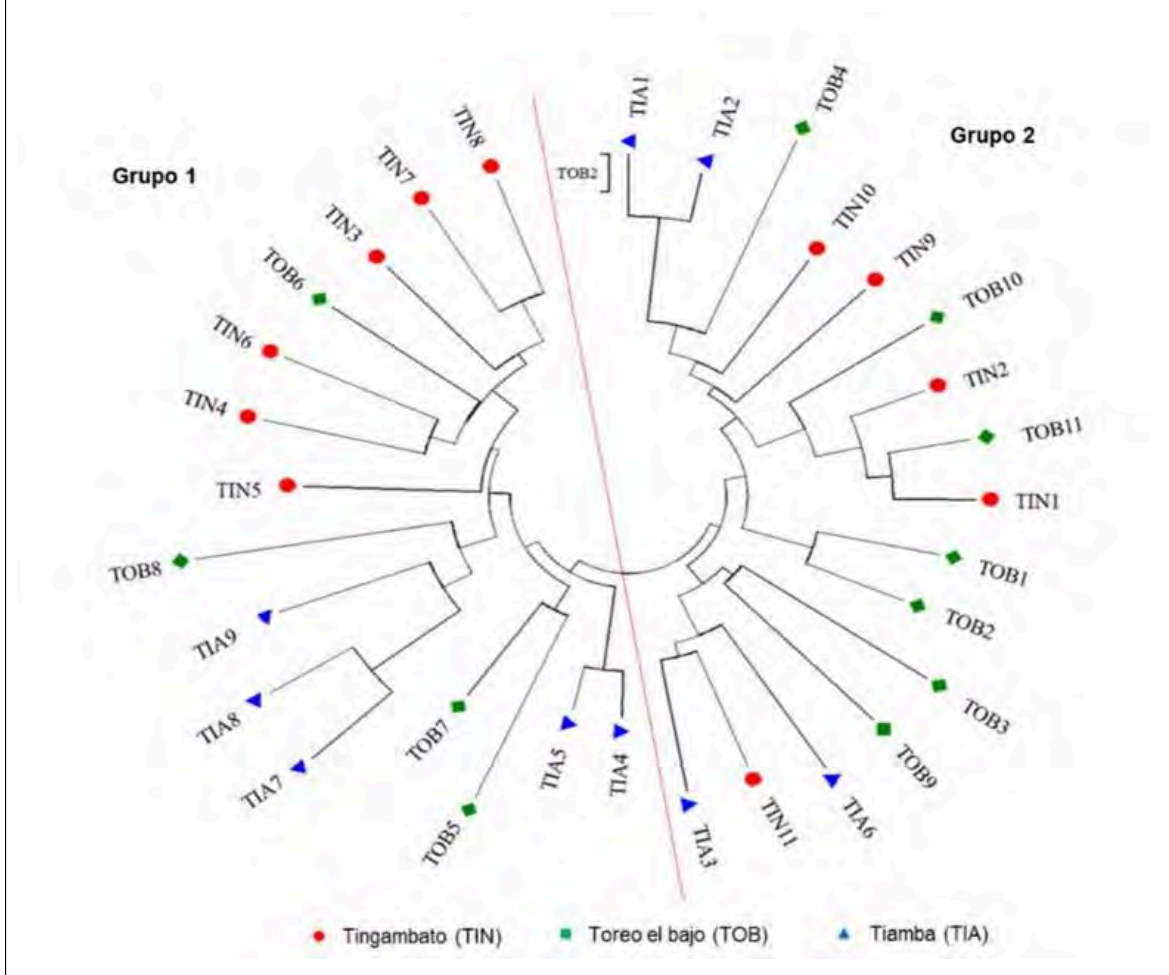
Resultados similares se han obtenido con el empleo de AFLPs (Guzmán *et al.*, 2005) e ISSRs (Lijun y Xuexiao, 2012). También, se ha observado que cuando las especies indicadas se relacionan con *C. Pubescens*, se obtienen valores bajos de diversidad genética (Pardey y García, 2011).

Los marcadores funcionales CYP450 han mostrado su viabilidad para estimar altos niveles de diversidad genética, incluso en algunas especies vegetales como *Musa spp.*, (Wan *et al.*, 2005) y *Oryza Sativa* (Yamanaka *et al.*, 2011). En este sentido, los valores de *He* determinados en las poblaciones estudiadas en las tres localidades fueron similares con un promedio de *He*= 0.2. Esto concuerda con los niveles de polimorfismo, estimados en cada una de las poblaciones indicadas.

La estimación del índice de diversidad de Shannon evidenció que la riqueza de individuos en la población de Uruapan fue de menor ($I = 0.27$), con respecto a las poblaciones de Tingambato y Toreo el Bajo ($I = 0.29$ e $I = 0.34$, respectivamente). El valor promedio estimado para este parámetro fue de $I = 0.3$ y puede estar en función de la homogeneidad de la población y de la frecuencia de alelos (Glaserapp *et al.*, 2015). Los análisis de parámetros de diversidad genética obtenidos mediante CYP450 son similares (Machida-Hirano *et al.*, 2015) a los generados con otro tipo de marcadores como los SSRs y RAPDs.

Relaciones de parentesco. En la Figura 1, se observó que los marcadores derivados del CYP450 identificaron dos grupos perfectamente definidos, ambos grupos no presentaron relación con las características morfológicas de los frutos, pero tampoco con su lugar de procedencia. En el dendograma se observó una politomía, ya que no se tiene suficiente información para explicar esta relación (Martínez, 2007). La formación de grupos con base en el polimorfismo detectado con marcadores derivados del CYP450 no se ha podido explicar (Wan *et al.*, 2005; Gilani *et al.*, 2009; Saini *et al.*, 2013), es probable que al aumentar el número de iniciadores se pueda obtener más información sobre este tipo de agrupamientos (Wan *et al.*, 2005).

Figura 1. Árbol filogenético de 31 variedades cultivadas de *Capsicum pubescens*, procedentes de tres localidades de los municipios de Tingambato y Uruapan, Michoacán, México, con base en datos moleculares obtenidos a partir de dos combinaciones de iniciadores derivados del citocromo CYP450.



En ambos grupos, destacan por su mayor similitud genética y con base en las secuencias analizadas, las variedades procedentes de la localidad de Tiamba: en el grupo 1 la TIA4 con TIA5 y en el grupo 2 la variedad TIA1 con TIA2. No obstante, en el grupo 1 predominan las

variedades cultivadas procedentes de la Tingambato, mientras que en grupo 2 las procedentes de la localidad de Toreo. La formación de grupos con base en el polimorfismo detectado con marcadores derivados del CYP450 no se ha podido explicar (Wan *et al.*, 2005; Gilani *et al.*, 2009; Saini *et al.*, 2013), es muy probable que al aumentar el número de iniciadores se pueda obtener más información sobre este tipo de agrupamientos.

El uso de estos marcadores en mamíferos (Giraldo *et al.*, 2011); así como, en la identificación de secuencias análogas de genes CYP450 en diferentes especies vegetales (González-Mendoza, 2009; Bak, 2011) permitió que los CYP450 fueran considerados como una herramienta universal para la evaluación de la diversidad genética del genoma en diversas especies vegetales que no tienen marcadores genéticos relevantes.

Este tipo de marcadores representan un sistema ideal (Yamanaka *et al.*, 2011) para revelar la diversidad genética presente en individuos, poblaciones y especies, ya que permiten detectar un alto nivel de polimorfismo, son rentables, con presupuestos limitados, sin diferencias significativas en cuanto a formación de grupos, pero útiles en la estimación de diversidad genética y de ensayo rápido (Panwar *et al.*, 2010), los convierte en una alternativa confiable para estudios de diversidad genética (Shakeel *et al.*, 2019) en especies vegetales.

Conclusiones

Los resultados generados en este trabajo de investigación, en variedades cultivadas de *C. Pubescens*, muestran la utilidad de los marcadores funcionales derivados del CPY450 en estudios para generar información de manera rápida y no costosa sobre la variabilidad y diversidad genética de individuos o poblaciones de especies vegetales estrechamente relacionadas.

Agradecimientos

A la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (CIC-UMSNH) por el financiamiento parcial del proyecto y al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca para estancia posdoctoral.

Bibliografía

- 1 Aguirre, H. E. y Muñoz, O. V. 2015. El chile como alimento. *Revista Ciencia*. 66(3):16-23. <https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/66-3/PDF/Chile.pdf>.
- 2 Bak, S.; Beisson, F.; Bishop, G.; Hamberger, B.; Höfer, R.; Paquette, S. and Werck-Reichhart, R. D. 2011. Cytochromes P450. *The Arabidopsis Book*. 9:2-56. <https://doi.org/10.1199/tab.0028>.
- 3 Bobadilla-Larios, V.; Esparza-Ibarra, E.; Delgadillo-Ruiz, L.; Gallegos-Flores, P. y Ayala-Lujan, J. L. 2017. Variedades de chile (*Capsicum annuum* L.) identificadas mediante marcadores RAPD. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 20(3):465-473. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93953814014.pdf>.
- 4 Carvalho, S. I. C.; Ragassi, C. F.; Oliveira, I. B.; Amaral, Z. P. S.; Reifschneider, F. J. B.; Faleiro, F. G. and Buso, G. S. C. 2015. Transferability of microsatellite markers of *Capsicum annuum* L. to *C. frutescens* L. and *C. chinense* Jacq. *Genetics and Molecular Research*. 14(3):7937-7946. <https://doi.org/10.4238/2015.July.17.1>.
- 5 Castañón-Nájera, G.; Ramírez-Meraz, M.; Ruiz-Salazar, R. y Mayek-Pérez, N. 2011. Aplicación de marcadores AFLP para explorar heterosis en *Capsicum* spp. *Revista Internacional de Botánica Experimental*. 80(1):53-58. <http://www.revistaphyton.fundromuloraggio.org.ar/vol80/Castanon-Najera-2011.pdf>.
- 6 Contreras-Toledo, A. R.; López-Sánchez, H.; Santacruz-Varela, A.; Valadez-Moctezuma, E.; Aguilar-Rincón, V. H.; Corona-Torres, T. y López, P. A. 2011. Diversidad genética en México de variedades nativas de chile "poblanó" mediante

- microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 34(4):225-232. <http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S018773802011000400003&script=sci-arttext>.
- 7 Escalera-Ordaz, A. K. y Guillén-Andrade, H. 2019. Formas y colores del chile perón. *Revista Saber Más*. 48(8):42-44. <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/416-numero-48/786-chile-peronvariabilidad-de-formas-y-colores.html>.
 - 8 Gilani, A. S.; Kikuchi, A. and Watanabe, K. N. 2009. Genetic variation within and among fragmented populations of endangered medicinal plant, *Withania coagulans* (Solanaceae) from Pakistan and its implications for conservation. *African Journal of Biotechnology*. 8(13):2948-2958. <http://www.academicjournals.org/AJB/PDF/pdf2009/6%20Jul/Gilani%20et%20al.pdf>.
 - 9 Gil-Langarica, H. R. y Mayek-Pérez, N. 2008. Los marcadores moleculares en el mejoramiento genético de la resistencia a enfermedades del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.): aplicaciones y perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 26(2):164-176.
 - 10 Giraldo, H. P. A.; Uribe, S. S. I. y López, R. A. 2011. Análisis de secuencias de ADN mitocondrial (Cytb y ND1) en *Lucilia eximia* (Diptera: Calliphoridae). *Revista Colombiana de Entomología*. 37(2):273-278. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v37n2/v37n2a20.pdf>.
 - 11 Glasenapp, J. S.; Frieden, B. R. and Cruz, C. D. 2015. Shannon mutual information applied to genetic systems. *Quantitative Biology*. 1(1):1-20. <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1512/1512.02324.pdf>.
 - 12 González-Mendoza, D. 2009. El complejo enzimático citocromo p450 en las plantas. *Revista internacional de contaminación ambiental*. 23(4):177-183. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v23n4/v23n4a3.pdf>.
 - 13 Guzmán, F. A.; Ayala, H. D.; Azurdia, C. A.; Duque, M. C. and De Vicente, M. C. 2005. AFLP assessment of genetic diversity of *Capsicum* genetic resources in Guatemala: Home gardens as an option for conservation. *Crop Science*. 45(1):363-370. <http://qualquant.org/wp-content/uploads/ethnoecology/2005%20Guzman363.pdf>.
 - 14 Helliwell, C. A.; Chandler, P. M.; Poole, A.; Dennis, E. S. and Peacock, W. J. 2000. The CYP88A cytochrome P450, ent-kaurenoic acid oxidase, catalyzes three steps of the gibberellin biosynthesis pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. 98(4):2065- 2070.
 - 15 Huang, Q. X.; Wang, X. C.; Kong, H.; Guo, Y. L. and Guo, A. P. 2013. An efficient DNA isolation method for tropical plants. *African Journal of Biotechnology*. 12(19):2727-2732. <https://doi.org/10.5897/AJB12.524>.
 - 16 Inui, H.; Kodama, T.; Ohkawa, Y. and Ohkawa, H. 2000. Herbicide metabolism and cross tolerance in transgenic potato plants co-expressing human CYP1A1, CYP2B6, and CYP2C19. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 66(2):116-129.
 - 17 Irwin, D. M.; Kocher, T. D. and Wilson, A. C. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *Journal of Molecular Evolution*. 32(2):128-144.
 - 18 Jaimes-Santoyo, J.; Montesinos-Sampedro, A.; Barbosa-Cobos, R. E.; Moreno-Mutio, S. G.; Rodríguez-Ballesteros, D.; Ramos-Cervantes, T.; Ocharán-Hernández, M. E.; Toscano-Garibay, J. y Beltrán-Ramírez, O. 2014. El citocromo P-450. *Revista del Hospital Juárez de México*. 81(4):250-256. <https://www.medigraphic.com/pdfs/juarez/ju-2014/ju144j.pdf>.
 - 19 Li, G. and Quiros, C. F. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP) a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in brassica. *Genética Teórica y Aplicada*. 103(2-3):455-461.
 - 20 Lijun, O. and Xuexiao, Z. 2012. Inter simple sequence repeat analysis of genetic diversity of five cultivated pepper species. *African Journal of Biotechnology*. 11(4):752-757. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2551>.
 - 21 López-Espinosa, S. T.; Latournerie-Moreno, L.; Castañón-Nájera, G.; Ruiz-Sánchez, E.; Gómez-Leyva, J. F.; Andueza-Noh, R. H. y Mijangos-Cortés, J. O. 2018. Diversidad

- genética de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) mediante ISSR. *Revista Fitotecnia Mexicana* . 41(3):227-236. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.3.227-236>.
- 22 Machida-Hirano, R.; Cortés-Cruz, M.; González, B. A. A.; Íñiguez, J. C.; Shirata, K. and Watanabe, K. N. 2015. Isolation and characterization of novel microsatellite markers in chayote [*Sechium edule* (Jacq.) Sw.]. *American Journal of Plant Sciences*. 6(13):2033-2041. <https://doi.org/10.4236/ajps.2015.613203>.
 - 23 Mahmoud, A. S. 2013. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in the evaluation of genetic polymorphism of Egyptian *Capsicum* L. hybrids. *African Journal of Biotechnology* . 12(7):665-669.
 - 24 Martínez, C. L. 2007. Reconstrucción de la historia de cambio de los caracteres. Ed. *Ecología Molecular*. 87-152 pp. <https://www.researchgate.net/publication/258129643-Ecologia-Molecular>.
 - 25 Panwar, B.; Saini, R. K.; Sharma, N.; Yadav, D. and Kumar, A. 2010. Efficiency of RAPD, SSR and Cytochrome P450 gene-based markers in accessing genetic variability amongst finger millet (*Eleusine coracana*) accessions. *Molecular Biology Reports*. 37 <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0067-5>.
 - 26 Pardey, R. C. y García, D. M. A. 2011. Caracterización molecular de 135 introducciones de *Capsicum* procedentes del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. *Revista Intropica*. 6(1):21-32. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ20220180543>.
 - 27 Peakall, R. and Smouse, P. E. 2012. GenAlex 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 28(19):2537-2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>.
 - 28 Rentería, A. M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. Ed. *Ecología Molecular*. 541-571. <https://hopelchen.tecnm.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r119349.PDF>.
 - 29 Ríos, E.; Mejía-Ruiz, H. y Álvarez-Castañeda, S. T. 2009. Marcadores moleculares: una revolución en la Zoología. *Revista Ciencia* . 60(3):5-13.
 - 30 Saini, R. K.; Saad, K. R.; Ravishankar, G. A.; Giridhar, P. and Shetty, N. P. 2013. Genetic diversity of commercially grown *Moringa oleifera* Lam. cultivars from India by RAPD, ISSR and cytochrome P 450-based markers. *Plant Systematics and Evolution*. 299(7):1205-1213. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0789-7>.
 - 31 Sanguinetti, C. J. and Simpson, A. J. 1994. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*. 17(5):914-921.
 - 32 Shakeel, A. J.; Kikuchi, A.; Ahmad, D. and Watanabe, K. N. 2019. Characterization of the genetic structure of mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.) from Myanmar in farm and genebank collection by the neutral and functional genomic markers. *Electronic Journal of Biotechnology*. 13(6):1-11. ISSN: 0717-3458.
 - 33 Tamura, K.; Peterson, D.; Peterson, N.; Stecher, G.; Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*. 28(10):2731-2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>.
 - 34 Toledo-Aguilar, R.; López-Sánchez, H.; Santacruz-Varela, A.; Valadez-Moctezuma, E.; López, P. A.; Aguilar-Rincón, V. H.; González-Hernández, V. A. and Vaquera-Huerta, H. 2016. Characterization of genetic diversity of native 'Ancho' chili populations of Mexico using microsatellite markers. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 76(1):18-26. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000100003>.
 - 35 Valencia-Quintana, R.; Sánchez-Alarcón, J.; Gómez-Arroyo, S.; Gómez-Olivares, J. L. y Kubiak, S. M. W. 2009. Los citocromos P450 en los 5 reinos de Margulis. *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*. 7(1):9-26.

- 36 Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; Lee, T.; Van De, Hornes, M. Friters, A.; Pot, J; Paleman, J.; Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 23(21):4407-4414. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407>.
- 37 Wan, Y.; Watanabe, J. A.; San, S. Y.; Htaik, T.; Win, K.; Yamanaka, S.; Nakamura, I. and Watanabe, K. N. 2005. Assessment of genetic diversity among the major Myanmar banana landraces. *Breeding Science*. 55(3):365-369. <https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsbbs/55/3/55-3-365/-pdf>.
- 38 Whitbred, J. M. and Schuler, M. A. 2000. Molecular characterization of CYP73A9 and CYP82A1 P450 genes involved in plant defense in pea. *Plant Physiol*. 124(1):47-58.
- 39 Winkler, R. G. and Helentjaris, T. 1995. The maize Dwarf3 gene encodes a cytochrome P450-mediated early step in gibberellin biosynthesis. *Plant Cell*. 7(1):1307-1317.
- 40 Xiao-min, Z.; Zheng-hai, Z.; Xiao-zhen, G.; Sheng-li, M.; Xi-xiang, L.; Alain, J. C. P.; Li-Hao, W. and Bao-xi, Z. 2016. Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *Journal of Integrative Agriculture*. 15(9):1991-2001.
- 41 Yamanaka, S.; Suzuki, E.; Tanaka, M.; Takeda, Y.; Watanabe, J. A. and Watanabe, K. N. 2003. Assessment of cytochrome P450 sequences offers a useful tool for determining genetic diversity in higher plant species. *Theoretical and Applied Genetics*. 108(1):1-9. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1403-0>.



Diversidad genética de *Capsicum pubescens* mediante marcadores genómicos funcionales del CYP450

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 April 2024
Date accepted: 01 August 2024
Publication date: 13 August 2024
Publication date: Jul-Aug 2024
Volume: 15
Issue: 5
Electronic Location Identifier: e3733
DOI: 10.29312/remexca.v15i5.3733

Categories

Subject: Artículo

Palabras clave:

Palabras clave:

Capsicum pubescens
variabilidad genética

Counts

Figures: 1

Tables: 1

Equations: 0

References: 41

Pages: 0