



DIVERSIDAD GENÉTICA DEL AGUACATE (*Persea americana* Mill.) EN CUATRO ZONAS DE SU ÁREA DE DISPERSIÓN NATURAL

GENETIC DIVERSITY OF AVOCADO (*Persea americana* Mill.) IN FOUR AREAS OF ITS NATURAL SPREAD REGION

Corona-Jácome, E.C.¹; Galindo-Tovar, M.E.^{1*}; Lee-Espinosa, H.E.¹; Landero-Torres, I.¹

¹Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Región Orizaba-Córdoba, Camino Peñuela-Amatlán Km 1. Amatlán de los Reyes C.P. 94945, Veracruz, México.

***Autor responsable:** megalindo@uv.mx

RESUMEN

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es uno de los cuatro frutos tropicales más importantes a nivel mundial. La diversidad genética de esta especie neotropical es amplia y su taxonomía ha sido compleja. En este marco, el uso de marcadores genéticos altamente polimórficos como los microsatélites, permite estudiar la diversidad de esta especie, y con ello, se examinó la diversidad y relación genética del aguacate en cuatro zonas de su dispersión natural: Zaragoza, N.L., Aquila, Ver., Chochololá, Yuc, en México, así como, en La Antigua, Guatemala. Se obtuvieron muestras foliares de las localidades y se extrajo el ADN genómico para su amplificación con cuatro iniciadores de microsatelites (SHRSPa056, SHRSPa089, SHRSPa109 y SHRSPa111). Los resultados analizados con el programa POPGene V 3.4, evidenciaron presencia de alelos específicos indicando que esta especie ha estado sujeta a diferentes procesos de domesticación. Además, el mosaico de alelos compartidos indicó similitud entre procesos de selección y domesticación por las diferentes culturas que lo han utilizado y que han moldeado su estructura genética y diversidad. Las diferentes frecuencias de los alelos indicaron la interacción genética entre las cuatro localidades, probablemente debida a la polinización cruzada entre ellas y a su origen común. La presencia de haplotipos únicos, datos de similitud y deriva genética aportan información para explicar la evolución y marcan directrices para futuras investigaciones.

Palabras clave: Dispersión, diversidad genética, *Persea americana*.

ABSTRACT

The avocado (*Persea americana* Mill.) is one of the four major tropical fruits worldwide. The genetic diversity of this Neotropical species is wide and has been difficult to study, so its taxonomy has been complex. In this regard, the use of highly polymorphic genetic markers as microsatellites, allows genetic diversity studies for the species. This study was performed in order to assess the genetic diversity of avocado trees in Zaragoza, N.L., Aquila, Ver., Chochololá, Yuc, y La Antigua Guatemala, using microsatellite primers. Leaf samples from the four areas were obtained and genomic DNA was extracted. This DNA was amplified with four microsatellite primers (SHRSPa056, SHRSPa089, SHRSPa109 and SHRSPa111). Results were analyzed using the program POPGENE v 3.4. The presence of specific alleles shows that this species has been subject to different domestication processes. In addition, the mosaic of shared alleles indicates similarity among selection and domestication processes that avocado has passed through by the different cultures that used it and molded its diversity and genetic structure. The different allele frequencies showed the genetic interaction among the four localities in study, probably due to open pollination and its common origin. The presence of unique haplotypes, genetic similarity and genetic drift data provide information to explain the evolution of the species and mark guidelines for future research.

Key words: Dispersal, genetic diversity, *Persea americana*.

Agroproductividad: Vol. 9, Núm. 6, junio, 2016, pp. 80-85.

Recibido: enero, 2016. **Aceptado:** abril, 2016.



INTRODUCCIÓN

El aguacatero (*Persea americana* Mill.) se ubica entre especies tradicionalmente auspiciadas en traspatios y diversas culturas desde tiempos precolombinos en el área de Mesoamérica. México, actualmente ocupa el primer lugar en la producción de este fruto con 1 520 694.5 t (SIAP, 2014). Este frutal de clima tropical y subtropical presenta diversidad y su fruto se distingue por acumular en su pulpa aceites, en lugar de azúcares. Su centro de origen ha sido ubicado en el área que actualmente ocupa La Sierra Nevada en California (Galindo y Arzate, 2010a), su taxonomía ha sido revisada en varias ocasiones y sus relaciones genéticas son complejas. Diferentes domesticaciones han originado diversidad de tipos y variedades, cada una con características morfológicas, fisiológicas y climáticas que permiten distinguirlas. Es probable que en gran medida esta diversidad se haya originado como resultado de las diferencias ecológicas y de la diversidad de tradiciones y costumbres de los grupos culturales que lo domesticaron; así como a los largos periodos de polinización abierta e hibridación (Lev, 2011). Actualmente, se reconocen ampliamente tres razas fisiológicas del aguacatero: (1) *Persea americana* var. *drymifolia* (Schlecht. et al. Cham. Blake) (Mexicana) caracterizada por su relativa tolerancia al frío y por sus frutos pequeños cubiertos por una delgada cáscara de color negro-morado; (2) *P. americana* var. *guatemalensis* L. Wms. (Guatemalteca) poco tolerante al frío, frutos con cáscara gruesa y rugosa que se mantiene verde hasta la maduración; (3) *P. americana* var. *americana* (Antillana) adaptada a condiciones climáticas tropicales, frutos con cáscara suave, fácil de pelar y pulpa con un sabor casi dulce, que no se encuentra en las otras dos variedades (Williams, 1976; Bergh and Ellstrand, 1986). Sin embargo, debido a su evolución reticulada y amplia complejidad genética, el estudio de la diversidad y relaciones genéticas de la especie ha sido difícil. En la actualidad los estudios de diversidad genética se complementan con el uso de marcadores morfológicos y moleculares. La primera tiene limitantes, pues su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos. Por otro lado, los marcadores moleculares son fenotípicamente neutros, presentan mayor segregación o polimorfismo que los morfológicos, pueden ser evaluados desde los primeros estados de desarrollo de las plántulas, son aplicables a cualquier material vegetal, no importa la época del año en que se realiza el análisis y están libres de los efectos epistáticos (Azofeifa, 2006). Por ello, para estudiar las relaciones genéticas intraespecíficas las herramientas biotecnológicas resultan de gran utilidad (Asuar, 2007). Entre los marcadores moleculares, los microsatelites son pequeñas regiones de secuencias repetidas, altamente variables y útiles para medir el polimorfismo dentro especies o variantes muy relacionadas (Azofeifa, 2006). Con la finalidad de identificar

las fuerzas y factores evolutivos que explican la variación del árbol del aguacatero, se examinó la diversidad y relación genética de *P. americana* en cuatro zonas de su área de dispersión natural con el fin de identificar los recursos genéticos útiles para desarrollar estrategias de conservación, de mejora genética y uso sostenible para su aprovechamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se escogieron cuatro localidades en las que se ha reportado presencia de diversidad genética en las tres variedades del aguacatero y árboles silvestres (Cuadro 1).

En cada una de las localidades seleccionadas, se realizó una recolección al azar de 10 muestras foliares, excepto en Zaragoza, N.L. donde sólo se obtuvieron seis. Las muestras se deshidrataron en silica gel y se guardaron en bolsas de polietileno cerradas herméticamente, para su conservación hasta el momento de su análisis. Para la extracción de ADN se utilizó el protocolo del paquete de extracción Wizard® Genomic DNA Purification (Promega Corporation, 2010). La amplificación del ADN se realizó con la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se probaron seis iniciadores para microsatelites reportados por Borrone *et al.* (2006) y se seleccionaron los cuatro iniciadores en los que se obtuvieron bandas más claras (SHRSPa056, SHRSPa089, SHRSPa109 y SHRSPa111). Las muestras amplificadas se separaron por corrimientos electroforéticos, los productos se visualizaron en un transiluminador ultravioleta modelo CONSORT. Para el análisis de distancias genéticas de las cuatro localidades muestreadas se utilizó el programa POPGENE v. 3.4.,

Cuadro 1. Características geográficas de las localidades de colecta de muestras foliares de aguacatero de aguacatero (*Persea americana* Mill.)

Localidad	Longitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (m)
Zaragoza, Nuevo León	23° 58' 30"	99° 46'	1,380
Aquila, Veracruz	18° 48'	97° 18'	720
Chocholá, Yucatán	20° 41' y 20° 49'	89° 49' y 89° 65'	14
La Antigua, Guatemala	14° 33' 40"	90° 44' 04"	1,530

utilizando el método UPGMA (Yeh and Boyle, 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar el análisis de los resultados, se registró diversidad entre poblaciones. Las localidades de Zaragoza y Aquila, en las que se tomaron muestras de raza fisiológica mexicana (Figura 1 A, B), presentaron la mayor diversidad con polimorfismos de 83% y 64 % respectivamente; mientras que las localidades de Chocholá (raza antillana) y La Antigua (raza guatemalteca) tuvieron 46.42% y 39% de polimorfismo. Esto coincide con lo encontrado por Mhameed *et al.*, (1997), quienes reportaron mayor variabilidad para la raza fisiológica Mexicana (cuyo centro de dispersión incluye a Aquila). Debido a que la mayor diversidad indica cercanía al centro de origen; la cercanía de Zaragoza y Aquila con el centro de origen propuesto por Galindo *et al.* (2010a) en la Sierra Nevada, explica lo anterior. Con respecto a la presencia de alelos específicos, estos indican procesos de fijación de características que diferencian a una población de otra. Se registró un total de siete bandas únicas que no se comparten entre las localidades estudiadas. El mayor número lo presentó Aquila, con 8.33%, seguido por Zaragoza con 4.16%, La Antigua obtuvo 7.14% y Chocholá el 3.57% (Figura 2). De acuerdo a estos datos, las localidades de Aquila y La Antigua, que pre-

sentan el mayor porcentaje de alelos específicos; corresponden con las áreas de domesticación de las razas fisiológicas mexicana y guatemalteca respectivamente. Esto concuerda con lo reportado por Galindo (2007) y demuestra que esta especie ha estado sujeta a diferentes procesos de domesticación en cada



Figura 1. A: Frutos de aguacate de la raza fisiológica mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia* (Schlecht. et al. Cham. Blake)) encontrados en la localidad de Zaragoza N.L., México. B: Árboles de aguacate de la raza fisiológica mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia* (Schlecht. et al. Cham. Blake)) encontrados en la localidad de Aquila, Veracruz, México.

una de las cuatro localidades estudiadas, lo que ha originado su diversificación genética. Sin embargo, la frecuencia de los alelos específicos es baja, por lo que es necesario realizar otros estudios para identificar estas localidades.

Además de las bandas específicas, el mosaico de bandas compartidas entre las cuatro localidades indicó la similitud entre los procesos de selección y domesticación a los que ha estado sujeto el aguacatero por las diferentes culturas que lo han utilizado, y que han moldeado la estructura genética de esta especie y su diversidad. Las bandas generadas por localidad e iniciador mostraron combinaciones y frecuencias diferentes, y las frecuencias de estos alelos indicaron la interacción genética entre las cuatro localidades, probablemente debida a la polinización cruzada entre ellas y a su origen común. Las más frecuentes fueron: BB, que se observó en las cuatro localidades y OO que se observó en tres localidades (Aquila, Chocholá y La Antigua) (Figura 3).

Al calcular el porcentaje de haplotipos (Figura 4), se observó que los de mayor frecuencia: OO y BB representaron 15% y los menos frecuentes fueron los haplotipos no compartidos entre iniciadores con el 1%. Estos resultados, además de mostrar la diversidad genética del aguacatero indican la utilidad de los

iniciadores de microsatélites para estudiarla. La mayor cantidad de haplotipos compartidos indica un origen común; mientras que la distribución reticulada indica diferentes procesos evolutivos, en los que la interacción entre las diferentes

Polimorfismos por localidad

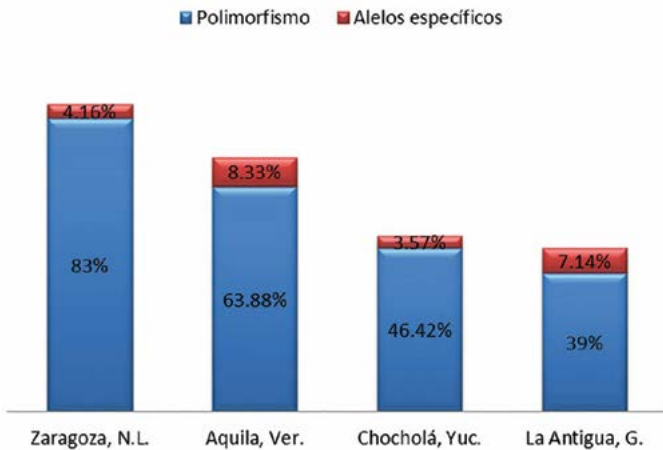


Figura 2. Porcentaje de polimorfismos de aguacatero (*Persea americana* Mill.) y bandas específicas por localidad. El porcentaje restante son las muestras nulas.

localidades ha dado origen a la actual estructura genética.

Con los datos generados se obtuvo un dendrograma (Figura 5) en el que se observan dos grupos; el grupo uno incluye a las localidades de Zaragoza, Nuevo León y Chocholá, Yucatán y el segundo grupo se conformó por las localidades de Aquila, Veracruz y La Antigua, Guatemala; lo que concuerda con lo expuesto anteriormente.

La diversidad genética se mide como la distancia genética (Nei, 1978), ya que de esta forma se muestran diferencias o similitudes a nivel genético. El Cuadro 2 muestra que las localidades de La Antigua y Aquila tienen el valor de identidad genética más alto (0.7652), lo cual explica su cercanía en el dendrograma. El otro gru-

po formado por Zaragoza y Chocholá también muestra un valor alto para identidad genética (0.6448).

El bajo valor de la distancia genética entre Aquila y La Antigua indica una estructura genética similar; mientras que el alto valor entre Zaragoza y La Antigua manifiesta la diferenciación entre las dos localidades. Estos valores y la agrupación observada en el dendrograma contribuyen a esclarecer los procesos de dispersión del aguacate, ayudados por los grandes mamíferos que migraron durante el paleoceno, debido a las glaciaciones. Barlow (2002) reportó que la dispersión del aguacate no se podría describir sin incluir la colaboración de los grandes mamíferos, como los gonfoterios y los perezosos terrestres gigantes, que transportaron sus semillas por grandes distancias. Tapia et al. (2013)

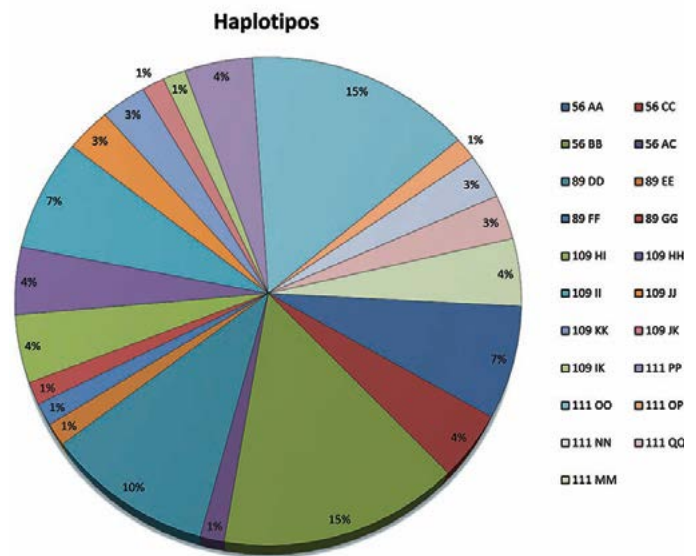


Figura 4. Porcentaje de frecuencia de los haplotipos obtenidos en aguacatero (*Persea americana* Mill.).

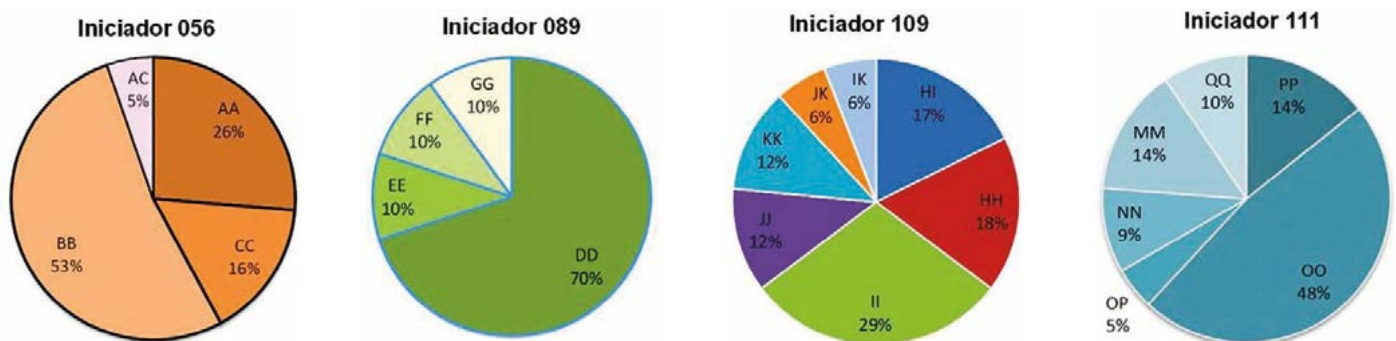


Figura 3. Porcentaje individual de los haplotipos, correspondientes a los iniciadores para microsatélites, SHRSPa056, SHRSPa089, SHRSPa109 y SHRSPa111 del aguacatero (*Persea americana* Mill.).

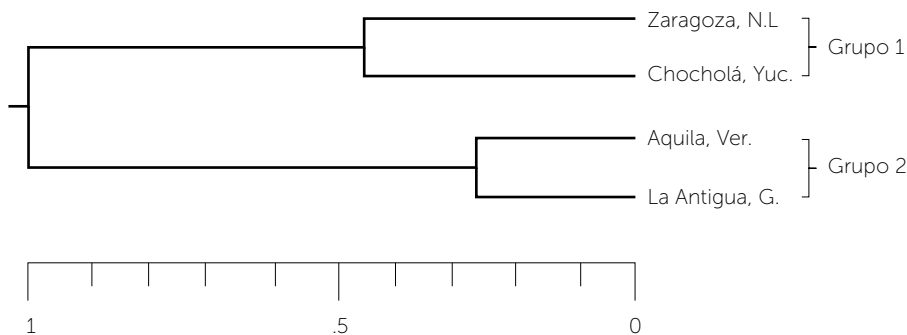


Figura 5. Dendrograma de distancias genéticas de aguacatero (*Persea americana* Mill.).

sugieren la migración de gonfoterios de America del Norte hacia América del Sur, por la costa del Pacífico y su dispersión a través del eje neovolcánico hacia la zona central de México. Esto explica la migración del aguacate desde su centro de origen en la actual Sierra Nevada (Galindo y Arzate, 2010a) hacia Mesoamérica, donde fue encontrado por el hombre a su llegada a esta área. Estos datos y la cercana relación entre las localidades de Aquila (Veracruz) y La Antigua (Guatemala) sugieren como los aguacates provenientes del área de la Sierra Nevada fueron transportados por los grandes mamíferos en su migración de Norteamérica a Suramérica por el oeste de México. Al llegar a la zona centro ocurrió una radiación, algunos mamíferos migraron hacia el sur llevando estos aguacates hasta Guatemala y otros lo llevaron hacia el oeste de México, llegando al valle de Tehuacán y Sierra de Zongolica. De esta forma aguacates del mismo origen

evolucionaron de forma diferente y posteriormente con la aparición del hombre, su domesticación dio origen a los tipos Mexicano y Guatemalteco. En otros periodos estos aguacates fueron llevados por el hombre a las Tierras Bajas Mayas, donde las diferencias edafoclimáticas y la domesticación dieron origen a otro tipo de aguacate que se separó de los aguacates Mexicano y Guatemalteco y dio origen al aguacate Antillano (Galindo y Arzate, 2010b). La relación del aguacate de la zona de las Tierras Bajas Mayas y el de Zaragoza (Nuevo León) se explica por un origen común, probablemente debido a la dispersión que ocurrió a la llegada del hombre y su adaptación a un clima similar. La importancia de la deriva genética se estima con el valor de Nm. En este caso el valor de 0.33 (menor de 1) indica una deriva genética importante, probablemente como resultado de la migración de pequeñas muestras transportadas por animales o grupos humanos.

Por otro lado, la variación genética dentro y entre poblaciones estimado con el valor de Fst, que indica el balance entre la deriva genética y el flujo genético fue de 0.43 (menor a 1) sugiriendo similitud entre las poblaciones estudiadas.

CONCLUSIONES

LOS cuatro iniciadores para microsatélites utilizados en el análisis molecular mostraron suficiente polimorfismo y reproducibilidad para realizar estudios de diversidad genética. Todas las localidades fueron polimórficas; además, cada una produjo haplotipos únicos que permiten diferenciar a las cuatro zonas. En cuanto a las relaciones genéticas, la integración de dos grupos indicó una posible dispersión de la especie durante el Paleoceno y posteriormente por el hombre, a su llegada a Mesoamérica. Las localidades estudiadas mostraron similitud genética, debido al balance de la deriva y el flujo genético ocurridos durante la migración de la zona de origen hacia Mesoamérica; así como, a una deriva genética importante.

LITERATURA CITADA

Asuar L.E. 2007. Guía practica sobre la técnica de PCR. Págs 517-552. En: Ecología Molecular. L. E. Eguiarte, V. Souza, X. Aguirre (Eds). INECC. México.

Azofeifa D.Á. 2006. Revisión bibliográfica: Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. Agronomía Mesoamericana 17: 221-242.

Cuadro 2. Distancia genética basada en Nei (1978). Los valores para identidad genética son los que están por encima de la diagonal que forman los asteriscos y por debajo de la misma, los de distancia genética para aguacatero (*Persea americana* Mill.).

Pop ID	Zaragoza	Aquila	Chocholá	La Antigua
Zaragoza (Nuevo León)	****	0.3707	0.6448	0.3353
Aquila (Veracruz)	0.9923	****	0.3958	0.7652
Chocholá (Yucatán)	0.4387	0.9269	****	0.4018
La Antigua (Guatemala)	1.0926	0.2676	0.9117	****

- Bergh B.O., Ellstrand N. 1986. Taxonomy of the avocado. California Avocado Society, 1986 Yearbook 70: 135-146.
- Barlow C. 2002. The ghosts of evolution. Perseus Books Groups. USA.
- Borrone J.W., Schnell R.J., Violi H.A., Ploetz R.C. 2006. Seventy microsatellite markers from *Persea americana* Miller (avocado) expressed sequence tags. Molecular Ecology Notes 7:439-444.
- Galindo M.E., Arzate A.M., Ogata N., Landero I. 2007. The avocado (*Persea americana*, Lauraceae) crop in Mesoamerica: 10 000 years of history. Harvard Papers in Botany 12: 325-334.
- Galindo M.E., Arzate A.M. 2010a. Consideraciones sobre el origen y primeras dispersiones del aguacate (*Persea americana*, Lauraceae). Cuadernos de Biodiversidad 33: 11-15.
- Galindo M.E., Arzate A.M. 2010b. West Indian avocado: Where did it originate? Phytón. Revista Internacional de Botánica Experimental 79: 203-207.
- Jardon L., Alavez V., Méndez V., Gaona A., Damián M.J.X., Piñero D., Petrone S., Uscanga A., Weier A.L. 2011. Análisis para la determinación de los centros de origen, domesticación y diversidad genética del género *Persea* y la especie *Persea americana* (aguacate). Compendio final. México.
- Mhameed S., Sharon D., Kaufman D., Lahav E., Hillel J., Degani C., Lavi U. 1997. Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill.) cultivars and between *Persea* species. Theoretical Applied Genetics 94: 279-286.
- Nei, M. 1978. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press.
- Promega Corporation. 2010. Wizard Genomic DNA Purification Kit. Technical Manual. USA. <http://www.promega.com>
- SIAP. 2014. www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo
- Tapia R., Guzmán F.A., Polaco O. 2013. Los gonfoterios (Proboscidea, Gomphotheriidae) de Colima, México. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana 65: 591-607.
- Williams L.O. 1976. The botany of the avocado and its relatives. Proceedings of the First International Tropical Fruit Short Course: The Avocado. 9-15 pp.
- Yeh, F.C., Boyle T.J.B. 1997. Population Genetic Analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Belgian Journal of Botany 129:157.



AP
AGRO
PRODUCTIVIDAD