



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD-
FRUTICULTURA

**MORFOLOGÍA DE FRUTOS, PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS
EN SEMILLA Y DIVERSIDAD GENÉTICA MOLECULAR EN
SELECCIONES DE ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* (Jacq.)**

H. E. Moore & Stearn)

MARTHA ELVA IBARRA ESTRADA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2012

La presente tesis titulada: "MORFOLOGÍA DE FRUTOS, PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN SEMILLAS Y DIVERSIDAD GENÉTICA MOLECULAR EN SELECCIONES DE ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* (JACQ.) H. E. MOORE & STEARN)"

realizada por la alumna: Martha Elva Ibarra Estrada

bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FRUTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dra. Reyna Isabel Rojas Martínez

ASESOR



Dr. Tarsicio Corona Torres

ASESOR



Dr. Guillermo Carrillo Castañeda

ASESOR



Dr. Samuel Salazar García

ASESOR



Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Abril del 2012

**MORFOLOGÍA DE FRUTOS, PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN SEMILLA Y DIVERSIDAD
GENÉTICA MOLECULAR EN SELECCIONES DE ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota***

(Jacq.) H. E. Moore & Stearn)

Martha Elva Ibarra-Estrada, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2012

A México se le considera centro de origen del zapote mamey ya que cuenta con una gran diversidad. Sin embargo, son pocos los trabajos enfocados en estudiar tal diversidad tanto en la parte morfológica, contenido de ácidos grasos o aspectos moleculares. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue: caracterizar morfológica, bioquímica y molecularmente selecciones sobresalientes de zapote mamey. En base a las variables de fruto y el perfil de ácidos grasos en semilla, el material vegetal estudiado mostró amplia variación entre las accesiones. El peso y longitud de fruto, longitud de hilio y de semilla, número de fibras, grosor de epicarpio y ancho de semilla fueron las variables determinantes para la agrupación de las selecciones. El perfil de ácidos grasos estuvo compuesto por cuatro: oleico, esteárico, linoleico y palmítico. En el caso del oleico, este presentó la mayor concentración ($\geq 50\%$). A través de los marcadores moleculares RAPD y RAMP fue posible detectar 75 % del polimorfismo del material estudiado. La relación genética varió de 58 a 90 % y de 48 a 98 % en la primera y segunda técnica, respectivamente. El material vegetal se distribuyó en cinco y seis grupos en cada uno de los marcadores. En ambos casos, 'Cid 19' se mantuvo aislado del resto de las colectas. Situación contraria presentó 'El Mexicano' el cual estuvo más estrechamente relacionado con 'Piedra'. Con el empleo de componentes principales se pudieron detectar los iniciadores que generaron la mayor cantidad de bandas polimórficas, las cuales detectaron la mayor variabilidad. Sin embargo, no fue posible separar las selecciones por lugar de procedencia.

Palabras clave: Caracterización, frutos, lípidos semillas, variabilidad, RAPD, RAMP.

FRUIT MORPHOLOGY, PROFILE OF FATTY ACIDS IN THE SEED, AND MOLECULAR GENETIC DIVERSITY IN SELECTIONS OF ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* (Jacq. H. E. Moore & Stearn))

**Martha Elva Ibarra-Estrada, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2012**

Mexico, as the center of origin of zapote mamey, has a great variety of materials. However, there are few, or in some topics, no works focused on studying this diversity in its different aspects. Because of this, the general objective of this paper was to characterize outstanding and contrasting selections of zapote mamey morphologically, biochemically, and molecularly. Considering the variables of the fruit, and the profile of fatty acids in the seed, the studied plant material showed a wide variation among accessions. The weight and length of the fruit, the length of the fiber and the seed, the number of fibers, the thickness of the exocarp and the thickness of the seed were the determining variables for the grouping of the selections. The profile of fatty acids was made up of four main acids: oleic, estearic, linoleic, and palmitic acids. In this case, oleic acid was predominant ($\geq 50\%$). Though the use of RAPD and RAMP, it was possible to detect $\geq 75\%$ of the polymorphism generated by the banding of the initiators used. The genetic relationship among the materials varied from 58 to 90%, and from 48 to 98% in the first and second techniques, respectively. The plant material was distributed into five and six groups in each of the markers. In both cases, 'Cid 19' formed an isolated group. The opposite happened with 'El Mexicano', which was the most genetically related with 'Piedra'. With the use of main components, it was possible to detect the initiators that generated the greatest number of monomorphic bands, which are not indispensable to detect variety. With each method, the variation present within each population was detected. However, it was not possible to separate the selections by place of precedence.

Index words: Characterization, fruits, lipids, seeds, variability, RAPD, RAMP.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la beca proporcionada para realizar estudios de doctorado. A la Fundación Produce Guerrero, A. C. y al SINAREFI por el apoyo económico para la realización del presente estudio.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, por ser parte de mi formación profesional. Así mismo, a las nuevas autoridades de tan distinguida institución por estar conduciéndola por buen camino.

A la Dra. Reyna Isabel Rojas Martínez por toda la dedicación brindada en la elaboración del presente documento y por la amplia disponibilidad que manifestó en todo momento. Además por ser excelente profesora y ser humano.

Al Dr. Guillermo Carrillo Castañeda por la atención y el tiempo brindado al presente documento. Además le agradezco por ser una persona atenta, amable, educada, por su calidad humana y por el gran respeto que brinda a todo su entorno.

Al Dr. Tarsicio Corona Torres por la amable disponibilidad y acertadas revisiones realizadas al documento. De igual manera, por ser un excelente ser humano.

Del Campo Experimental Santiago Ixcuintla, Nayarit mi más sincero agradecimiento al Dr. Samuel Salazar García por todas las facilidades brindadas para que pudiera terminar exitosamente este ciclo. Así mismo, por todos los conocimientos transmitidos con la intención de lograr mi superación.

A la Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza por haberse dado el tiempo para asesorarme en el laboratorio. Además de ser muy buena amiga.

A muchos profesores amigos del Colegio de Postgraduados: Amalio Santacruz, Apolinar Mejía, Gabino García de los Santos, Gregorio Arellano, Eduardo García, Oscar Ayala y Ricardo Lobato. Por los buenos tiempos.

De manera muy especial le agradezco al Dr. Víctor Arturo González por la amistad desinteresada brindada hacia mi persona.

A la Lic. Carmen Padilla Pastrana, Anita, Griselda, Lucía y Luciana, por su amistad y la buena disponibilidad brindada durante toda mi estancia.

Al Dr. Alejandro Barrientos Priego por su buena disposición, y tenderme la mano en los momentos difíciles.

Al Personal de la biblioteca: Sra. Luz, Anita, Lupita, Mariana, Juan, Mario y Raymundo ya que en todo momento sin excepción alguna, estuvieron dispuestos a ayudarme.

Y al final de todo, y no por ello menos importantes, mi más sincero agradecimiento y gratitud a quienes conforman la Procuraduría Académica, Lic. Armando Ramírez-Gómez, Abigaíl Enríquez y Lic. Lorena Herrera. Sin su ayuda simplemente no hubiera sido posible llegar hasta este momento. Excelentes personas todos ellos.

DEDICATORIAS

A mi reinita hermosa Danna Fernanda por ser la luz que ilumina y da alegría a mi existencia. Porque no conozco amor más grande desde que supe de tu existencia. Por ti la lucha ha sido hasta el final.

A mis padres Martha Estrada Campos y Anselmo Ibarra Rentería, gracias principalmente por el cuidado y el amor que le dieron y le siguen dando a mi Fernandita.

A mis sobrinas Yareli y Julissa porque de igual manera son parte importante en mi vida.

A mis hermanos Marco Antonio, Emmanuel y Adrián por el apoyo que me brindan en el cuidado y la atención a mi hija. Por ser cada uno de ustedes un papá para ella.

A toda mi familia y amigos por sus oraciones y los ánimos que siempre me han brindado.

A mis amigos Alejandra Vélez, Athenea Raya, Berenice Osorio, Celia Rocha, Diana Sanzón, Gabriela, Mercedes Borja, Michelle Villalvazo, Miriam Sánchez, Yolanda Rodríguez, Wendy Ferro, Alonso Méndez “El Jamaico”, Carlos Ramos, Cid Aguilar, Eduardo Hernández, Edwin, Fernando Utrera “La Abeja”, Fidel, Francisco Isiordia, Gabriel Santoyo, José Agapito, Juan Carlos Rivadeneyra, Juan Herrera, Israel Barrientos, Miguel Angel Mata, Nestor Rojas y Saúl Espinoza. Todos estuvieron presentes cuando más los necesité.

A los compañeros investigadores del Campo Experimental Santiago Ixcuintla, Nayarit. De manera especial a mis amigos del Laboratorio de Frutifisiología: Dr. Samuel Salazar, Efraín, Javier, Jonathan, José, Nancy, Oscar y Sergio por el apoyo brindando en las actividades relacionadas con el trabajo y por los ánimos que siempre me dieron.

“...la lucha vale la pena si el objetivo vale
la pena y los medios son honestos.”

Steven Brust

“...Permitir una injusticia significa abrir el camino
A todas las que siguen.”

Willy Brandt

Finalmente

“...Si sufres injusticias consuélate, porque
la verdadera desgracia es cometerlas.”

Pitágoras de Samos

CONTENIDO	Página
ÍNDICE DE CUADROS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
I.- INTRODUCCIÓN GENERAL	1
BIBLIOGRAFÍA	11
CAPÍTULO I. VARIABILIDAD MORFOLÓGICA EN FRUTOS DE ZAPOTE MAMEY (<i>Pouteria sapota</i> (Jacq.) H. E. MOORE & STEARN) Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LA SEMILLA	
Resumen.....	18
Summary.....	19
Introducción.....	20
Materiales y métodos.....	22
Resultados.....	24
Discusión.....	27
Conclusiones.....	30
Bibliografía.....	31
CAPÍTULO II. VARIABILIDAD GENÉTICA DE SELECCIONES DE ZAPOTE MAMEY (<i>Pouteria sapota</i> (Jacq.) H. E. MOORE & STEARN) MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES RAPD Y RAMP	
Resumen.....	40
Summary.....	41
Introducción.....	42
Materiales y métodos.....	43
Resultados y Discusión.....	46
Conclusiones.....	52
Bibliografía.....	53
DISCUSIÓN GENERAL	60
CONCLUSIONES GENERALES	63
BIBLIOGRAFÍA	64

ÍNDICE DE CUADROS

Página

Capítulo I

Cuadro 1. Medias de los caracteres morfológicos de fruto, semilla y contenido de ácido graso de zapote mamey generado por el análisis de agrupamiento y corroborado por el dendrograma así como por la prueba de Tukey.....	35
Cuadro 2. Distancia cuadrada generalizada para cluster de cluster.....	36

Capítulo II

Cuadro 1. Iniciadores utilizados en la técnica de RAPD, cantidad de fragmentos amplificados y tamaño de los fragmentos generados.....	57
Cuadro 2. Iniciadores utilizados en la técnica RAMP, cantidad de fragmentos amplificados y porcentaje de polimorfismo y monomorfismo.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Capítulo I

Figura 1. Dispersión de los componentes principales 1 y 2 de 15 selecciones de zapote mamey.....	37
Figura 2. Dispersión de los componentes principales 1 y 3 de 15 selecciones de zapote mamey.....	37
Figura 3. Análisis de agrupamiento de 15 selecciones de zapote mamey en base a caracteres morfológicos.....	38

Capítulo II

Figura 1. Patrón de bandeo obtenido con el iniciador al azar OPA10. Carril 1) marcador de peso molecular 1 Kb de Invitrogen ®. Carril 2) ‘Magaña 1’, Carril 3) ‘Cid 23’, Carril 4) ‘El Pequeño’, Carril 5) ‘El Rajón’, Carril 6) ‘Piedra’, Carril 7) ‘El Regalo’, Carril 8) ‘El Risueño, Carril 9) ‘El Mexicano’, Carril 10) ‘Alfonso 26’, Carril 11) ‘Pardo 1’, Carril 12) ‘Nidito de Amor’, Carril 13) Alfonso 15, Carril 14) ‘Alfonso 10’, y Carril 15) ‘Cid 19’.....	58
Figura 2. Análisis de agrupamiento de 14 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> (Jacq.) H. E. Moore & Stearn) en base a marcadores moleculares RAPD.....	58
Figura 3. Patrón de bandas obtenidas con el iniciador al azar OPB05+(GATA) ₄ . Carril 1) marcador de peso molecular 1 Kb de invitrogen. Carril 2) ‘Magaña 1’, 3) ‘Cid 23’, 4) ‘El Pequeño’, 5) ‘El Rajón’, 6) ‘Piedra’, 7) ‘El Regalo’, 8) ‘El Risueño, 9) ‘El Mexicano’, 10) ‘Alfonso 26’, 11) ‘Pardo 1’, 12) ‘Nidito de Amor’, 13) Alfonso 15, 14) ‘Alfonso 10’, 15) ‘Cid 19’, negativo, 1 Kb de invitrogen.....	59
Figura 4. Análisis de agrupamiento de 14 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> , (Jacq.) H. E. Moore & Stearn) en base a marcadores moleculares RAMP.....	59

INTRODUCCION GENERAL

Domesticación de plantas

Las diferencias estructurales o biológicas entre variedades silvestres y cultivadas de la misma especie resultan de la selección hecha por el hombre. Estas diferencias son más acentuadas en los cultivos sometidos a selección larga e intensa. En algunos casos afectan solamente a ciertas partes de las plantas, en otros, a toda ella o representan cambios en los procesos biológicos. Entre los objetivos que se persiguen están los de conservar las variantes nuevas que en ellas aparecen, de extender su cultivo a ambientes diferentes y de buscarles nuevos usos (León, 2000). Así, la suma de todos los individuos con sus respectivas variantes es lo que se conoce como variabilidad genética (Franco e Hidalgo, 2003).

México es centro importante de domesticación y de diversidad de numerosos cultivos, algunos de gran importancia global. Las poblaciones humanas, a raíz de sus necesidades, intereses, prácticas y conocimientos han ido conformando y manteniendo esta diversidad. Los agricultores mexicanos de hoy no solamente la han heredado, sino que la continúan manteniendo y desarrollando, aún en condiciones cada vez más difíciles (Bellon *et al.*, 2009). En referencia a las especies frutales, estas son de gran interés en el país debido a la diversidad de usos alimenticios e industriales. Existen 63 especies de frutas comercializadas y 220 especies con potencial desconocido, aunque su utilidad está documentada (Tapia-Delgado, 2008). Dentro de este grupo se encuentra el zapote mamey (familia Sapotaceae) el cual es originario de las partes más bajas de América Central y México (Balerdi y Crane, 2009).

Esta especie se ha propagado básicamente por semilla, lo que ha ocasionado variabilidad genética. Villegas-Monter (2008) señala que aun cuando hay más de 30 genotipos seleccionados en el país, pocos son conocidos y la mayoría no han sido caracterizados en plantaciones a nivel comercial.

Caracterización

De acuerdo a lo mencionado por Gazel-Filho (2002) la caracterización de la diversidad genética consiste en el registro de características cualitativas y cuantitativas de una especie. Tales caracteres deben ser altamente heredados y fáciles de ser observados. Así mismo, se deben expresar en la mayoría de los ambientes. Por su parte, Márquez (1992) menciona que la caracterización sistemática debe permitir conocer la variación entre y dentro de las colecciones y seleccionar los genotipos más aptos para cultivarlos. No obstante, la FAO (2011) menciona que la diversidad genética se está perdiendo a un ritmo alarmante es indispensable prestar mayor atención debido al riesgo permanente de su pérdida.

Importancia de la caracterización

El estudio de la variabilidad genética de las colecciones de germoplasma de una especie exige la documentación lo más completa posible. Este expediente incluye información sobre el origen geográfico, caracterización morfológica, evaluación de la respuesta a factores bióticos y abióticos y, por último, una caracterización de marcadores moleculares para cada accesión. Estos grupos de información, aparentemente independientes, se encadenan para finalmente establecer criterios racionales que permiten explicar la variabilidad de la especie estudiada. No obstante, es necesario enfatizar que independientemente del nivel de caracterización, los resultados del análisis de los datos son sólo una estimación de la variabilidad total de la especie (Franco e Hidalgo, 2003).

Caracterización morfológica

Wilson *et al.* (1977) demostraron que la caracterización generada a través de descriptores morfológicos y marcadores moleculares suelen ser independientes. En cada caso responde a reglas y presiones evolutivas diferentes. Posteriormente, Hillis (1987) mencionó que a partir de 1960 las investigaciones moleculares empezaron a progresar hasta adquirir grandes conocimientos. Este repentino incremento precipitó debates entre la morfología tradicional y el campo molecular. No obstante, Hillis y Moritz (1990) indicaron que en general estudios que incorporen ambos tipos de análisis proveerán una mejor descripción e interpretación de la diversidad genética de los individuos.

Los problemas teóricos de evaluar la congruencia entre árboles filogenéticos generados de datos moleculares y morfológicos para 1993 aún no se habían resuelto (Patterson *et al.*, 1993). En el caso de los caracteres morfológicos, estos lograron gran avance durante ese tiempo y ninguna de sus bien sustentadas filogenias había sido derrocada por datos moleculares. Hasta esa fecha, los estudios moleculares contribuyeron de manera significativa en áreas donde los datos morfológicos eran inconclusos, deficientes, no existentes o pobremente analizados.

En relación a las especies frutales, diversos trabajos se han enfocado en evaluar la variabilidad genética considerando características físicas y bioquímicas del fruto. Las especies de la familia Sapotaceae no han sido la excepción. En algunos casos tal variabilidad se ha estimado mediante técnicas estadísticas basadas en el análisis multivariado. Lo anterior con el objetivo de agruparlos por el grado de similitud de sus características. En chicozapote (*Malinkara zapota*) Gazel-Filho (2002) caracterizó 13 accesiones considerando 18 características cualitativas y 31 cuantitativas de fruto. Este autor empleó técnicas del análisis multivariado como conglomerados, discriminante canónico (ADC), la prueba de F (características cuantitativas) y Chi cuadrada X^2 (características cualitativas).

Sus resultados mostraron la formación de tres conjuntos, lo cual fue verificado mediante ADC. El grupo I se caracterizó por tener los frutos más pesados y pequeños (105.2 g y 49.10 cm), mayor diámetro de fruto y semilla (61.90 y 13.90 cm) y menor grosor de epicarpio (0.80 mm). El grupo II se identificó por tener los frutos y las semillas de mayor tamaño (56.70 y 22.80 cm, respectivamente).

Las cualidades que distinguieron al grupo III fueron: frutos de menor peso (72.40 g) y más delgados (50.70 cm), semillas de longitud y diámetro pequeño (21.2 y 12.50 cm, respectivamente) pero de mayor peso (4.8 g). La prueba de F mostró seis características determinantes (diámetro de fruto y pulpa, rendimiento de fruto, largo de hoja, acidez y contenido de glucosa). Además, con la prueba de X^2 se encontró que sólo la forma del fruto fue significativa para diferenciar los grupos.

Álvarez-Vargas *et al.* (2006) estudiaron 20 árboles de caimito (*Chrysophyllum cainito*). Para determinar la variabilidad genética emplearon el análisis de conglomerado. Los resultados mostraron la formación de tres grupos. En el primero se concentraron los frutos de mayor tamaño y peso. Así mismo, los que presentaron mayor número de semillas y concentración de sólidos solubles totales. El segundo grupo lo integraron frutos de tamaño pequeño y que contenían alrededor de tres semillas. Para este caso, el contenido de sólidos solubles y azúcares fue intermedio. El tercer grupo se caracterizó por presentar los valores más bajos de longitud de fruto, diámetro y peso de cáscara, pulpa y semilla; presentaron el menor número de semillas, y la concentración de sólidos solubles totales fue intermedia. El análisis de componentes principales confirmó los resultados obtenidos en el análisis de conglomerados y determinó que los tres primeros componentes explicaron 85.80 % de la varianza total.

En Brasil, Nascimento *et al.* (2008) estudiaron en 13 selecciones de zapote mamey seis características morfológicas y cuatro bioquímicas de fruto. Realizaron análisis de correlación y de agrupamiento. Estos autores encontraron correlación positiva entre largo y diámetro de fruto ($r= 0.76$) y entre peso de fruto y rendimiento de pulpa ($r =0.71$).

El dendrograma formó tres grupos. El primero se integró por la selección ‘P3’ la cual fue diferente al resto del material evaluado. Debido a lo anterior, a ‘P3’ la señalaron como ideal para ser seleccionada como planta madre. No fue verificado ningún material semejante. Esto debido a que todas las plantas eran producidas de semilla. Los autores concluyen que considerando las características bioquímicas las selecciones ‘P3’, ‘P7’ y ‘P9’ presentaron las mejores características de fruto para procesamiento industrial.

En México, Bañuelos y Ochoa (2006) caracterizaron 44 selecciones de zapote mamey de la región subtropical del Centro-Occidente de Michoacán. Para esto se basaron en variables cualitativas y cuantitativas las cuales fueron sometidas a los análisis de conglomerados y discriminante canónicos. Sus resultados mostraron la formación de seis grupos. Las variables peso, longitud y diámetro del fruto, espesor y peso del mesocarpio, la relación longitud y diámetro del fruto, forma, aroma y textura, resultaron ser las más importantes para diferenciar los grupos. Concluyeron que la variabilidad observada podría servir como criterio para elegir selecciones con mayor calidad de fruto y aceptación por el consumidor.

Gaona-García *et al.* (2008) evaluaron la diversidad genética en 19 árboles de zapote mamey de la región suroeste de Morelos. Como herramienta estadística se emplearon los análisis de conglomerados y componentes principales (ACP). Se formaron siete grupos. Los grupos I, II y IV destacaron debido a que son materiales considerados los de mayor potencial hortícola. El grupo I se conformó principalmente por frutos de tamaño pequeño y con valores altos de sólidos solubles y azúcares totales. Los frutos del grupo II se distinguieron por ser pequeños, tener una sola semilla y color de pulpa cercano al rojo. Los frutos del grupo IV se diferencian por ser de tamaño mediano, color de pulpa naranja y con los mayores valores de sólidos solubles y azúcares totales con respecto al resto de los materiales. El ACP señala que los tres primeros explicaron 70 % de la variabilidad total encontrada.

Bajo esta situación el primero se definió por las dimensiones, peso del fruto y sus estructuras. El segundo se compuso principalmente por la masa de la semilla, el número total de ellas, el grosor de la pulpa, cantidad de azúcares y características del color (luminosidad, matiz y cromaticidad). El tercer componente se definió por el índice longitud/diámetro de fruto y la cantidad de sólidos solubles totales. La presencia de frutos de tamaño pequeño (300 y 500 g) y mediano (501 y 700 g) sugieren que existen materiales promisorios para diferentes mercados (fresco y procesado).

El zapote mamey también ha sido estudiado con el objetivo de evaluar su aprovechamiento en el área industrial. Solís-Fuentes y Durán-de-Bazúa (2005) analizaron los aceites contenidos en la pulpa del fruto. Fueron detectados los más comunes e importantes ácidos grasos saturados (palmítico y estéarico) e insaturados los que predominan (oleico y linoleico).

Diferentes son los trabajos que se han orientado en evaluar la diversidad genética de la especie. Sin embargo a excepción del trabajo anteriormente mencionado ningún otro se ha enfocado en evaluar la cantidad y tipos de ácidos grasos presentes en el fruto. En el caso de la semilla, estos mismos autores realizaron un trabajo en el 2003. Sus resultados indicaron que contienen 40 % de ácidos grasos saturados, poco más del 50% de monoinsaturados y alrededor del 8% de poliinsaturados (linoleico). Sin embargo, no se han encontrado más reportes al respecto.

Caracterización molecular

Con el desarrollo de las tecnologías basadas en ADN, la investigación se favoreció con la disponibilidad de más marcadores. Se utilizan diferentes métodos los cuales se agrupan en tres categorías: la primera se basa en la hibridación tipo Southern. La segunda agrupa metodologías basadas en la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés).

Mientras que la tercera involucra metodologías que combinan la PCR o sus productos de ADN más la hibridación tipo Southern (Valadez-Moctezuma y Kahl, 2005).

Fragmentos polimórficos de ADN Amplificados al Azar (RAPD)

El principio de esta técnica se basa en la amplificación al azar de fragmentos de ADN. Para esto se usa ADN genómico molde, nucleótidos, cloruro de magnesio y Taq ADN polimerasa (Becerra y Paredes, 2000). Con esta técnica se lleva a cabo una reacción la cual es sometida a diferentes condiciones cíclicas de temperatura.

Esta situación permite la amplificación *in vitro* de múltiples fragmentos de ADN a partir de una cadena molde. Los productos generados son polimórficos cuando se ha producido una pérdida, inserción o cambio de un solo nucleótido en la cadena molde (ADN genómico). Esta técnica usa partidores aleatorios de 10 pares de bases para amplificar el ADN (Valadez-Moctezuma y Kahl, 2000). Los productos de la amplificación son separados mediante electroforesis y las bandas visualizadas, de diferente peso molecular representan diferentes loci. Los productos dependerán del genoma en estudio, del iniciador y de las condiciones de la reacción. Los resultados obtenidos en plantas indican su herencia dominante, su habilidad para detectar regiones de ADN altamente variables (5-10 loci por partidador), su potencialidad en el mapeo de genes, identificación de razas y en el estudio de la variación genética en poblaciones altamente emparentadas (Valadez-Moctezuma y Kahl, 2005).

En frutales la técnica de RAPD ha sido usada ampliamente. Lo anterior con el objetivo en la mayoría de los casos de evaluar diversidad genética. Algunos trabajos se han reportado para *Anacardium occidentale* (Archak *et al.*, 1999), *Ananas comosus* (Sripaoraya *et al.*, 2001), *Anona muricata* (Brown *et al.*, 2003), *Ananas spp.* (Tapia-Campo *et al.*, 2005), *Carica papaya* (Macedo *et al.*, 2002), *Citrullus lanatus* (Levi *et al.*, 2000) y *Mangifera indica* (Hemanth *et al.*, 2001).

En otras especies también existen reportes. Tal es el caso de *Musa spp.* (Crouch *et al.*, 2000; Kahangi *et al.*, 2002; Nadal-Medina *et al.*, 2009), *Passiflora spp.* (Aukar *et al.*, 2002), *Persea americana* (Fiedler *et al.*, 1998), *Psidium guajava* (Padilla-Ramírez *et al.*, 2002) y *Theobroma cacao* (dos Santos Dias *et al.*, 2003).

Algunas de las especies de la familia Sapotaceae han sido motivo de estudio mediante el empleo de los RAPD's. Tal es el trabajo reportado por Heaton *et al.* (1999) quienes pretendieron verificar si existían diferencias por efecto de las condiciones ambientales en cuatro poblaciones de *Manilkara zapota*. Existieron diferencias con respecto al tipo de hábito de origen (pantano vs. bosque) y la localización geográfica (este vs. oeste).

De los 80 iniciadores que se emplearon nueve revelaron diferencias de bandas interpoblacional (28 bandas diferentes). Sin embargo, el dendrograma no mostró separación de individuos. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre las poblaciones del bosque y el pantano. Esa falta de diferenciación genética sugirió una falla en encontrar correlación entre los loci y las características adaptativas.

Fontaine *et al.* (2004) estudiaron la diversidad genética de *Vitellaria paradoxa* en 13 localidades de ocho países (tratando de cubrir la línea natural de Senegal a Uganda). Fueron detectados en 179 individuos 67 y 15 loci polimórficos y monomórficos, respectivamente. El número de bandas por primer varió de una a seis. El dendrograma generado agrupó los individuos pertenecientes a la zona oeste y este. La prueba de Mantel demostró que la distancia genética entre las poblaciones estuvo correlacionada a la distancia geográfica ($R=0.88$, $P=0.0001$). De acuerdo con estos autores aunque las comparaciones no siempre son confiables con los RAPD, la diversidad genética exhibió valores comparables con otras especies distribuidas a través de una amplia zona geográfica.

Meghala *et al.* (2005) a través de la técnica de RAPD evaluaron la diversidad genética en 20 cultivares de *Manilkara zapota*. Con el empleo de 20 primer amplificaron 232 bandas de las cuales 184 fueron polimórficas y 48 monomórficas (79 % de polimorfismo). Los primer OPG-05, OPG-19, OPV-05, OPV-11, OPV-13 y OPX-09 generaron el mayor número de bandas. El dendrograma mostró la formación de dos grupos. El primero estuvo integrado por ‘Cricket ball’, ‘Calcutta round’, ‘Seedless’, ‘Kirtibarti’, ‘Singapore’, ‘Bombay’, ‘Guruvayya’, ‘Pakala oval’ y ‘Badami’. En este grupo ‘Cricket ball’ y ‘Calcutta round’ estuvieron fuertemente correlacionados. El Segundo grupo se formó por ‘Pilipatti’, ‘Mohangooti’, ‘Gavaraiah’, ‘Gutti’, ‘Oval’, ‘Krishna Rao’, ‘Extra large’, ‘Dwarapudi’, ‘Vavilavalasa’, ‘Badam’ y ‘Jhumakiya’. En esta última agrupación hubo dos nodos mayores. En donde el primero contenía todos los cultivares excepto ‘Jhumakiya’. El análisis del dendrograma mostró claramente que no existieron grupos estrechamente correlacionados entre los cultivares evaluados.

En Morelos, México, Andrade *et al.* (2008) estudiaron 15 selecciones de zapote mamey con el objetivo de determinar variabilidad entre las mismas. Sus resultados señalan que los 10 primer seleccionados generaron 165 fragmentos (82% de polimorfismo). En cinco árboles no se obtuvieron fragmentos que permitieran su caracterización. En cambio, el perfil electroforético de ‘C11’ se distinguió por ser diferente al resto del material. La metodología fue de utilidad para caracterizar el 66 % de los árboles estudiados.

Polimorfismo de microsatélite amplificado al azar RAMP-PCR

Esta técnica que fue propuesta por Wu *et al.* (1994) utiliza iniciadores de microsatélites anclados en el extremo 5’ y marcados con P32, además de iniciadores aleatorios. El programa de termociclaje se diseño en este caso para favorecer principalmente la amplificación de los microsatélites. Sin embargo, no se excluía la posibilidad de considerar bandas tipo RAPD.

Posteriormente, la técnica se utilizó también con éxito por Huttel (1997) en el cultivo de garbanzo (cit. por Weissinger *et al.*, 1995) y por Sánchez de la Hoz (1996) en cebada, en ambos casos sin radioactividad. Valadez-Moctezuma *et al.* (2005) modificaron esta técnica. Tal transformación consistió principalmente en que los iniciadores de microsátélites fueran sin ancla y sin marcaje. Los productos obtenidos se separan en geles de agarosa convencionales y teñidos con bromuro de etidio, lo que facilita su utilización en muchos laboratorios. Estos autores evaluaron el potencial de la técnica. Utilizaron el microsátélite GATA combinado con los iniciadores aleatorios G-03 y G-10. La evaluación la realizaron empleando 10 especies de leguminosas. Estos autores señalan que el bandeo obtenido con RAMP proporcionó información nueva sobre las variaciones que pudieran presentar los genomas que se compararon, y con mayor probabilidad que la técnica de RAPD. Aunque no se compara con los perfiles obtenidos con los AFLP. Lo anterior debido a que esta técnica es considerada como la mejor alternativa para detectar mayor cantidad de polimorfismos en cualquier genoma.

Además, los fragmentos amplificados pudieran contener no solo la expresión de aquellos amplificados con cada uno de los iniciadores, sino también los amplicones flanqueados simultáneamente por ambos iniciadores.

A pesar de la importancia económica y social que tiene el zapote mamey y considerando la cantidad de material genético con que se cuenta en el país, poca es la información que se ha generado acerca del uso de los marcadores moleculares como una herramienta útil en la detección de la variabilidad genética.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez-Vargas J E, I Alia-Tejagal, V López-Martínez, C M Acosta-Durán, M Andrade-Rodríguez, M T Colinas-León, I Delgado-Escobar, O Villegas-Torres (2006)** Caracterización de frutos de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) en el estado de Morelos. Revista Chapingo Serie Horticultura 12(2): 217-221.
- Andrade-Rodríguez M, T de J Rodríguez-Rojas, I Alia-Tejagal (2008)** Caracterización morfológica y molecular de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn). In: El Zapote mamey en México: avances de investigación. I Alia-Tejagal, A Villegas-Monter, V López-Martínez, M Andrade-Rodríguez, C M Acosta-Durán, O Villegas-Torres, D Guillen-Sánchez (eds). Universidad Autónoma del estado de Morelos, México. pp: 41-56.
- Archak S, A B Gaikmad, D Gautam, E V Rao, K R Swamy, J L Karihaloo (2003)** Comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR and AFLP) for genetic analysis of cashew (*Anacardium occidentale* L.) accessions of India. Genome 46(3):362-369.
- Aukar A P, E G Lemos, J C Oliveira (2002)** Genetic variations among passion fruit species using RAPD markers. Revista Brasileira de Fruticultura 24(3):738-740.
- Balerdi F C, J H Crane (2009)** El mamey sapote en Florida. Departamento de Ciencias Hortícolas, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida, Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas, Universidad de Florida. 10 p.
- Bayuelo-Jiménez J S, I Ochoa (2006)** Caracterización morfológica de sapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq) H. E. Moore & Stearn) del centro occidente de Michoacán, México. Revista Fitotecnia Mexicana 29: 9-17.
- Becerra V V, M Paredes C (2000)** Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. Agricultura técnica 60 (3): 270-281.

- Bellon R M, A F Barrientos-Priego, P Colunga-GarcíaMarín, H Perales, J A Reyes A, R Rosales S, D ZizumboV (2009)** Diversidad y conservación de recursos genéticos en plantas cultivadas. *In: Capital natural de México, vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio.* Conabio, México. pp: 355-382.
- Brown J, H Laurentín, M Dávila (2003)** Genetic relationship between *Annona muricata* L. Accessions using RAPD markers. *Fruits* 58(5):255-259.
- Crouch H K, J H Crouch, S Madsen, D R Vuylsteke, R Ortiz (2000)** Comparative analysis of phenotypic and genotypic diversity among plantain landrace (*Musa* spp., AAB group). *Theoretical and Applied genetics* 101(7):1056-1065.
- Dos Santos Dias L A, J Marita, C D Cruz, E Goncalves de B, T M Fernandes (2003)** Genetic distance and its association with heterosis in cacao. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46(3):339-348.
- FAO (2011)** Biodiversidad para un mundo sin hambre. Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura. <http://www.fao.org/nr/cgrfa/cgrfa-home/es/> [en línea. Consultado el 05 de Junio 2011]
- Fiedler J, G Bufler, F Bangerth (1998)** Genetic relationships of avocado (*Persea Americana* Mill.) using RAPD markers. *Euphytica* 101:249.255.
- Fontaine C, P N Lovett, H Sanou, J Maley, J M Bouvet (2004)** Genetic diversity of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C. F. Gaertn), detected by RAPD and chloroplast microsatellite markers. *Heredity* 93:639-648.
- Franco T L, R Hidalgo (2003)** Análisis Estadístico de Datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Hidalgo R. (ed.). Boletín técnico, número 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.

- Gaona-García A, I Alía-Tejacal, V López-Martínez, M Andrade-Rodríguez, M T Colinas-León, O Villegas-Torres (2008)** Caracterización de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*) en el suroeste del estado de Morelos. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14:41-47.
- Gazel-Filho B A (2002)** Caracterización de plantas de chicozapote (*Manilkara zapota* (L.) P. van Royen) de la colección del CATIE, mediante el uso del análisis multivariado. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24(3):727-730.
- Heaton H J, R Whitkus, A Gómez-Pompa (1999)** Extreme ecological and phenotypic differences in the tropical tree chicozapote (*Manilkara Zapota* (L.) P. Royen) are not matched by genetic divergence: a random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Molecular Ecology* 8:627-632.
- Hemanth K N V, P D Narayanaswamy, P Theertha, G K Mukunda, S N Sondur (2001)** Estimation of genetic diversity of commercial mango (*Mangifera indica* L.) cultivars using RAPD markers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 76(5):529-533.
- Hillis D M, C Moritz (1990)** Molecular systematic: context and controversies. *In: Molecular systematic*. D M Hillis, C Moritz. (eds.). Sinauer, Sunderland, E. U. 481: 1-11.
- http://www.oleaginosas.org/art_198.shtml. [En línea]. (Consultado 26 de Abril 2010).
- Huttel B, P Winter, G Kahl (1997)** Generation on Simple Repetitive Sequence-mediated DNA markers for the analysis of chickpea populations. pp: 127-142. *In: DNA markers and Breeding for resistance to Ascochyta Blight in Chickpea*. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Aleppo, Syria.
- Kahangi E M, Lawton M A, Kumar C A (2002)** RAPD profiling of some banana varieties selected by small-scale farmers in Kenya. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 77(4):393-398.

- León J (2000)** Característica de las plantas cultivadas. *In*: Botánica de los cultivos tropicales. Segunda edición. Costa Rica. pp: 1-6.
- Levi A, C E Thomas, A P Keinath, T Wehner (2001)** Genetic diversity among watermelon (*Citrullus lanatus* and *Citrullus colocynthis*) accessions. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48:559-566.
- Macedo L E G, C L S P Soares, H Actis Z (2002)** Identification of sex in *Carica papaya* L. Using RAPD markers. *Euphytica* 127(2):179-184.
- Márquez J M (1992)** Caracterización sistemática, parámetros genéticos e índices de selección, de la colección de jícama (*Pachyrizus erosus* L. Urba) del CATIE. Tesis Magister Scientiae-CATIE, Turrialba. 142 p.
- Meghala R, Ravishankar K V, Lalitha A, Rekha A (2005)** Genetic diversity of Indian sapota (*Manilkara zapota*) cultivars characterized by RAPD markers. *PGR-Newsletter* 142:43-46.
- Nadal-Medina R, G Manzo-Sánchez, J Orozco-Romero, M Orozco-Santos, S Guzmán-González (2009)** Diversidad genética de bananos y platanos (*Musa spp.*) determinada mediante marcadores RAPD. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32:1-7.
- Nascimento V E, A B Geraldo M, R H Hojo (2008)** Caracterização física e química de frutos de mamey. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(4):953-957.
- Padilla-Ramírez, J. S., E. González G., F. Esquivel V., E. Mercado S., S. Hernández D., N. Mayek P (2002)** Caracterización de germoplasma sobresaliente de guayabo de la región Calvillo-Cañones, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 25(4):393-399.
- Patterson C, D Williams M, C Humphres J (1993)** Congruence between molecular and morphological phylogenies. *Annual Review Systematic* 24: 153-188.

- Sánchez de la Hoz, M P, A Dávila J, Y Loarce, E Ferrer (1996)** Simple sequence repeat primers used in polymerase chain reaction amplifications to study genetic Diversity in barley. *Genome* 39:112-117.
- Solís-Fuentes J A, M del C Durán-de-Bazúa (2005)** Recovery fats and oils from agro-industrial wastes and by products for use in industrial applications. *Journal of Applied Sciences* 5(6):983-987.
- Sripaoraya S, N Blackhall, R Marchant, J Power, K Lowe, M. Davey (2001)** Relationships in pineapple by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Plant Breeding* 120(3):265-267.
- Tapia-Campos E, H Guillén-Andrade, M A Gutiérrez-Espinosa (2005)** Caracterización genética de materiales de piña (*Ananas spp.*) mediante RAPD e ISSR. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28(3):187-194.
- Tapia-Delgado A (2008)** El Zapote mamey en México: avances de investigación. Universidad Autónoma del estado de Morelos, México. 183 p. *In: El Zapote mamey en México: avances de investigación.* I Alia-Tejacal, A Villegas-Monter, V López-Martínez, M Andrade-Rodríguez, C M Acosta-Durán, O G Villegas-Torres, D Guillen-Sánchez (eds). Universidad Autónoma del estado de Morelos, México. 183 p.
- Valadez-Moctezuma E, G Kahl (2005)** Huellas de ADN en Genomas de Plantas (Teoría y protocolos de laboratorio). Editorial. Mundi-Prensa. México, D. F. 147 p.
- Valadez-Moctezuma E, G Kahl, A Rubluo I, R Arreguín de los M (2005)** Optimización de las huellas de ADN obtenidas con RAPDS y MP-PCR mediante la técnica con RAMPNR. *Revista Chapingo* 11(2):351-356.

Weissinger A K, H Nybom, K Wolff, W Meyer (1995) DNA fingerprinting in plants and fungi. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 322 p.

Wilson A C, S Carlson S, J White T (1977) Biochemical evolution. Annual Review Biochemical 46: 473-639.

Wu K, R Jones, L Danneberger, A Scolnik P (1994) Detection of microsatellite polymorphisms without cloning. Nucleic Acids Research. 22:3257-3258.

**VARIABILIDAD MORFOLÓGICA EN FRUTOS DE ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota*
(Jacq.) H. E. MOORE & STEARN) Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS EN LA SEMILLA**

**MORPHOLOGICAL VARIABILITY IN FRUIT OF SAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* (Jacq.)
H. E. MOORE & STEARN) AND FATTY ACID PROFILE IN THE SEED**

Martha Elva Ibarra Estrada^{1*}, Angel Villegas Monter¹, Tarsicio Corona Torres², Guillermo Carrillo
Castañeda², Catarino Ávila Reséndiz³ y Reyna Isabel Rojas Martínez⁴

¹Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura, Colegio de Postgraduados. Km 36.5
Carretera México-Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tel 01 (595) 95 2 02 00

²Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Colegio de Postgraduados. Km 36.5
Carretera México-Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tel 01 (595) 95 2 02

00. ³Colegio de Postgraduados. Km 88.5. Predio Tepetates. Carr. Federal Veracruz-Jalapa. C.P. 91700.

Veracruz. Tel. 01 (229) 20 1 07 70. ⁴Postgrado en Fitosanidad-Fitopatología, Colegio de

Postgraduados. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Texcoco, Edo. de
México. Tel 01 (595) 95 2 02 00

*Autor para correspondencia:marthaibarra2@hotmail.com

RESUMEN

En este trabajo fueron caracterizadas 15 selecciones de zapote mamey. Trece provenientes de Alpoyecá, Guerrero, una de Veracruz y una de Yucatán. Fueron evaluadas 13 variables morfológicas de fruto y semilla y el perfil de ácidos grasos. Se empleó el análisis de componentes principales (ACP), conglomerados jerárquicos y el análisis discriminante (AD). En ACP cuatro componentes explicaron 76 % de la variación total. Las variables del primer componente fueron longitud de semilla e hilio, peso de fruto y semilla. En el segundo intervinieron número de fibras, ancho de semilla y grosor de epicarpio. En el tercero se involucraron ancho de fruto y los ácidos grasos linoleico y palmítico. El cuarto se compuso de los ácidos grasos esteárico y oleico. Con el dendrograma se formaron 8 grupos. El grupo I mostró el más alto contenido en el ácido oleico (57.50 %). El grupo III mostró los frutos menos pesados (370.61 g) y menor cantidad de fibra (34.47). El IV conjunto exhibió baja cantidad del ácido linoleico (7.93 %). El quinto grupo expuso frutos de 668.31 g. Además, sus semillas contaron con el más alto y menor porcentaje de los ácidos esteárico (33.70 %) y oleico (47.90 %), respectivamente. El sexto grupo presentó las semillas de mayor tamaño y los frutos más pesados (10.54 cm y 734.79 g). El grupo VII exhibió gran cantidad de fibras (47.71), mayor grosor de epicarpio (0.30 cm) y ancho de fruto (5.78 cm). El grupo ocho tuvo las semillas de mayor peso, ancho y longitud (71.60 g, 3.86 cm y 10.40 cm). Así mismo registró el mayor y menor contenido en los ácidos grasos linoleico (15.83 %) y esteárico (23.42 %), respectivamente.

Palabras clave: *Pouteria sapota*, caracterización, frutos, aceites, semillas.

SUMMARY

15 selections of mamey sapote from Cañada de Huamuxtitlan, one from Guerrero and one from Conkal, Yucatan were characterized in this research. Thirteen morphological variables were evaluated in the fruit and seed, and fatty acid profile. To do this, the main component analysis (MCA) was used, as well as those of hierarchical conglomerates, and discriminating analysis (DA). With MCA, four components explained 76% of the variation. The first one was made up of seed and hilum length, and fruit and seed weight. The second included number of fibers, seed width and thickness of the epicarp. The third one included fruit width and linoleic and palmitic fatty acids. Finally, the fourth one included stearic and oleic acids. The dendrogram formed 8 groups. Groups I showed a high content of oleic (57.50%). Group III showed lighter fruits (370.61 g) and a lower amount of fiber (34.47). The group IV exhibited the lowest quantity of the acid linoleic (7.93 %). The fifth group had fruits weighing 668.1 g. In addition, his seeds possessed the highest and lower percentage of the acids estearic (33.70 %) and oleic (47.90 %), respectively. The sixth group showed largest seeds and the heaviest fruits (10.54 cm and 734.79 g). Group VII shows a high amount of fibers (47.71), greater thickness of the epicarp (0.30 cm) and thinner fruits (5.78 cm). Group eight had the heaviest, widest, and longest seeds (71.60 g, 3.86 cm, and 10.40 cm), and the lowest percentage of stearic acid (23.42%).

Index words: *Pouteria sapota*, characterization, fruits, oils, seeds.

INTRODUCCIÓN

El zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn) es una especie que se ha propagado por semilla, lo cual ha ocasionado variabilidad genética. Esta situación la han aprovechado productores de diversas regiones. Lo anterior con el objetivo de realizar selección en árboles cuyos frutos presenten características favorables (color de pulpa, buen sabor, tamaño adecuado, con una sola semilla, época temprana de maduración). Dicha actividad se ha llevado a cabo en algunos países de Centroamérica y en México. En este último destacan Akil, Nolo y Human, Yucatán; en Alpoyecá, Tlaquiltepec, Huamuxtitlán, Cuetzala del Progreso, Guerrero; Hulea y Xicotepéc de Juárez, Puebla; Tuxtla Chico, Tapachula, Huehuetán, Tuzantan, Chiapas; así como en diversas localidades de Tabasco, San Luís Potosí, Campeche, Quintana Roo y Michoacán (Villegas y Granados, 2010).

En Brasil, Nascimento *et al.* (2008) estudiaron seis características morfológicas y cuatro bioquímicas en frutos de 13 selecciones provenientes de semilla traídas de Florida, E.U. Con el análisis de agrupamiento se integraron tres conjuntos. El primero se formó por 'P3', la cual fue diferente al resto del material evaluado. Los autores concluyeron que 'P3', 'P7' y 'P9' presentaron las mejores características de fruto para procesamiento industrial.

En México, Bayuelos-Jiménez y Ochoa (2006) caracterizaron 44 selecciones provenientes de tres municipios de la región subtropical del Centro-Occidente de Michoacán. Fueron evaluadas variables morfológicas de frutos. La información fue examinada mediante el empleo del análisis de conglomerados y discriminante canónico. Fueron identificados seis grupos, donde las variables peso, longitud y diámetro del fruto, espesor y peso del mesocarpio, relación longitud de fruto/diámetro del fruto, forma, aroma y textura, resultaron las más importantes. Concluyen que la variabilidad observada podría servir como criterio para elegir selecciones con mayor calidad de fruto y aceptación por el consumidor.

Gaona-García *et al.* (2008) evaluaron la diversidad genética en 19 árboles de la región suroeste de Morelos. Empleando análisis multivariado como ACP y conglomerado encontraron que los tres primeros componentes explicaron 70 % de la variabilidad total encontrada. El primero se definió por las dimensiones, peso del fruto y sus estructuras. En el segundo la masa de la semilla y número de semillas estuvieron correlacionados negativamente. El tercero se definió por el índice longitud de fruto/diámetro de fruto y la cantidad de sólidos solubles totales. En el dendrograma se observó la formación de siete agrupaciones. Los grupos I, II y IV destacaron por la presencia de frutos de tamaño pequeño (300 y 500 g) y mediano (501 y 700 g). Estos autores sugieren que existen materiales promisorios para diferentes mercados (fresco y procesado).

Otro aspecto importante sobre el mamey es el perfil de ácidos grasos. Solís-Fuentes y Durán-de-Bazúa (2003) evaluaron dicho perfil en las semillas de *Pouteria sapota*. Sus resultados indicaron que contienen en promedio 40 % de ácidos grasos saturados (esteárico, palmítico y cantidades menores de araquídico y behénico), poco más del 50% de monoinsaturados (oleico y palmitoleico) y alrededor del 8% de poliinsaturados (linoleico). En 2005, los mismos autores realizaron el estudio en la pulpa del fruto. Sus conclusiones señalan que esta especie es de gran interés para la industria alimenticia. Esto debido a que contiene 11.30% de proteína, 25.70% de fibra y 44.40% de lípidos. Por cada 100 g de aceite corresponden 8.71, 34.41, 47.06 y 5.12 g de los ácidos palmítico, esteárico, oleico y linoleico, respectivamente.

En México existe una amplia diversidad genética, y pocas son las investigaciones realizadas al respecto. La mayoría se han orientado en aspectos de producción (Pohlan *et al.*, 2000) y postcosecha (Hernández-Molina *et al.*, 2008; Martínez-Morales *et al.*, 2008; Alia-Tejacal *et al.*, 2007). Por el alto potencial que presenta esta especie es necesario realizar estudios sobre la diversidad genética la cual es crucial para el mejoramiento, conservación y uso de la especie.

Con esto, se evitará que algunos materiales con valor potencial puedan desaparecer. Además de que la industria se beneficiará con el aprovechamiento de los subproductos de los frutos a los cuales se les puede dar un alto valor agregado.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar 15 selecciones de zapote mamey con base en características morfológicas de fruto y perfil de ácidos grasos de semilla, así como diferenciar grupos de variación mediante técnicas del análisis multivariado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Fueron evaluados los frutos provenientes de 15 selecciones de zapote mamey. Catorce de estas selecciones fueron propagadas por semilla y sólo una fue obtenida por medio de injerto (Magaña 1). En referencia al lugar de origen, 13 proceden de la Cañada de Huamuxtlán, Guerrero ('El Pequeño', 'Alfonso 10', 'Alfonso 15', 'Alfonso 26', 'Pardo 1', 'El Rajón', 'Nidito de Amor', 'Cid 19', 'Cid 23', 'El Mexicano', 'Piedra', 'El Risueño', 'El Regalo'), una de Manlio Favio Altamirano, Veracruz ('Veracruz') y otra de Conkal, Yucatán ('Magaña 1').

La cosecha de los frutos fue realizada considerando el índice de corte utilizado por los productores de Guerrero. Ellos consideran que cuando el color de la pulpa está entre anaranjado y rojizo (después de hacer una incisión en el epicarpio) los frutos están listos para ser colectados.

Para su transporte hasta el laboratorio ubicado en Texcoco, Edo. de México, los frutos se envolvieron individualmente en papel periódico y se depositaron en cajas de madera. Para el estudio se tomaron 30 frutos de cada una de las selecciones.

Variables morfológicas de fruto y semilla

Con base en los descriptores propuestos por Azurdía *et al.* (1997), Bayuelos-Jiménez y Ochoa (2006), los caracteres aquí evaluados fueron: peso de fruto (g), longitud y ancho de fruto (cm), peso de pulpa, de epicarpio y de semilla (g), grosor de epicarpio (cm), longitud y ancho de semilla (cm), ancho de la parte interna de la semilla (cm), longitud de micrópilo a ápice (cm), longitud del hilio (cm), y número de fibras. Esta última variable fue evaluada después de haber extraído cuidadosamente la pulpa del fruto y se contabilizó el número total de ellas.

Perfil de ácidos grasos

Las semillas de los frutos de cada una de las selecciones fueron deshidratadas en un horno con aire forzado (Lab line modelo imperial V) a 70 °C hasta peso constante. Posteriormente fueron molidas hasta obtener un polvo fino. A 1 g de cada muestra se le agregó 2 mL de acetona en un tubo Corex. Los tubos fueron colocados en una centrífuga clínica Damon® (IEC Division, modelo HN-5) y centrifugados a 3,500 rpm durante 2 min. La concentración de ácidos grasos de cadena larga se determinó por cromatografía de gases. Para esto se utilizó un cromatógrafo HP® (Modelo 3890) provisto con una columna capilar Inowatx® de 30 m de longitud, con espesor de película de 0.25 µm y diámetro interno de 320 µm. Como gas acarreador se utilizó nitrógeno a una presión constante de 0.845 kg cm⁻². Las condiciones de temperatura fueron: inyector 240 °C, detector 250 °C y horno con una rampa de 50 °C por 1 min; 25 °C por min hasta alcanzar 200 °C, y 3 °C por minuto hasta alcanzar 230 °C. El tiempo total por cada corrida fue de 17 min. Para obtener la muestra a inyectar, se pesó 0.1 g del aceite extraído previamente, se agregó 5 mL de hexano y se agitó en un vórtex por 5 min.

De la mezcla se tomó 900 µL y se le agregó 100 µL de metóxido de sodio. Luego se agitó y centrifugó por 8 min a 3000 rpm. Del sobrenadante se tomó 1 µL para inyectarlo al cromatógrafo.

Para comparar las concentraciones de los ácidos grasos se utilizó un estándar de ésteres metílicos de aceite de soya (AOAC, 1975). Se hicieron tres repeticiones por muestra.

Análisis estadístico

Para el análisis de la información se empleó el análisis multivariado. Fueron utilizadas técnicas como el análisis de componentes principales (ACP), con la matriz de correlación entre caracteres estandarizados. Para esto se usó el procedimiento PRINCOMP del paquete estadístico SAS V. 8 (SAS Institute, 1999).

Posteriormente se realizó análisis de conglomerados jerárquicos mediante UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) con lo que se determinó la agrupación de los materiales, considerando a la distancia euclidiana como medida de similitud (Hair *et al.*, 1995). Para verificar dicho agrupamiento se empleó el análisis discriminante (AD) con el procedimiento CANDISC de SAS V. 8 (SAS Institute, 1999). Así mismo se utilizó la prueba de distancia de Mahalanobis mediante la opción DISTANCE del procedimiento CANDISC de SAS V. 8 para comparar las diferencias entre grupos identificados en el AD.

RESULTADOS

Morfología de frutos y semillas

Los cuatro primeros componentes principales describieron la mayor variación de los datos así como los valores de la proporción absoluta y acumulada. Las variables que integran estos componentes explicaron 76 % de la variación total de las colectas evaluadas. Para lo cual, el 38.62 %, 16.32 %, 13.11 % y 8.37 % correspondió al primero, segundo, tercero y cuarto componente, respectivamente.

Las variables que más contribuyeron a la explicación de la variabilidad en el primer componente fueron longitud de semilla e hilio, los pesos de fruto y semilla. En el segundo intervinieron número de fibras, ancho de semilla y grosor de epicarpio. En el tercero, ancho de fruto y los ácidos grasos linoleico y palmítico. En el cuarto se involucraron los ácidos grasos esteárico y oleico.

La dispersión de las colectas se muestra en el diagrama bidimensional formado por los componentes prin1 y prin2 (Figura 1). En prin1 las colectas ‘Cid 19’, ‘El Regalo’ y ‘El Rajón’ presentan los frutos y semillas más pesados, así como la mayor longitud de hilio y de semilla. Además se observa que los frutos de ‘El Rajón’ muestran los más altos contenidos de fibra. Situación contraria manifiestan los frutos de ‘El Regalo’ y ‘Cid 19’ los cuales se encuentran entre los que presentan menor cantidad de fibra. Mientras que ‘El Pequeño’ y ‘El Mexicano’ (cuadrante III) exhibieron valores bajos respecto a las variables del componente prin1. En el prin2 destacan ‘Nidito de Amor’ y ‘Cid 23’ (cuadrante I). Las dos selecciones se caracterizan por tener mayor grosor de epicarpio con respecto a todas las colectas. ‘Alfonso 26’ y ‘Alfonso 10’ al igual que ‘El Rajón’ presentan el mayor contenido de fibra.

En la Figura 2 se muestran los componentes 1 y 3. Los ácidos grasos palmítico y linoleico están inversamente correlacionados con el ancho de fruto. Esta situación se refleja claramente en ‘Magaña 1’, la cual se caracteriza por tener los frutos más anchos y el menor porcentaje de linoleico. Comportamiento contrario manifiesta ‘Nidito de Amor’, que presenta los frutos más angostos y alto contenido de los ácidos grasos linoleico y palmítico. ‘El Regalo’ exhibió el mayor contenido de los ácidos grasos linoleico y palmítico, mientras que el ancho de sus frutos se encuentra en los valores medios. Por otra parte, ‘Alfonso 26’ en linoleico y palmítico presentó los porcentajes más bajos con respecto al resto de las colectas. En el caso de ‘El Mexicano’ y ‘El Pequeño’ estas colectas exhibieron valores cercanos a la media general.

El dendrograma se formó considerando solo aquellas variables que dieron una mayor explicación de la variabilidad (Figura 3). A una distancia de 0.70 se integraron ocho grupos. El grupo I se distinguió por el alto contenido en el ácido graso oleico (57.50 %). Además, presentó en promedio frutos de 8.56 cm de ancho (Cuadro 1). El grupo II debido al valor que presenta en el contenido del ácido linoleico (11.85%) se ubica dentro de los tres grupos (después del VII y VIII) con la mayor cantidad registrada (Cuadro 1).

El grupo III posee los frutos de menor peso (370.61 g). De igual manera, en todas las características de las semillas, este grupo se encuentra dentro de las agrupaciones con los valores más bajos. Otra cualidad es que su pulpa es la que contiene menos fibra (34.47). La característica específica del cuarto grupo es la cantidad por gramo de materia seca del ácido graso linoleico que presenta. Su valor es el más bajo (7.93 %). Lo anterior equivale a la mitad del valor superior (15.83 %) registrado en el 'El Regalo'. El grupo V se caracteriza por contar con frutos de 668.31 g. Además presenta el porcentaje más alto y bajo en el ácido graso esteárico (33.70 %) y oleico (47.90 %), respectivamente. El grupo VI muestra las semillas de mayor tamaño y los frutos (al igual que el grupo V) más pesados (10.54 cm y 734.79 g). En referencia a los ácidos grasos, se ubica como el cuarto en tener el mayor contenido de oleico (54.75 %).

El grupo VII se diferencia del resto de las colectas debido a la gran cantidad de fibras presentes en la pulpa (47.71). Así mismo muestra el mayor grosor de epicarpio (0.30 cm). Otra característica adicional es que sus frutos son los menos anchos (5.78 cm). El grupo VIII se distingue por poseer las semillas de mayor peso (71.60 g) y las más anchas (3.86 cm). En cuanto al contenido del ácido graso linoleico su porcentaje es superior al resto de las colectas (15.83 %). En cambio, en el ácido graso esteárico el porcentaje registrado es el más bajo (23.42 %).

En el Cuadro 2 Se señala la distancia cuadrada generalizada entre los grupos formados. Los grupos III y IV son los que están genéticamente más relacionados. Mientras que los grupos más distantes son el III y el VIII. Lo anterior considerando las características arriba mencionadas.

DISCUSIÓN

En el presente estudio, los cuatro primeros componentes principales explicaron el 76 % de la variación total. Gaona-García *et al.* (2008) y Álvarez-Vargas *et al.* (2006) trabajaron con zapote mamey y caimito (familia Sapotaceae), respectivamente. Reportan que los tres primeros componentes principales explicaron 70 % y 85.50 % de la variación, respectivamente. Al igual que en la presente investigación, en ambos casos las características morfológicas del fruto fueron más determinantes que las bioquímicas para comprobar la diversidad existente.

En este estudio existió variabilidad entre los grupos formados en el dendrograma. En lo correspondiente al peso del fruto, los del grupo III fueron los de menor valor (370.61 g). Este resultado es superior a lo reportado en Michoacán, México por Bayuelos-Jiménez y Ochoa (2006) (200.90 g). Asimismo se asemeja a lo señalado en el Salvador por Cruz (2002) quien menciona a ‘Rivera’ con 384 g y en Brasil por Nascimento *et al.* (2008) en ‘P4’ con 393.70 g. El valor señalado para el grupo IV (496.03 g) es similar a lo citado por Gaona-García (2008) (426.1 g); por Bayuelos-Jiménez y Ochoa (2006) (458.3 g) y por Nascimento *et al.* (2008) (454.38 g).

En promedio los frutos evaluados pesaron 555.15 g. Resultados similares reportaron Campbell (1992) en ‘Dany’ y Cruz (2002) en ‘Zapote Valiente’. Espinosa-Zaragoza *et al.* (2005) señalan que aunque éste es un tamaño característico, comercialmente puede favorecerse su consumo si los frutos son de menor peso. Con esto se establecería una situación análoga a lo que ocurre con frutas como la manzana o banana que su peso facilita su consumo por persona.

Por otro lado, el hecho de que determinadas colectas exhiban frutos de tamaño mayor (grupos V, VI y VIII) no significa que esta sea una característica indeseable. Este atributo puede emplearse para otros fines como lo es la obtención de pulpa para la elaboración de productos como aguas frescas, helados y repostería.

Cruz (1992) reportó en El Salvador un material denominado ‘Magaña’ el cual mostró en promedio frutos de 1,262 g. En este trabajo también se evaluó una colecta llamada ‘Magaña 1’ (grupo II). Este grupo sin embargo, exhibió frutos de sólo 512.82 g. Como se observó aunque ambos materiales se asemejan en el nombre difieren en sus características.

Carrara *et al.* (2002) agruparon materiales de zapote mamey en tres categorías: pequeño (300 a 500 g), mediano (501 a 700 g) y grande (> 701 g). En el presente estudio, considerando lo anterior, los frutos ubicados en los grupos III y IV se catalogan como de tamaño pequeño. Los frutos de las agrupaciones I, II, V, VII y VIII son considerados de tamaño mediano. Mientras que ‘El Rajón’ (grupo seis) es el único catalogado como de tamaño grande.

Por primera vez se documentó lo relacionado a la cantidad de fibra presente en la pulpa. Este aspecto se considera importante cuando el aprovechamiento del fruto es para su consumo en fresco. Para este caso, las colectas del grupo III cuentan con baja cantidad de fibra (además de otras características deseables ya mencionadas). Estas cualidades hacen a estos materiales atractivos para el consumidor.

Un aspecto poco considerado en el estudio de los frutos de zapote mamey son las características del epicarpio. En el presente trabajo el grosor de la cáscara varió de 0.30 cm a 0.19 cm para los grupos VII y VI, respectivamente. Valores aproximados reportaron Gaona-García *et al.* (2008) (0.10 a 0.28 cm) y Bayuelos-Jiménez y Ochoa (2006) (0.17 a 0.23 cm). De acuerdo a lo mencionado por Gaona-García *et al.* (2008) estas diferencias provocan variaciones en el comportamiento postcosecha, aspecto que se debe considerar para la tecnología de empaque.

Con respecto a la obtención de plantas, se ha observado que su tamaño está directamente relacionado con el peso inicial de la semilla (Villegas-Monter y Mora-Aguilera, 2008). Estos autores recomiendan utilizar aquellas que excedan los 40 g para el establecimiento de semilleros. De esta forma se tienen plantas de mayor tamaño para ser injertadas en menor tiempo.

Ricker *et al.* (2000) evaluaron el efecto del peso de la semilla (14.80 a 60.20 g) y lo encontraron como determinante para la altura inicial de la planta y en el crecimiento posterior de la misma. Mencionan además que el efecto del tamaño se mantiene por dos años. Esta situación resulta importante al momento de establecer las plantas ya injertadas en el terreno definitivo. En este trabajo, la variación en el peso y longitud de las semillas es notable. Para el primer caso el rango es de 33.68 g (grupo III) a 71.59 g (grupo VIII). En el segundo caso, es de 7.60 cm (grupo III) a 10.54 cm (grupo VI). Con base en lo indicado Villegas-Monter y Mora-Aguilera (2008), cinco de los ocho grupos formados tienen semillas de peso adecuado para ser empleadas en semilleros y procurar con esto obtener plantas de mayor tamaño.

Fueron detectados cuatro ácidos grasos en la semilla del fruto. Estos son clasificados como saturados (palmítico y esteárico) e insaturados (oleico y linoleico) (Gurr, 2009). En un trabajo realizado por Solís-Fuentes y Duran-de-Bazua, (2005) fueron reportados estos mismos ácidos. La cantidad fue de 47.06%, 34.41%, 8.71%, y 5.12 %, para el oleico, esteárico, palmítico y linoleico, respectivamente.

Para nuestro caso, los dos primeros mostraron las proporciones más altas (53.40% y 27.39% respectivamente). Mientras que los dos restantes (palmítico y linoleico) revelaron 8.12% y 11.11%, respectivamente. Situación que no difiere en gran medida con los resultados arriba mencionados.

Maia *et al.* (2003) analizaron el aceite de la pulpa de *Chrysophyllum caimito*. Encontraron que el ácido palmítico fue el más abundante. Estos resultados difieren del presente estudio, ya que este ácido fue el que se registró en menor proporción (8.12%). Además de que no fue significativo para distinguir grupos de variación.

Se marcaron diferencias en las concentraciones de los ácidos grasos entre los grupos formados. El ácido oleico es el que predominó (>50 %). De acuerdo a lo mencionado por Sakurai y Pokorny (2003) los aceites de cocina generalmente contienen gran proporción de éste ácido (el cual es más estable a altas temperaturas). De esta manera el grupo I es el que presentó la mayor cantidad de ácido oleico por lo que podría ser empleado para este fin. El grupo VIII exhibió la mayor concentración en el ácido graso linoleico. Éste ácido es considerado como esencial para el cuerpo humano, por lo que su ingesta a través de los alimentos es necesaria (Lehninger, 1995). Por lo anterior, las semillas de ‘El Regalo’ se podrían proponer como un buen candidato para extraerles dicho ácido. Además se podría utilizar como aderezo para ensaladas, el cual se compone principalmente de este ácido y del α -linolénico. Por otra parte, las margarinas contienen altas cantidades de ácido esteárico (Sakurai y Pokorny, 2003). En esta última situación el grupo V podría ser aprovechado para tal fin.

CONCLUSIONES

Existió variabilidad significativa en los materiales evaluados. Incluso, entre los pertenecientes a la misma región.

Las variables que más contribuyeron a explicar tal variabilidad fueron las características morfológicas como: longitud de semilla e hilio, peso de fruto y semilla.

Las selecciones ‘Cid 19’, ‘El Regalo’ y ‘El Rajón’ son las que presentaron los valores superiores en las características longitud de semilla e hilio, peso de fruto y semilla. Comportamiento contrario manifestaron ‘El Pequeño’ y ‘El Mexicano’.

En los ácidos grasos el palmítico y linoleico estuvieron inversamente correlacionados con el ancho de fruto. Esta situación se observó particularmente en ‘Nidito de Amor’.

Considerando la afinidad en sus características se definieron ocho grupos. En el caso de ‘Nidito de Amor’, ‘Cid 19’, ‘El Rajón’ y ‘El Regalo’ no formaron agrupación con ninguna otra colecta.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la beca proporcionada para realizar estudios de doctorado. A la Fundación Produce Guerrero, A. C. y al SINAREFI por el apoyo económico para la realización del presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Alia-Tejacal I, S Bautista-Baños, R Villanueva-Arce, C PelayoZaldívar, M T Colinas-León, V López-Martínez (2007)** Postharvest physiology and technology of sapote mamey fruit (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn. Postharvest Biology Technology 45: 285-297.
- Álvarez-Vargas J E, Alia T I, López M V, Acosta D C M, Andrade R M, Colinas L M T, Delgado E I, O. Villegas T O (2006)** Caracterización de frutos de caimito (*Chrysophyllum cainito* L.) en el estado de Morelos. Revista Chapingo Serie Horticultura 12(2): 217-221.
- Association of Official Analytical Chemists (1975)** Method 28 AO1. Journal of the Association of Official Analytical Chemists 58(2):396-397.
- Azurdia C, E Martínez , H Ayala (1997)** Recursos genéticos de injerto *Pouteria viridis* en el altiplano central de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Ciencia y Tecnología. pp:69-80.

- Bayuelos-Jiménez J S, I Ochoa (2006)** Caracterización morfológica de sapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq) H. E. Moore & Stearn) del centro occidente de Michoacán, México. Revista Fitotecnia Mexicana 29:9-17.
- Campbell J R (1992)** ‘Danny’ a new mamey sapote cultivar. Proceedings of Interamerican Society for Tropical Horticulture 36:36-39.
- Carrara S, N Ledesma, J Wasieleski, R J Campbell (2002)** Morphological diversity of mamey zapote at Fairchild Tropical Garden, Florida, USA. Proceeding of Interamerican Tropical Horticulture 46:32-34.
- Cruz P E (2002)** Caracterización de variedades de zapote. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. Boletín técnico No. 6, El Salvador.
- Espinosa-Zaragoza S, C Saucedo V, A Villegas M, M E Ibarra E (2005)** Caracterización de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq) H. E. Moore & Stearn) en Guerrero, México. Proceedings of Interamerican Society for Tropical Horticulture. 48:135-138.
- Gaona-García A, I Alía-Tejacal, V López-Martínez, M Andrade-Rodríguez, M T Colinas-León, O Villegas-Torres (2008)** Caracterización de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*) en el suroeste del estado de Morelos. Revista Chapingo Serie Horticultura 14:41-47.
- Gurr M I (2009)** Lipid in nutrition and health: A reappraisal. Maypole Scientific Services. P J Barnes and Associates. Isles of Scillys, United Kingdom. 221 p.
- Hair J F, R E Anderson, R L Tatham, W C Black (1995)** Multivariate data analysis with Readings. Fourth Edition. Prentice Hall. USA. 745 p.

- Hernández-Molina M, A Martínez-Morales, I Alia-Tejacal, L U Hernández-Hernández, R Osorio-Osorio, M T Colinas-León, V López-Martínez, S Bautista-Baños, S Valle-Guadarrama (2008)** Estrés por impacto en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*) durante el manejo postcosecha. Revista Fitotecnia Mexicana 31(3):61-66.
- Lehninger A L (1995)** Bioquímica. Ed. Omega. Barcelona, España. 1117 p.
- Maia J G S, E H A Andrade, M G B Zoghbi (2003)** Volatiles from fruits of *Pouteria pariry* (Ducke) Baehni and *P. caimito* (Ruiz and Pavon). Journal of Essential Oil Bearing Plant 6:127-129.
- Martínez-Morales A, I Alia-Tejacal, S Valle-Guadarrama, M T Colinas-León, V López-Martínez, S Bautista-Baños, M Andrade-Rodríguez, O G Villegas-Torres, D Guillén-Sánchez (2008)** Comportamiento de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*) en atmósferas con bajo O₂ y moderado CO₂. Revista Fitotecnia Mexicana 31(3):53-59.
- Nascimento V E, A B Geraldo M, R H Hojo (2008)** Caracterização física e química de frutos de mamey. Revista Brasileira de Fruticultura 30(4):953-957.
- Pohlan J, J Borgman, M R V Gehrke (2000)** Perspectives of Sapotaceae species for fruit production in the Soconusco Region, Chiapas, Mexico. Acta Horticulturae 531: 45–52.
- Ricker M, C Siebe, S Sánchez B, K Shimada, B C Larson, M Martínez-Ramos, F Montagnini (2000)** optimising seedling management: *Pouteria sapota*, *Diospyros digyna*, and *Cedrela odorata* in a Mexican rainforest. Forest Ecology and Management 139:63-77.
- Sakurai H, J Pokorny (2003)** The development and application of novel vegetable oils tailor-made for specific human dietary needs. European Journal lipid Science Technology 105:769-778.
- SAS Institute (1999)** SAS/STAT. User's Guide. Versión 8, Vol. 1-5. SAS Publishing. Cary, N.C. 3848 p.

Solís-Fuentes J A, M del C Durán-de-Bazúa (2003) Characterization of eutectic mixtures of different natural fat blends by thermal analysis. *European Journal Lipid Science Technology* 105: 742-748.

Solís-Fuentes J A, M del C Durán-de-Bazúa (2005) Recovery fats and oils from agro-industrial wastes and by products for use in industrial applications. *Journal of Applied Sciences* 5(6):983-987.

Villegas-Monter A, A Mora-Aguilera (2008) Propagación de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn). *In: Alia T I, Villegas M A, López M V, Andrade R M, Acosta D C M, Villegas T O y Guillen S D. El zapote mamey en México: avances de investigación. Universidad Autónoma del estado de Morelos. P. 1-18.*

Cuadro 1. Medias de los caracteres morfológicos de fruto, semilla y contenido de ácido graso de zapote mamey generado por el análisis de agrupamiento y corroborado por el dendrograma y la prueba de Tukey.

Grupo	LOSEM	PEFRU	LOHIL	PESEM	FITOT	ANSEM	GE	ANFRU	LINO	PAL	EST	OLE
I	8.04b	534.10ab	8.74a	42.99b	38.89abcd	3.44ab	0.20b	8.56a	9.12bc	7.45a	25.92ab	57.50a
II	7.88b	512.82ab	8.95a	41.94b	45.16abc	3.06ab	0.21b	8.32a	11.85abc	8.20a	27.42ab	52.53ab
III	7.60b	370.61b	8.44a	33.68b	34.47d	2.92b	0.20b	7.20ab	9.99bc	7.44a	26.39ab	56.18ab
IV	8.50ab	496.03ab	9.39a	37.32b	45.12abc	2.94b	0.25ab	7.78a	7.93c	7.64a	28.62ab	55.81ab
V	8.96ab	668.31a	10.04a	51.03ab	38.30bcd	3.28ab	0.20b	8.83a	10.70abc	7.72a	33.67a	47.90b
VI	10.54a	724.79a	11.63a	50.58ab	47.41ab	2.88b	0.19b	8.35a	9.92bc	8.06a	27.27ab	54.75ab
VII	8.56ab	532.14ab	9.15a	39.25b	47.71a	3.11ab	0.30a	5.78b	13.58ab	8.61a	26.37ab	51.44ab
VIII	10.40a	602.41ab	11.65a	71.59a	38.30cd	3.86a	0.20b	8.51a	15.83a	9.83a	23.42b	50.92ab

LOSEM=Longitud de semilla; PEFRU=Peso de fruto; LOHIL=Longitud de hilio; FITOT=Número de fibra total; ANSEM=Ancho de semilla; GE=Grosor de epicarpio; ANFRU=Ancho de fruto; LINO=Linoleico; PAL=Palmítico; EST=Estearico; OLE=Oleico.

^z Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Duncan, 0.05).

Cuadro 2. Distancia cuadrada generalizada por grupo.

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0	90.96	453.75	437.66	146.38	86.58	1664.57	2071.73
2	90.96	0	794.61	732.23	198.42	352.40	1248.92	1497.03
3	453.75	794.61	0	75.55	950.73	256.82	2012.84	4140.76
4	437.66	732.23	75.55	0	972.96	302.72	1871.33	3859.57
5	146.38	198.42	950.73	972.96	0	284.31	2417.60	2017.83
6	86.58	352.40	256.82	302.72	284.31	0	2185.82	2864.00
7	1664.57	1248.92	2012.88	1871.33	2417.59	2185.82	0	2071.94
8	2071.73	1497.03	4140.76	3859.57	2017.83	2864.00	2071.94	0

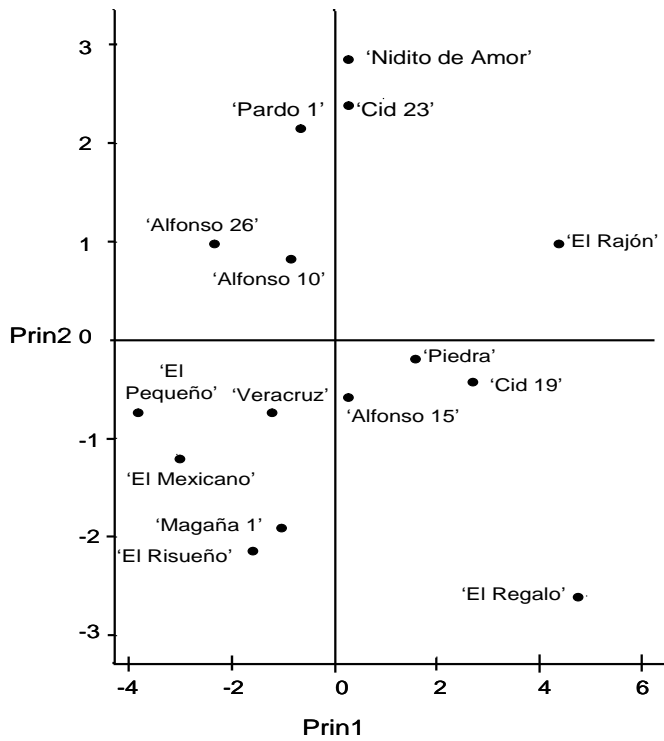


Figura 1. Dispersión de los componentes principales uno y dos de 15 selecciones de zapote mamey.

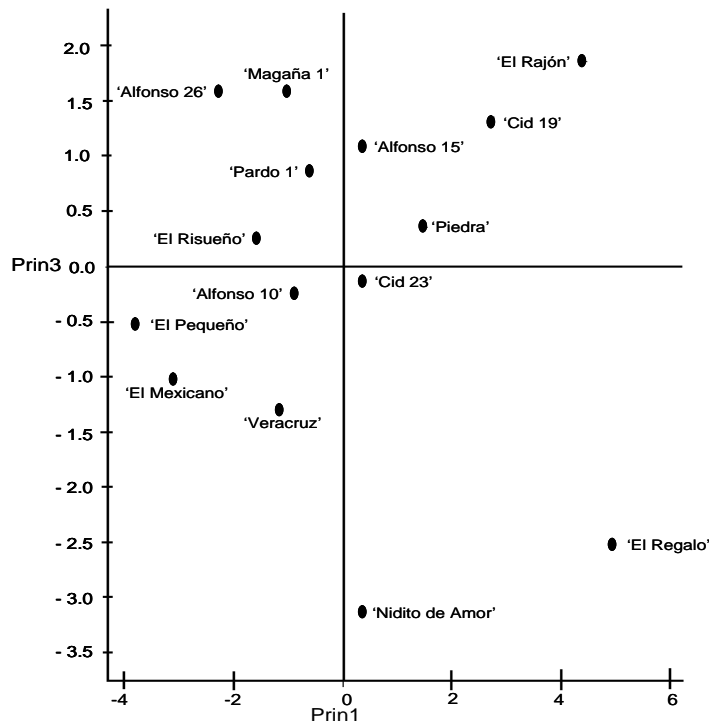


Figura 2. Dispersión de los componentes principales uno y tres de 15 selecciones de zapote mamey.

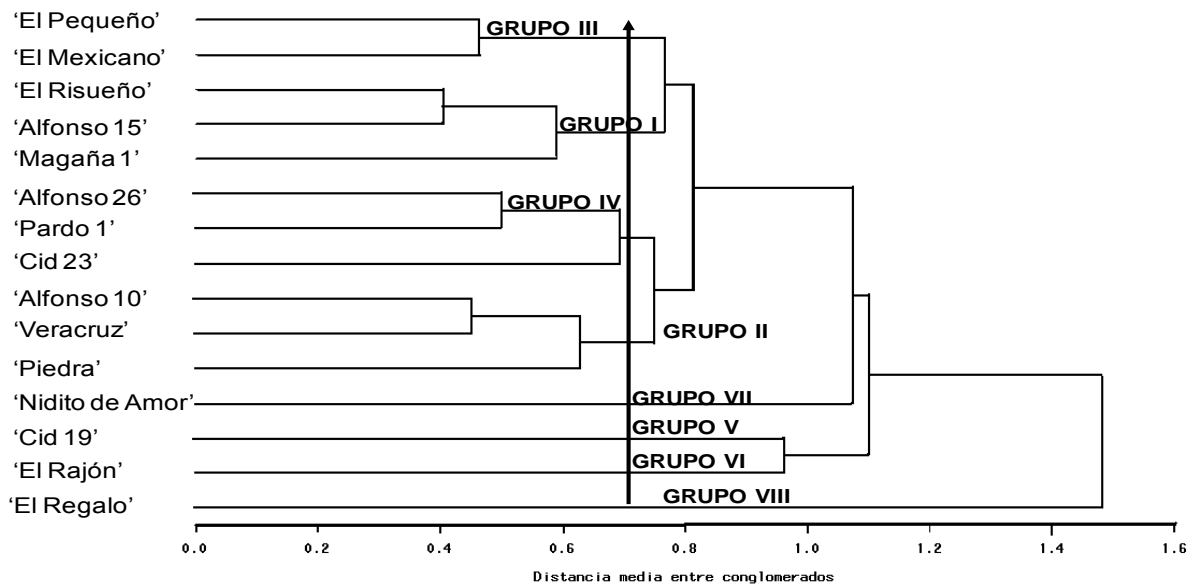


Figura 3. Análisis de agrupamiento de 15 selecciones de zapote mamey en base a caracteres morfológicos.

VARIABILIDAD GENÉTICA DE SELECCIONES DE ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. MOORE & STEARN) MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES RAPD Y RAMP

GENETIC VARIABILITY OF SAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. MOORE & STEARN) SELECTIONS THROUGH THE USE OF RAPD AND RAMP MOLECULAR MARKERS

Martha Elva Ibarra Estrada¹, Reyna Isabel Rojas Martínez^{2*}, Guillermo Carrillo Castañeda³, Tarsicio Corona Torres³, Catarino Ávila Reséndiz⁴, Ángel Villegas Monter¹

¹Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura, Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera México-Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tel 01 (595) 95 2 02 00

²Postgrado en Fitosanidad-Fitopatología, Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera México- Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tel 01 (595) 95 2 02 00. ³Postgrado en

Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Colegio de Postgraduados. Km 36.5 Carretera México- Texcoco. C.P. 56230. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. Tel 01 (595) 95 2 02 00. ⁴Colegio de

Postgraduados. Km 88.5. Predio Tepetates. Carr. Federal Veracruz-Jalapa. C.P. 91700. Veracruz. Tel. 01 (229) 20 1 07 70.

*Autor para correspondencia: rojas@colpos.mx

RESUMEN

México por ser centro de origen del zapote mamey posee amplia diversidad genética; sin embargo, pocos son los trabajos que se han realizado para determinarla. Una buena opción para estudiar esta biodiversidad es el uso de marcadores moleculares. Mediante el uso de las técnicas de RAPD y RAMP fue evaluada la variabilidad genética existente en 14 selecciones de zapote mamey. Fueron analizadas 13 selecciones provenientes de la Cañada de Huamuxtitlán, Guerrero y una de Conkal, Yucatán. Con la primera técnica, utilizando nueve iniciadores, fueron amplificados 80 loci (75 % de polimorfismo). Con la segunda, cuatro iniciadores generaron 40 loci (87 % de polimorfismo). En el dendrograma generado con el uso de RAPD se detectó la formación de cinco grupos y con RAMP seis grupos. En ambos casos la selección 'Cid 19' se mantuvo aislada del resto de las selecciones. Situación contraria presentó 'El Mexicano' que se relacionó genéticamente con 'Alfonso 26' y 'Piedra' en RAPD y RAMP, respectivamente. La prueba de Mantel indicó que hubo alta correlación entre la matriz de similitud sin y con remuestreo en ambas técnicas. Los resultados muestran que no existió mucha dispersión de los valores y que por lo tanto son homogéneos. Mediante el uso de estas dos técnicas moleculares, se logró detectar variabilidad dentro de la población; sin embargo, no fue posible separar las selecciones por lugar de procedencia.

Palabras clave: *Pouteria sapota*, diversidad genética, técnicas, moleculares.

SUMMARY

Mexico, as place of origin of sapote mamey has ample genetic diversity. However, few works have been done aimed at determining it. A good option to study this biodiversity is through the use of molecular markers. The genetic variability existing in 14 selections of sapote mamey was evaluated through RAPD and RAMP techniques. 13 selections of mamey sapote from Cañada de Huamuxtitlan, Guerrero and one from Conkal, Yucatan were analyzed. Using RAPD and nine initiators, 80 loci were amplified (75% polymorphism). Using RAMP and four initiators generated 40 loci (87% polymorphism). In the dendrogram generated with each of the two techniques, the formation of five and six groups, respectively, was detected. In both cases, the 'Cid 19' selection remained isolated from the rest of the selections. This was the opposite for the 'El Mexicano', which was genetically related with 'Alfonso 26' and 'Piedra' in RAPD and RAMP, respectively. The Mantel test indicated a high correlation between the likeliness matrix with and without resampling in both techniques. These results indicate that there was little dispersion of the values, and thus are homogeneous. Through the use of these two markers, variability within the population was detected; however, it was not possible to separate the selections by place of origin.

Index word: *Pouteria sapota*, genetic diversity, techniques, molecular.

INTRODUCCIÓN

Históricamente, los estudios de diversidad genética en plantas han estado relacionados con datos arqueológicos, botánicos, lingüísticos, históricos y morfológicos. Sin embargo, el conocimiento de las descripciones detalladas es necesario en la caracterización de germoplasma, debido a que puede haber genes valiosos para los programas de mejoramiento (Becerra y Paredes, 2000). Gracias a los avances en la biología molecular se han desarrollado métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares (Azofeifa, 2006). Entre los que destacan el uso de RAPD (Polimorfismo del ADN Amplificados al Azar), (Valadez-Moctezuma y Kahl, 2005), RAMP (Polimorfismo del ADN amplificado con microsatélites), (Wu *et al.*, 1994) e ISSR (intersecuencia simple repetida), (Zietkiewicz *et al.*, 1994). Éstos últimos permiten la detección de polimorfismo en loci minisatélites así como microsatélites sin el conocimiento previo de la secuencia de ADN (Wu *et al.*, 1994).

Los RAPD se han utilizado en algunas especies pertenecientes a la familia Sapotaceae, con el fin de establecer diferencias por efecto de las condiciones ambientales en las cuales se desarrollaron diversas selecciones de *Manilkara sapota* (Heaton *et al.*, 1999); para determinar la estructura genética espacial de *Chrysophyllum sanguinolentum* (Degen *et al.*, 2001) y para estudiar la diversidad genética de *Vitellaria paradoxa* (Fontaine *et al.*, 2004) y de *Manilkara zapota* (Meghala *et al.*, 2005).

Mediante el uso de las secuencias simples repetidas (SSR), Azevedo *et al.* (2007) estudiaron el modelo de distribución espacial y estructura genética en 481 árboles y 810 plántulas de *Manilkara hubery*. Los resultados indicaron alto nivel de endogamia intrapoblacional. De igual manera, los análisis realizados detectaron una estructura genética espacial con radio de hasta 300 m, sugiriendo que las semillas fueron dispersadas a distancias cortas.

En Florida, E.U. Carrara *et al.* (2004) emplearon la técnica de AFLP para evaluar la diversidad genética en 41 selecciones de zapote mamey. Algunas agrupaciones fueron observadas de acuerdo al lugar de colecta. Sin embargo, el procedimiento de remuestreo no sustentó los resultados obtenidos. La mayoría de las selecciones colectadas de Cuba y Yucatán mostraron alto nivel de similitud. Adicionalmente, las selecciones colectadas en la región del Pacífico mostraron mayor disimilitud una de otra, que las del Caribe.

En México, el zapote mamey es de importancia económica y social y por ser lugar de origen de la especie, la cantidad de material genético es considerable. A pesar de esto, su diversidad genética no ha sido analizada utilizando marcadores moleculares. La mayoría de los trabajos se refieren a la caracterización morfológica y bioquímica de los frutos. Tal es el caso de los trabajos llevados a cabo en México por Espinosa-Zaragoza *et al.* (2005), Bayuelos-Jiménez y Ochoa (2006), Gaona-García *et al.* (2008); y en Brasil por Nascimento *et al.* (2008).

Por lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron: estimar la variabilidad genética en 14 selecciones de zapote mamey mediante el uso de marcadores moleculares RAPD y RAMP, así como separarlas por lugar de origen.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se colectaron muestras de hojas jóvenes de árboles en producción de 14 selecciones de zapote mamey, 13 originarios de la Cañada de Huamuxtitlán, Guerrero ('El Pequeño', 'Alfonso 10', 'Alfonso 15', 'Alfonso 26', 'Pardo 1', 'El Rajón', 'Nidito de Amor', 'Cid 19', 'Cid 23', 'El Mexicano', 'Piedra', 'El Risueño', 'El Regalo'; y una de Conkal, Yucatán ('Magaña 1'). Se etiquetaron y guardaron en un congelador a -20°C hasta su uso posterior.

Extracción de ADN

La extracción del ADN genómico se realizó siguiendo el protocolo descrito por Cázares-Sánchez (2010). Para esto se tomó 0.1 g de tejido foliar congelado de cada uno de los materiales antes mencionados. La cantidad y calidad del ADN se determinó mediante espectrofotometría (NanoDrop ND-1000 V3.7 Thermo Scientific®) y por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% en amortiguador TAE 1X. La separación electroforética del ADN se llevó a cabo a 95 Volts durante 30 min. El gel se tiñó con la solución de bromuro de etidio (1 μL de bromuro de etidio [10 mg ml^{-1}] por cada 100 mL de amortiguador), se visualizó en un transiluminador de luz ultravioleta Modelo Gel-Doc 2000, BIO RAD® y analizó con el programa Quantity One 4.0.3. Para obtener la concentración de $20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ de ADN de cada una de las muestras se hicieron diluciones de la solución de ADN inicial con agua inyectable estéril.

Análisis mediante RAPD y RAMP

La amplificación de los marcadores RAPD, fue realizada con iniciadores aleatorios decámeros de *Operon Technologies* (Alameda, CA, USA) los cuales fueron sintetizados en el Instituto de Biotecnología de la UNAM. De estos iniciadores, cinco pertenecen a la serie A (OPA-05, OPA-10, OPA-13, OPA-15 y OPA-19), nueve a la serie B (OPB-05, OPB-06, OPB-07, OPB-09, OPB-10, OPB-11, OPB12, OPB-15, OPB-17 y uno de INI-26. La mezcla de reacción para la amplificación estuvo compuesta por: Amortiguador de reacción 10 X, 30 mM de MgCl_2 , 2.0 mM μL^{-1} de dNTP, 10 pmol μL^{-1} de iniciador aleatorio, 5 U μL^{-1} ADN polimerasa (Amplificasa®), 20 ng μL^{-1} de ADN genómico y 14.05 μL de agua destilada estéril. En un volumen final de 25 μL por tubo.

La amplificación consistió de un ciclo de pre-desnaturalización de 1 min a 94 °C; seguido de 38 ciclos de 30 seg a 94 °C, 30 seg a 35 °C y 1 min 30 seg a 72 °C, seguidos de 1 ciclo de extensión final por 2 min 30 seg a 72 °C. Los productos amplificados fueron separados en un gel de agarosa al 1.5 %. Se empleó TBE 1X como amortiguador de corrida en una corriente constante de 85 volts. Como referencia de peso molecular se utilizó un marcador 1 Kb (Invitrogen[®], Life Technology, USA). Los geles fueron teñidos y documentados de la manera especificada anteriormente. La reproducibilidad de las amplificaciones fue evaluada al menos tres veces.

Para RAMP se utilizaron los iniciadores decámeros ya mencionados + GATA₄ (microsatélite). La mezcla de reacción fue similar a la anterior, excepto que se agregaron 2.0 µL del iniciador microsatélite (10 pmol µL⁻¹) en un volumen final de 25 µL. En RAMP las condiciones de amplificación fueron las siguientes: un ciclo de pre-desnaturalización de 2 min a 94 °C; seguido de 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 2 min a 94 °C, 2 min a 50 °C, 3 min a 72 °C y un ciclo de extensión final de 10 min a 72 °C. Los productos amplificados fueron separados, teñidos y documentados como se mencionó anteriormente. Las amplificaciones tanto de RAPD como de RAMP fueron realizadas en un termociclador TECHNE[®] TC-3000. La reproducibilidad de las amplificaciones fue evaluada al menos tres veces.

Análisis estadístico

Las bandas obtenidas en cada gel se enumeraron en orden descendente a partir de la de mayor número de pares de bases. Posteriormente, fueron codificadas mediante el código binario (1 = presencia, 0 = ausencia). Con estos resultados se conformó una matriz básica de datos (MBD). Para el análisis de los datos se utilizó el paquete computacional de NTSYS-pc versión 2.2R[®] (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System).

La matriz de similitud genética se obtuvo mediante el coeficiente de SM [Simple matching coefficient: m/n (default) o coeficiente de apareamiento simple] Sokal y Sneath, 1963). Los dendrogramas fueron creados con el programa SAHN (Sequential Agglomerative Hierarchical Nested Cluster Analysis) de Dunn y Everitt (1982), del sistema de análisis multivariado y taxonómico numérico (NTSYS-pc 2.2R). Lo anterior se realizó por medio del método del promedio aritmético no ponderado por pares entre agrupamientos, tipo UPGMA (Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Averages) (Adams *et al.*, 2008).

La robustez del dendrograma se probó mediante el método de remuestreo en las matrices de datos y de disimilitud con Bootstrapping ($\alpha=0.05$), en el módulo “*Transformation/Resample*” y “*Transformation/Summary*”. Se realizaron 1000 remuestreos. La confiabilidad de los resultados se llevó a cabo por medio de una comparación de matrices con la Prueba de Mantel (1967), entre la matriz de similitud generada de la matriz básica de datos y de una matriz promedio generada con el remuestreo. Lo anterior fue realizado en el módulo “*Graphics/Matrix comp. Plot*” de NTSYS-pc 2.2R.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variabilidad genética obtenida por marcadores RAPD

En ocho de los 15 iniciadores evaluados se observó mayor polimorfismo (Cuadro 1). Se amplificaron 80 *loci* de los cuales, 60 (75 %) fueron polimórficos y 20 (25 %) monomórficos entre selecciones. Fiedler *et al.* (1998) estudiaron 16 accesiones de aguacate que incluían las tres razas hortícolas y una de *P. schiedeana*. Los 22 iniciadores evaluados produjeron 133 fragmentos, de los cuales 111 fueron polimórficos (83 %) y 22 monomórficos (17 %), además detectaron marcadores específicos de cada una de las razas. Fueron revelados cinco fragmentos producidos por cinco primer. Tres fragmentos fueron específicos para la raza Mexicana, y uno para la raza Guatemalteca y Antillana, respectivamente.

Por otro lado Padilla-Ramírez *et al.* (2002) caracterizaron 12 selecciones de guayabo provenientes de la región de Zacatecas. Los 12 iniciadores produjeron 107 bandas con 60 % de polimorfismo, de ellos OPA-10 amplificó 11 fragmentos (45 % de polimorfismo). En nuestro estudio, este iniciador generó 12 bandas y el polimorfismo fue superior (83 %) (Figura 1). OPA-15 en guayabo generó ocho bandas y expresó 75 % de polimorfismo, mientras que en zapote mamey originó cuatro, en donde 75 % fueron monomórficas. OPA-13 fue el único que mostró 100 % de polimorfismo.

Yonemoto *et al.* (2007) evaluaron 39 cultivares de zapote blanco (*Casimiroa edulis*). Con 24 iniciadores se generaron 168 bandas, de las cuales 60 % fueron polimórficas. Además, cada tipo de flor (I, II y III) fue caracterizado y relacionado con dos bandas RAPD. En el dendrograma construido 37 cultivares fueron agrupados en seis conjuntos, las dos accesiones restantes fueron genéticamente diferentes.

En la familia Sapotaceae también se han realizado investigaciones. Heaton *et al.* (1999) analizaron cuatro poblaciones de chicozapote (*Manilkara zapota*) para determinar diferencias genéticas entre los materiales provenientes del pantano y bosque de la península de Yucatán, México. Nueve de 80 iniciadores revelaron diferencias entre poblaciones (28 bandas diferentes). El dendrograma no mostró separación genética de individuos entre las poblaciones. Los autores señalan que las diferencias morfológicas observadas entre ambas poblaciones pueden deberse a que el flujo de genes ha impedido la acumulación de diferencias en los marcadores neutrales o se ha ocasionado una respuesta plástica debido a las condiciones específicas de cada hábitat.

Fontaine *et al.* (2004) estudiaron la diversidad genética de 179 individuos de Karité (*Vitellaria paradoxa*) en la región del sub-Sahara en África. Los 16 iniciadores utilizados amplificaron 67 bandas polimórficas y 15 monomórficas (rango de 1670-280 pb). Este conjunto de loci proporcionó buen muestreo del genoma y evaluación de la diversidad genética. Con el dendrograma generado se diferenciaron los grupos de las poblaciones provenientes de la parte este y oeste de la región de estudio. En la presente investigación y en los trabajos mencionados la técnica de RAPD fue útil para evaluar la variabilidad genética. Sin embargo, no fue posible separar los materiales por lugar de procedencia, debido probablemente a la limitada selección que han llevado a cabo los productores en las huertas de estudio.

Andrade-Rodríguez *et al.* (2008) en Morelos, México estudiaron la diversidad genética de 15 selecciones de zapote mamey. Emplearon 10 iniciadores de la serie B los cuales produjeron 165 fragmentos (82 % de polimorfismo). Con esto determinaron la variación genética de 66 % de los árboles estudiados. En los árboles restantes no se obtuvieron fragmentos marcadores que permitieran su caracterización. En nuestra investigación empleamos cinco iniciadores utilizados por estos autores. En el caso de OPB-06 el polimorfismo generado fue semejante en ambos estudios (77 % aproximadamente). El utilizar los mismos iniciadores en otras selecciones de la especie no significa que generarán el mismo polimorfismo. Esa situación de acuerdo a lo mencionado por Hidalgo (2003) y Chávez (2003) se debe a la información genética intrínseca de cada individuo.

Con el dendrograma construido se evidenciaron cinco conjuntos los cuales estuvieron relacionados a una distancia genética de 0.77 de distancia (Figura 2). ‘Magaña 1’ y ‘Cid 23’ forman el primer grupo, con rango de distancia genética de 0.77 a 0.74. Cabe indicar que ‘Magaña 1’ es la única selección procedente del centro de origen de la especie (Yucatán).

El segundo grupo está compuesto por ‘El Risueño’, ‘Alfonso 15’, ‘Alfonso 10’, ‘El Mexicano’, ‘Alfonso 26’, ‘Pardo 1’ y ‘Nidito de Amor’. En este caso, todos los materiales mencionados pertenecen al mismo dueño y, por lo tanto se puede pensar que la selección realizada por el productor sea hacia alguna característica particular (forma de fruto, color de pulpa, sabor).

El tercer grupo está formado por ‘El Pequeño’ y ‘El Rajón’ con rango de distancia genética de 0.73 a 0.78. El cuarto conjunto lo agrupan ‘Piedra’ y ‘El Regalo’ los cuales presentan distancia genética que oscila de 0.67 a 0.83. El quinto grupo lo integra ‘Cid 19’, el cual se identificó como el más apartado con distancia genética de 0.67 aproximadamente. Es importante señalar que esta selección se puede diferenciar perfectamente por la forma y tamaño de fruto. A través del uso de RAPD no fue posible apartar el material por lugares de origen. Esta situación ya había sido reportada por Heaton *et al.* (1999) en chicozapote. De acuerdo a lo señalado por Schierenbeck *et al.* (1997) lo anterior se debe a la variabilidad genética que presentan los árboles tropicales en general, debida a la polinización cruzada. En el caso de chicozapote y zapote mamey sus flores son polinizadas por murciélagos y otros insectos nocturnos (Pennington, 1990).

Variabilidad genética obtenida por marcadores RAMP

La combinación del microsatélite (GATA)₄ más cuatro de los iniciadores utilizados generó 40 *loci* con 87 % de polimorfismo (Cuadro 2). La combinación OPA13+(GATA)₄ produjo 92 % de polimorfismo. OPB07+(GATA)₄ produjo la mayor cantidad de fragmentos monomórficos (22 %). Al igual que en el presente estudio, Valadez-Moctezuma *et al.* (2005) compararon el potencial de las técnicas de RAPD (G-03 y G-10) y RAMP (GATA + G-03 y GATA + G-10), en 10 especies de leguminosas. Estos autores señalan que el bandeo obtenido con RAMP proporcionó información nueva

en relación a la variación que pudieran presentar los genomas que compararon y con mayor probabilidad que la técnica de RAPD.

En el dendrograma generado las 14 selecciones se distribuyeron en seis grupos a una distancia de genética de aproximadamente 0.80 (Figura 4). El primer grupo está formado de ‘Magaña 1’ y ‘Alfonso 10’ con rango de distancia genética de 0.83 a 0.81. Al igual que con el uso de RAPD la primera selección mencionada se agrupó con otra. De acuerdo a lo indicado por Fulton *et al.* (2002) esta situación puede deberse a que las especies dentro de una familia están ligadas por sistema común de genes, los cuales pueden ser detectados por medio de hibridación del ADN. Una aplicación práctica de este conocimiento es el diseño de iniciadores degenerados, los cuales se utilizan para identificar un gen común entre especies de una misma familia. El segundo grupo lo integran ‘El Pequeño’, ‘El Rajón’, ‘Piedra’, ‘El Mexicano’, ‘Pardo 1’, ‘Alfonso 26’, ‘Nidito de Amor’ y ‘Alfonso 15’ con rango de distancia genética de 0.89 a 0.77. A excepción de la primera selección, el resto pertenece al mismo propietario y como se indicó puede seleccionar hacia algún carácter en particular.

Birnbaum *et al.* (2003) mencionan que cuando una población se establece con plantas genéticamente idénticas esta representa un individuo, cuyo éxito en el mejoramiento en toda la población puede prolongarse por mucho tiempo. Este inconveniente puede reducir dramáticamente el tamaño de la población que conducirá a la rápida pérdida de la diversidad genética (Ryman *et al.*, 1995). Así, en términos de diversidad alélica, esto es una muerte por dilución. Además, la presencia de un material dentro de un conjunto de individuos que sí pertenecen al mismo sistema (para nuestro caso, ‘El Pequeño’) se debe a que los agricultores frecuentemente intercambian semilla de otros productores, así, las plantas creciendo en una plantación no necesariamente son la progenie de los árboles de la misma huerta (Birnbaum, 2003).

Los siguientes cuatro conjuntos están conformados por una selección, ‘El Risueño’, ‘Cid 19’, ‘Cid 23’ y ‘El Regalo’ (rango de distancia genética de 0.68 a 0.54). La distribución en el patrón de bandeo generado por ‘El Regalo’ en la combinación OPB05 + (GATA)₄ se aprecia significativamente diferente al resto del material (Figura 5).

Al igual que ‘El Risueño’ son de las selecciones más antiguas superando los 200 años. Por lo anterior, se podría suponer que los demás materiales de la región fueran sus descendientes debido a que la especie tradicionalmente ha sido propagada por semilla y que además los productores por costumbre tienden a hacer intercambio de las mismas.

La prueba de Mantel indica que hubo alta correlación entre la matriz de similitud sin y con remuestreo en ambas técnicas. En RAPD fue de $r=0.99985$, $P=1.000$ y RAMP de $r=0.99989$, $P=1.000$. Estos resultados indicaron que no existió dispersión de los valores y por lo tanto son estables. Situación contraria mostraron Carrara *et al.* (2004) quienes utilizaron AFLP para determinar la diversidad genética entre materiales de zapote mamey provenientes de tres regiones ubicadas en el sur de México, Centroamérica y el Caribe. Las agrupaciones en el dendrograma se dieron de acuerdo al lugar de colecta del material. Sin embargo, al evaluar la robustez del mismo mediante el método de remuestreo, éste no confirmó los resultados obtenidos. Lo anterior debido quizá a la alta similitud genética de los materiales. No obstante, varias situaciones son señaladas. Por ejemplo, la mayoría de las selecciones colectadas en Yucatán y Cuba mostraron alto nivel de similitud. Mientras que los materiales en la región del Pacífico mostraron mayor diferencia entre ellas que las colectadas en el Caribe.

Una de las técnicas más populares de PCR es la de RAPD. Sin embargo, su reproducibilidad entre laboratorios se ha cuestionado por diversos factores (Valadez-Moctezuma *et al.*, 2005). No obstante, los resultados obtenidos en la presente investigación fueron reproducibles. En referencia a la técnica de RAMP Valadez-Moctezuma *et al.* (2005) mencionan que el bandeo amplificado proporciona

información nueva y con mayor probabilidad que la técnica de RAPD. En otras palabras, este patrón representa potencialmente cuatro tipos de fragmentos: RAPD-RAPD; microsatélite-microsatélite; RAPD-microsatélites y microsatélite-RAPD; lo que permite suponer que los perfiles RAMP superan el potencial de RAPD y MP-PCR.

Resulta necesario llevar a cabo más estudios relacionados al tema. Para esto sería importante incrementar el número de iniciadores, tener materiales contrastantes en sus características (número de semillas, color de pulpa, forma del fruto) así como emplear otras técnicas con el fin de conocer más sobre la diversidad genética de la especie.

CONCLUSIONES

Mediante el uso de ambas técnicas se logró observar y evaluar que existe variabilidad genética interpoblacional.

No fue posible separar las selecciones por lugar de procedencia.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por la beca proporcionada para realizar estudios de doctorado. A la Fundación Produce Guerrero, A. C. y al SINAREFI por el apoyo económico para la realización del presente estudio.

BIBLIOGRAFIA

- Adams D, J Kim, R Jensen, L Marcus, D E Slice, J Walker (2008)** NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.20q. Exeter Software, New York, U. S. A.
- Andrade-Rodríguez M, T de J Rodríguez-Rojas, I Alia-Tejacal (2008)** Caracterización morfológica y molecular de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn). *In: El Zapote mamey en México: avances de investigación.* I Alia-Tejacal, A Villegas-Monter, V López-Martínez, M Andrade-Rodríguez, C M Acosta-Durán, O Villegas-Torres, D Guillen-Sánchez (eds). Universidad Autónoma del estado de Morelos, México. pp: 41-56.
- Azevedo C R V, M Kanashiro, A Y Ciampi, D Grattapagua (2007)** Genetic structure and mating system of *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev., a heavily logged Amazonian timber species. *Journal of Heredity.* Advance Access published pp:1-7.
- Azofeifa D A (2006)** Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17(2):221-242.
- Bayuelos-Jiménez J S, I Ochoa (2006)** Caracterización morfológica de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn) del centro occidente de Michoacán, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29:9-17.
- Becerra V V, M Paredes (2000)** Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura Técnica* 60(3): 270-281.
- Birnbaum K, R Desalle, C Peters, P Benfey (2003)** Integrating gene flow, crop biology and farm management in on farm conservation of avocado (*Persea Americana*, Lauraceae). *American Journal of Botany* 90(11):1619-1627.

- Carrara S, R Campbell, R Schnell (2004)** Genetic variation among cultivated selections of mamey sapote (*Pouteria spp.* [Sapotaceae]). Proceeding Florida State Horticultural Society 117:195-200.
- Cázares-Sánchez E, S. Segura-Ledesma, J L Domínguez-Álvarez, C C Luna-Morales, I Alanis-Martínez, R M Soto-Hernández, R I Rojas-Martínez (2010)** Elimination of Oxidative Compounds to Increase the Quality and Quantity of DNA Extracted from Leaves of Guava (*Psidium guajava* L.). In: Proc. IInd IS on Guava and other *Myrtaceae*. W Rohde, G Fermin (ed.). Acta Horticulturae 849:251-256.
- Chávez J L (2003)** Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica. In: Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. T L Franco y R Hidalgo (eds.). Boletín técnico, número 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. pp: 72-77.
- Degen B, H Caron, E Bandou, L Maggias, M H Chevallier, A Leveau, A Kremer (2001)** Fine-scale spatial genetic structure of eight tropical tree species as analysed by RAPDs. Heredity 87:497-507.
- Dunn G, B S Everitt (1982)** An introduction to mathematical taxonomy. Cambridge. New York. 152 p.
- Espinosa-Zaragoza S, C Saucedo V, A Villegas M, M E Ibarra E (2005)** Caracterización de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq) H. E. Moore & Stearn) en Guerrero, México. Proceedings of Interamerican Society for Tropical Horticulture. 48:135-138.
- Fiedler J, G Bufler, F Bangerth (1998)** Genetic relationship of avocado (*Persea Americana* Mill.) using RAPD markers. Euphytica 101:249-255.

- Fontaine C, P N Lovett, H Sanou, J Maley, J M Bouvet (2004)** Genetic diversity of the shea tree (*Vitellaria paradoxa* C. F. Gaertn), detected by RAPD and chloroplast microsatellite markers. *Heredity* 93:639-648.
- Fulton T M, R van der Hoeven, N T Eannetta, S D Tanksley (2002)** Identification, analysis, and utilization of conserved ortholog set markers for comparative genomics in higher plants. *Plant Cell* 14:1457-1467.
- Gaona-García A, I Alía-Tejacal, V López-Martínez, M Andrade-Rodríguez, M T Colinas-León, O Villegas-Torres (2008)** Caracterización de frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota*) en el suroeste del estado de Morelos. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14:41-47.
- Heaton H, J R Whitskus, A Gómez-Pompa (1999)** Extreme ecological and phenotypic differences in the tropical tree chicozapote (*Manilkara Zapota* (L.) P. Royen) are not matched by genetic divergence: a random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Molecular Ecology* 8: 627-632.
- Hidalgo R (2008)** Variabilidad Genética y Caracterización de Especies Vegetales. *In: Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos*. T L Franco, R Hidalgo (eds.). Boletín técnico, número 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. pp:2-27.
- Mantel N (1967)** The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27:209-220.
- Meghala R, Ravishankar K V, Lalitha A, Rekha A (2005)** Genetic diversity of Indian sapota (*Manilkara zapota*) cultivars characterized by RAPD markers. *PGR-Newsletter* 142:43-46.
- Nascimento V E, A B Geraldo M, R H Hojo (2008)** Caracterização física e química de frutos de mamey. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(4):953-957.

- Padilla-Ramírez J S, E González-Gaona, F Esquivel-Villagrana, E Mercado-Silva, S Hernández-Delgado, N Máyek-Pérez (2002)** Caracterización de germoplasma sobresaliente de guayabo de la región Calvillo-Cañones, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 25(4):393-399.
- Pennington T D (1990)** Sapotaceae. *Flora Neotropica*, Monograph 52. New York Botanical Garden, New York. pp.1-770.
- Ryman N, P E Jorde, L Laikre (1995)** Supportive breeding and variance effective population size. *Conservation Biology* 9: 1619–1628.
- Sokal R R, P H A Sneath (1963)** *Principles of Numerical Taxonomy*. Freeman. San Francisco. 359 pp.
- Schierenbeck K A, M Skupski, D Lieberman, M Lieberman (1997)** Population structure and genetic diversity in four tropical tree species in Costa Rica. *Molecular Ecology* 6:137-144.
- Valadez-Moctezuma E, Kahl G (2005)** *Huellas de ADN en Genomas de Plantas (Teoría y protocolos de laboratorio)*. Editorial. Mundi-Prensa. México. 147 p.
- Valadez-Moctezuma E, G Kahl, A Rubluo-Islas, R Arreguín de los Monteros (2005)** Optimización de las huellas de ADN obtenidas con RAPDS y MP-PCR mediante la técnica con RAMPNR. *Revista Chapingo* 11(2):351-356.
- Wu K, R Jones, L Danneberger, P A Scolnik (1994)** Detection of microsatellite polymorphisms without cloning. *Nucleic Acids Research* 22:3257-3258.
- Yonemoto Y, A K Chowdhury, H Kato, M M Macha, H Okuda (2007)** Characterization of white sapote (*Casimiroa edulis* Llave & Lex.) germplasm using floral morphology, RAPD and AFLP markers. *Scientia Horticulturae* 112: 366-375.
- Zietkiewicz E, A Rafalski, D Labuda (1994)** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183.

Cuadro 1. Iniciadores utilizados en la técnica de RAPD, cantidad de fragmentos amplificados y tamaño de los fragmentos generados.

Iniciador	Fragmentos amplificados	Fragmentos polimórficos	Fragmentos monomórficos	Polimorfismo (%)	Monomorfismo (%)
A10	12	10	2	83	17
A13	9	9	0	100	0
A15	4	1	4	25	75
B05	11	6	5	54	46
B05	9	7	2	78	22
B06	9	5	4	56	44
B10	10	9	1	90	10
B11	10	7	3	70	30
B12	6	6	0	86	14

Cuadro 2. Iniciadores utilizados en la técnica RAMP, cantidad de fragmentos amplificados y porcentaje de polimorfismo y monomorfismo.

Iniciador + (GATA) ₄	Fragmentos amplificados	Fragmentos polimórficos	Fragmentos monomórficos	Polimorfismo (%)	Monomorfismo (%)
OPA10	8	7	1	88	12
OPA13	13	12	1	92	8
OPB05	10	9	1	90	10
OPB07	9	7	2	78	22

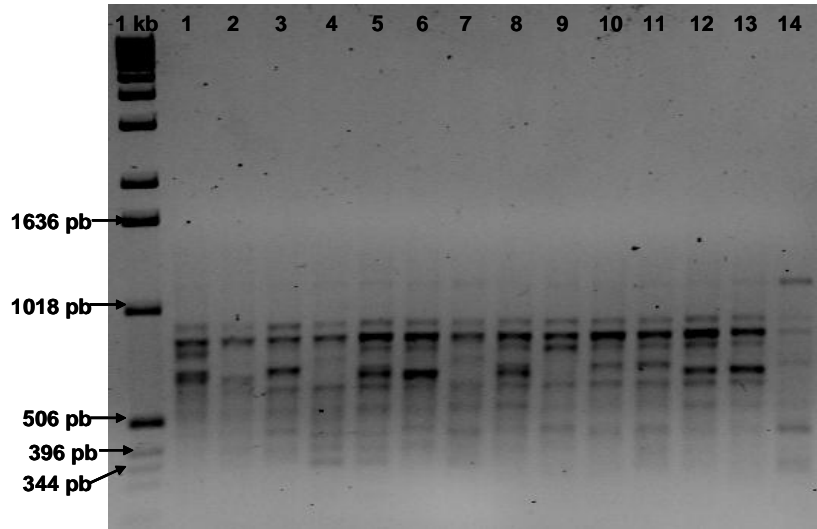


Figura 1. Patrón de bandeo obtenido con el iniciador al azar OPA10. Carril 1) marcador de peso molecular 1 Kb de Invitrogen ®. Carril 2) ‘Magaña 1’, Carril 3) ‘Cid 23’, Carril 4) ‘El Pequeño’, Carril 5) ‘El Rajón’, Carril 6) ‘Piedra’, Carril 7) ‘El Regalo’, Carril 8) ‘El Risueño, Carril 9) ‘El Mexicano’, Carril 10) ‘Alfonso 26’, Carril 11) ‘Pardo 1’, Carril 12) ‘Nidito de Amor’, Carril 13) Alfonso 15, Carril 14) ‘Alfonso 10’, y Carril 3 15) ‘Cid 19’.

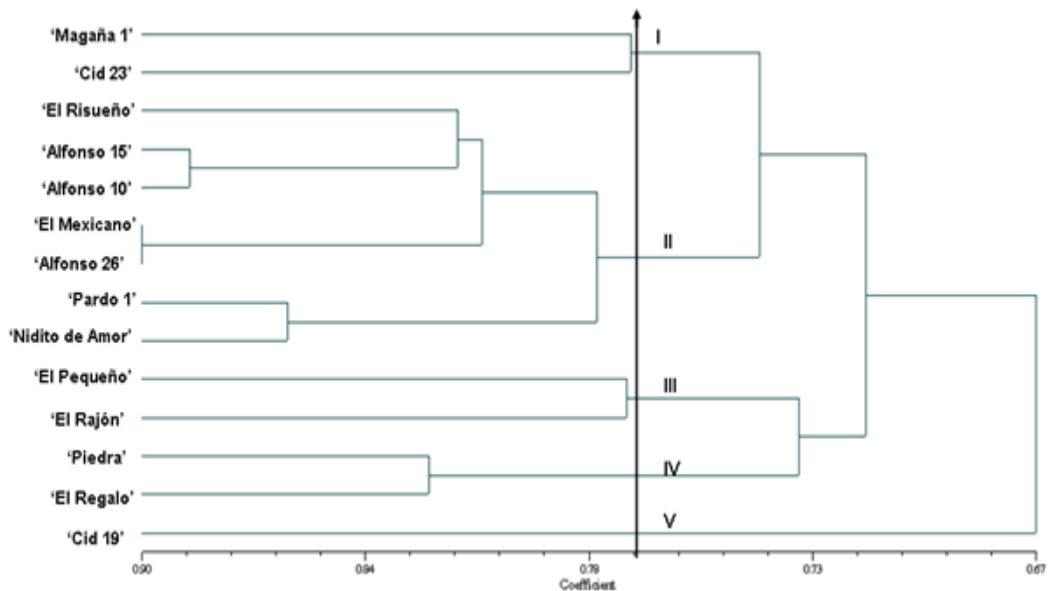


Figura 2. Análisis de agrupamiento de 14 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn) en base a marcadores moleculares RAPD.

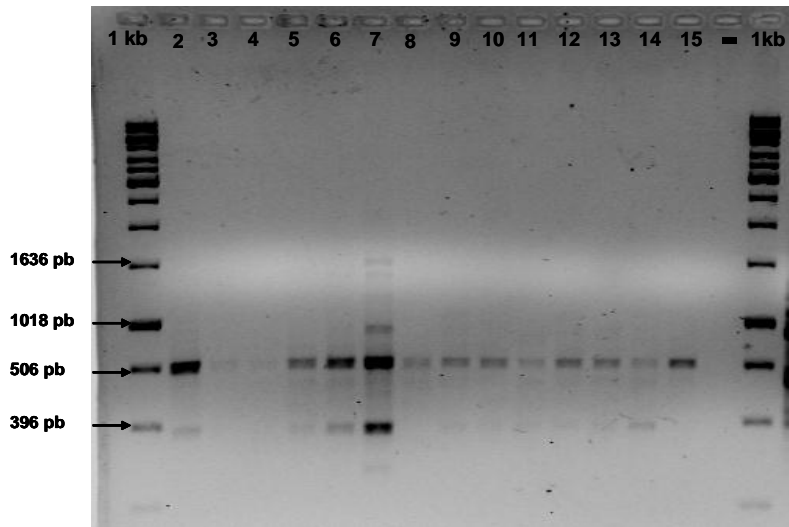


Figura 3. Patrón de bandas obtenidas con el iniciador al azar OPB05+(GATA)₄. Carril 1) marcador de peso molecular 1 Kb de invitrogen. Carril 2) ‘Magaña 1’, 3) ‘Cid 23’, 4) ‘El Pequeño’, 5) ‘El Rajón’, 6) ‘Piedra’, 7) ‘El Regalo’, 8) ‘El Risueño’, 9) ‘El Mexicano’, 10) ‘Alfonso 26’, 11) ‘Pardo 1’, 12) ‘Nidito de Amor’, 13) Alfonso 15, 14) ‘Alfonso 10’, 15) ‘Cid 19’, negativo, 1 Kb de invitrogen.

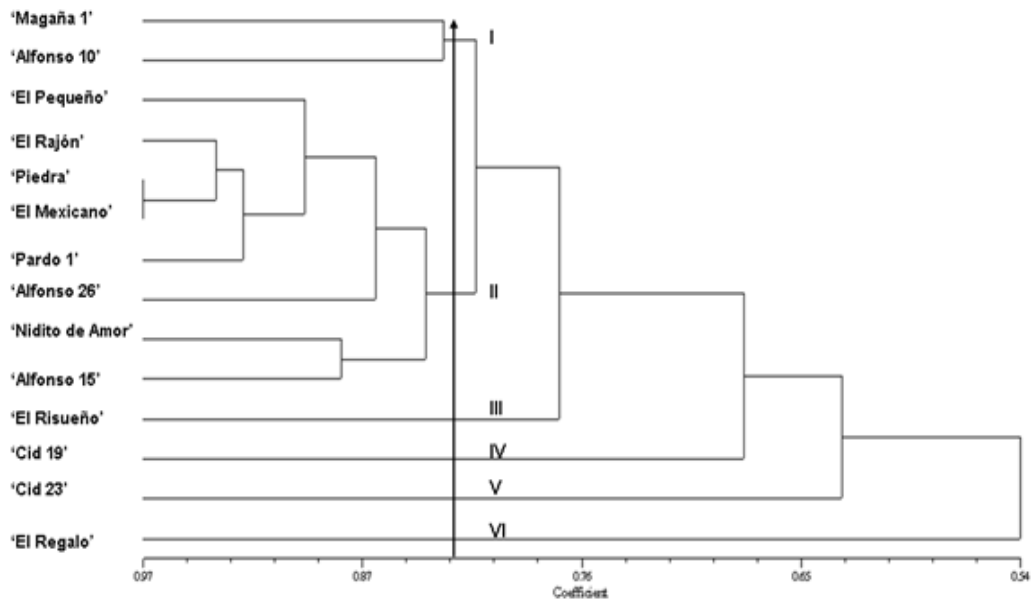


Figura 4. Análisis de agrupamiento de 14 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota*, (Jacq.) H. E. Moore & Stearn) en base a marcadores moleculares RAMP.

DISCUSIÓN GENERAL

México es centro importante de domesticación y de diversidad de numerosos cultivos, algunos de gran importancia global (Bellon *et al.*, 2009). Entre estos se encuentra el zapote mamey, el cual procede de las partes más bajas de América Central y México (Balerdi y Crane, 2009). Se espera que por ser esta región el centro de origen de la especie exista mayor diversidad.

Durante 2009 se cultivaron 1,524 ha con producción estimada de 16,306 ton. Las entidades federativas con mayor superficie y producción fueron Yucatán (413.55 ha y 8,834 ton), Guerrero (388 ha y 2367 ton) y Chiapas (162 ha y 880.60 ton) (SIAP, 2011). En la Cañada de Huamuxtitlán, Gro., región productora conformada por los municipios de Alpoyecá y Huamuxtitlán para este mismo año se cultivaron aproximadamente 173 ha con este frutal.

En el país existen más de 30 genotipos seleccionados. De estos pocos son conocidos y la mayoría no han sido caracterizados en plantaciones a nivel comercial (Villegas-Monter, 2008). Por otra parte Medina *et al.* (2006) menciona que para poder cumplir con los objetivos sobre la conservación de los recursos fitogenéticos, se requiere ampliar el conocimiento acerca de la diversidad genética y que para ello es necesaria la caracterización adecuada de las poblaciones de acuerdo con su distribución geográfica.

Los materiales evaluados en la presente investigación a excepción de ‘Magaña 1’ (de la cual se cultivan más de 1,000 ha en Yucatán) no tienen mucha importancia económica *per se* a nivel nacional. Sin embargo, podrían ser utilizadas en programas de mejoramiento debido a las características que presentan. Por ejemplo, fueron detectados en la semilla del fruto cuatro ácidos grasos (oleico, esteárico, palmítico y linoleico). Este resultado coincide con lo reportado en el 2003 por Solís-Fuente y Durán de Bazúa.

La FAO (2011) reporta que la producción mundial de aceite en los últimos años ha tendido a la baja. Para el 2009 la cantidad se estimó en 141 millones de toneladas. Esto representó una disminución de 31.50 millones de ton comparado con la producción de hace 10 años. En el caso de México, en el 2009 se produjo 1.14 millones de ton. La mayoría de ellos fueron extraídos principalmente de la palma de aceite, soja, colza y girasol (79.41 %) (FAO, 2011). Así mismo, la producción de semillas oleaginosas fue insuficiente con sólo 3,350 ton. Debido a este déficit las empresas aceiteras mexicanas importan alrededor del 95% de las semillas (Sistema producto oleaginosas, 2011). Por lo anterior es importante el uso de las semillas de zapote mamey que como se demostró está compuesto por cuatro ácidos grasos de importancia. En referencia a este tema, existieron diferencias en las concentraciones de los ácidos grasos registrados. Por ejemplo, el ácido oleico es el que predominó (>50 %). ‘El Pequeño’ y ‘El Mexicano’ presentaron la mayor cantidad. De acuerdo a lo mencionado por Sakurai y Pokorny (2003) los aceites de cocina generalmente contienen gran proporción de éste ácido (el cual es más estable a altas temperaturas). En base a esta situación, estas dos colectas podrían ser aprovechadas para este fin.

‘El Regalo’ mostró la mayor concentración en el ácido graso linoleico. Este es considerado como esencial para el cuerpo humano ya que el organismo no lo puede sintetizar y debe ser consumido a través de los alimentos (Lehninger, 1995). El aderezo utilizado en las ensaladas contiene gran proporción de este ácido, por lo que esta podría ser una buena manera de ingerirlo. Además los dos ácidos ya mencionados en cuestión de salud humana son beneficiosos. De acuerdo con diversos estudios, ayudan a disminuir el colesterol sanguíneo y las lipoproteínas de baja densidad, previniendo de esta manera diversas enfermedades, entre las cuales destacan las coronarias.

Finalmente, las margarinas contienen altas cantidades de ácido esteárico (Sakurai y Pokorny, 2003). En esta última situación ‘El Nidito de Amor’ podría ser aprovechado para tal fin. No obstante es considerado que por ser un ácido graso saturado tiene efectos negativos en la salud. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que no manifiesta algún efecto deletéreo sobre los lípidos del plasma. Esto se debe a que su punto de fusión es muy por encima de la temperatura del cuerpo humano, de manera que es sólido a 37 °C y es más probable de ser eliminado, en lugar de ser absorbido por el epitelio intestinal. O también puede rápidamente desaturado en ácido oleico y de esta manera, su propio efecto podría suprimirse (Dubois *et al.*, 2007).

Los estudios sobre diversidad inicialmente se basaron en caracteres morfológicos y posteriormente en bioquímicos. En la actualidad estos se han complementado con el empleo de los marcadores moleculares. Los trabajos pioneros no se desarrollaron en especies perennes y mucho menos en frutales, sino en especies como jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), Maíz (*Zea mays* L.) y *Arabidopsis thaliana* (L.) Henyh (Moore y Durham, 1992).

A través de RAPD se detectó que ‘Alfonso 26’ y ‘El Mexicano’ se relacionan genéticamente. Por ser relativamente joven la primera colecta pudo haber sido obtenida de la segunda mencionada. Sin embargo, con el uso de marcadores RAMP se observó que ‘El Mexicano’ se agrupó con ‘Piedra’. Lo anterior sugiere que ambas colectas cuentan con regiones más conservadas que sólo pudieron ser detectadas a través del uso del microsatélite empleado.

Las selecciones ‘Alfonso 15’, ‘Alfonso 26’, ‘Pardo 1’, ‘Nidito de Amor’ y el ‘Mexicano’ se mantuvieron agrupados de acuerdo con los resultados obtenidos con ambas técnicas. Inclusive, en el análisis morfológico y perfil de ácidos grasos ‘Alfonso 26’ y ‘Pardo 1’ continuaron en el mismo grupo. Lo anterior señala la gran semejanza que presentan y que ésta no pudo ser separada por ninguna técnica

empleada. Los datos moleculares y morfológicos para este caso representaron la relación entre los materiales.

La selección ‘Cid 19’ según los resultados de todos los estudios, nunca formó agrupación. Esto nos indica que su base genética es única. Para este caso con el estudio morfológico pudo haber sido suficiente para establecer las diferencias con el resto de las colectas. Aunque a simple vista, y basándonos en la forma del fruto, comparte semejanza con ‘Cid 23’. Esta similitud no es extraña. Lo anterior debido a que ambas colectas fueron seleccionadas por el mismo productor. Esta situación también se presentó en ‘El Regalo’. El cual, en el análisis morfológico y de ácidos grasos y en RAMP se mantuvo separado del resto de las colectas. Para este caso, fue necesario el uso del microsatélite GATA₄. Se esperaría entonces que la mayoría de las colectas fueran descendientes de ‘El Regalo’. Lo anterior debido a que esta colecta es la más antigua de la Cañada de Huamuxtitlán y que presentaran alguna característica similar a este material. Sin embargo, bajo estos estudios no se pudieron detectar. Si se deseara establecer esa similitud, se tendría que recurrir al uso de otras técnicas como son los AFLP los cuales son considerados entre los marcadores más eficientes (Valadez-Moctezuma y Kahl, 2005).

Como se observó cada uno de los materiales cuenta con cualidades especiales. Debido a esto, se podría implementar un programa de mejoramiento genético con el objeto de aprovechar las características sobresalientes de cada uno de ellos.

CONCLUSIONES GENERALES

‘Alfonso 15’, ‘Alfonso 26’, ‘Pardo 1’, ‘Nidito de Amor’ y el ‘Mexicano’ se mantuvieron agrupados de acuerdo a los resultados obtenidos en las dos técnicas moleculares empleadas. Inclusive, en el análisis morfológico y perfil de ácidos grasos ‘Alfonso 26’ y ‘Pardo 1’ continuaron en el mismo grupo.

‘El Regalo’ en el análisis morfológico, en el de los ácidos grasos y de RAMP se mantuvo separado de las demás colectas.

‘Cid 19’ exhibió el comportamiento más sorprendente debido a que en las tres técnicas empleadas se separó del resto de las colectas.

En la mayoría de los casos, las técnicas moleculares no asociaron las características morfológicas y de ácidos grasos.

BIBLIOGRAFÍA

- Balardi F C, J H Crane (2009)** El mamey sapote en Florida. Departamento de Ciencias Hortícolas, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida, Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas, Universidad de Florida. 10 p.
- Bellon R M, A F Barrientos-Priego, P Colunga-GarcíaMarín, H Perales, J A Reyes A, R Rosales S, D Zizumbo V (2009)** Diversidad y conservación de recursos genéticos en plantas cultivadas. *In: Capital natural de México, vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio.* Conabio, México. pp. 355-382.
- Biale J B and E Young (1971)** The avocado pear. *In: The Biochemistry of Fruits and Their Products.* A. C. Hulme (ed). Academic Press. New York, USA.
- Dubois V, S Breton, M Linder, J Fanni, M Parmentier (2007)** Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 710-732.
- FAOSTAT (2011)** Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. <http://faostat.fao.org/default.aspx?alias=faostat&lang=es>. (En línea) [Consultado 10 Marzo 2011].

- Medina C I, M Lobo, A Gómez F (2006)** Variabilidad fenotípica en poblaciones de ají y pimentón de la colección colombiana del género *Capsicum*. Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria 7: 25-39.
- Moore A G, Durham R E (1992)** Molecular markers. *In: Biotechnology of perennial fruit crops*. F A Hammerschlay (ed.). CAB International. United Kingdom. pp. 105-139.
- SIAP (2011)** Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx/>. (En línea) [Consultado 10 Junio 2011].
- Sistema producto oleaginosas (2011)** <http://www.oleaginosas.org/index.shtml>. (En línea) [Consultado 15 Marzo 2011].
- Solís-Fuentes J A, M del C Durán-de-Bazúa (2005)** Recovery fats and oils from agro-industrial wastes and by products for use in industrial applications. *Journal of Applied Sciences* 5(6):983-987.
- Valadez-Moctezuma E, G Kahl (2005)** Huellas de ADN en Genomas de Plantas (Teoría y protocolos de laboratorio). Editorial. Mundi-Prensa. México, D. F. 147 p.
- Villegas M A (2008)** El Zapote mamey en México: avances de investigación. Universidad Autónoma del estado de Morelos, México. 183 p. *In: El Zapote mamey en México: avances de investigación*. I Alia-Tejacal, A Villegas-Monter, V López-Martínez, M Andrade-Rodríguez, C M Acosta-Durán, O G Villegas-Torres, D Guillen-Sánchez (eds). Universidad Autónoma del estado de Morelos, México. 183 p.