



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FRUTICULTURA

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, ESTUDIO
MOLECULAR Y DETERMINACIÓN DE AZÚCARES
EN ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore
& Stearn)**

NELY ARELLANO DURÁN

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

Montecillo, Texcoco, Estado de México

2012

La presente tesis titulada: “Caracterización morfológica, estudio molecular y determinación de azúcares en zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn)”, realizada por la alumna: **Ne ly Arellano Durán** con la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

FRUTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. Ángel Villégas Monter

ASESOR



Dra. Jeannette S. Bayuelo Jiménez

ASESOR



Dr. Alejandro F. Barrientos Priego

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Julio de 2012

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, ESTUDIO MOLECULAR Y
DETERMINACIÓN DE AZÚCARES EN ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* Jacq
H.E. Moore & Stearn)**

Arellano Durán Nely, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2012

RESUMEN

La importancia del zapote mamey radica en el valor comercial de sus frutos por su uso en la alimentación humana debido a sus características organolépticas y nutricionales. México es centro de origen de este frutal, distribuyéndose en 15 estados de la república, su propagación ha sido por semilla por lo cual existe gran diversidad genética. El objetivo del presente estudio fue hacer la caracterización morfológica de 12 selecciones provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, así como el estudio molecular mediante la técnica AFLP`s incluyendo siete materiales de Guerrero y cuatro especies de la familia de las Sapotáceas (*Pouteria campechiana*, *P. fossicola*, *Manilkara zapota* y *Chrisophyllum cainito*). También se determinó el perfil y concentración de azúcares en hoja y fruto. Se evaluaron 24 características cuantitativas de árbol, hoja, fruto y semilla, a las cuales se le realizó un análisis de componentes principales y 8 características cualitativas con un análisis de correspondencia simple. Así mismo se hizo el análisis de conglomerados. Los primeros cuatro componentes principales explicaron el 82 % de la variación total. Las características más discriminantes para diferenciar entre materiales fueron principalmente del fruto (peso de fruto, peso de mesocarpio, peso de epicarpio, peso de semilla y longitud de fruto). Mientras que el análisis de correspondencia mostró que las variables cualitativas más discriminantes fueron forma del fruto y variegación de la semilla. Mediante el análisis de conglomerados se formaron 5 grupos. Los marcadores AFLP`s mostraron pocas bandas polimórficas (81), sin embargo, se logro separar claramente las cuatro especies de

sapotáceas diferentes a mamey. Por otra parte las selecciones de mamey no lograron agruparse de acuerdo a su lugar de origen a excepción de los materiales de Guerrero. En la determinación de azúcares en hoja y fruto se encontró, estaquiosa, sacarosa, fructosa y glucosa. En hoja estaquiosa fue la de mayor concentración ($2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de peso de materia fresca) y en fruto fue sacarosa ($11.66 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ pmf).

Palabras clave: *Pouteria sapota*, diversidad, análisis de conglomerados, marcadores moleculares, azúcares, estaquiosa.

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION, MOLECULAR STUDY AND SUGAR DETERMINATION IN ZAPOTE MAMEY (*Pouteria sapota* Jacq H.E. Moore & Stearn)

Arellano Durán Nely, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2012

ABSTRACT

The importance of sapote mamey is the market value of the fruit for use in human food because of the organoleptic and nutritional characteristics. Mexico is the center of origin of this fruit, distributed in 15 states of the republic, the spread is by seed and in consequence exist a great genetic diversity. The objective of this study was to realize the morphological characterization of 12 selections from Puebla, Veracruz and Yucatan, and molecular study by AFLP`s of seven materials from Guerrero and four species of the family Sapotaceae (*Pouteria campechiana*, *P. fossicola*, *Manilkara zapota* and *Chrisophyllum cainito*) were included. The profile and concentration of sugars in leaf and fruit were determined. 24 quantitative characteristics of tree, leaf, fruit and seed were evaluated using a principal components analysis and 8 quality characteristics with a simple correspondence analysis. The first four principal components explained 82% of the total variation. The most discriminating characteristics to differentiate between materials were mainly belonging to the fruit (fruit, mesocarp, epicarp, and seed weight and fruit length). While correspondence analysis showed that the most discriminant qualitative variables were shape of the fruit and seed variegation. Cluster analysis formed 5 groups, which differ mainly by the weight of fruit, mesocarp, epicarp and mesocarp weight ratio/seed weight. AFLP's markers showed few polymorphic bands (81), however, was achieved clearly separate the four different species of Sapotaceae to mamey. Moreover mamey selections were unable to group according to their place of origin except the materials from Guerrero. In the

determination of sugars in leaves and fruit stachyose, sucrose, fructose and glucose was found. In leaf stachyose was the highest concentration ($2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ of weight of fresh matter), while in fruit was sucrose ($11.66 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ wfm).

Key words: *Pouteria sapota*, diversity, cluster analysis, molecular markers, sugar, stachyose.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados por darme la oportunidad de crecer mediante mi formación académica en esta institución.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico recibido durante mis estudios de maestría.

Al Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología (SINAREFI) por el financiamiento para que se llevara a cabo la presente investigación.

A Dios por darme esta vida al lado de personas extraordinarias, por ser mi guía constante y permitirme lograr una más de mis metas.

A mis padres Lucia Durán Ramírez y Guillermo Arellano Hernández quienes siempre han estado al pendiente guiándome y de quienes solo he recibido todo el apoyo incondicional.

Al Dr. Ángel Villegas Monter por la dirección en la realización de la presente tesis, por su paciencia y apoyo durante toda la investigación.

A la Dra. Jeannette Bayuelo Jiménez por su valiosa revisión y sugerencias al presente estudio.

Al Dr. Alejandro F. Barrientos Priego por sus observaciones y acertadas sugerencias para mejorar el presente trabajo.

Al Dr. Víctor Gonzáles, al Dr. Iván Ramírez Ramírez y a la Dra. Ana Bertha Cruz, por las facilidades brindadas en el laboratorio de fisiología durante la determinación de azúcares por brindarme su conocimiento y asesoría durante esta fase.

Al Dr. Baldomero Alarcón Zúñiga, a la Dra. Rosario Venegas Ordóñez y al Dr. Moisés A. Cortés Cruz por guiarme durante la fase de laboratorio por todas sus sugerencias y apoyo para que saliera el trabajo.

A todas aquellas personas que estuvieron conmigo durante este proceso de crecimiento y formación, por todo su apoyo gracias...

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Lucia Durán Ramírez y Guillermo Arellano Hernández, por ser mi ejemplo a seguir, por la motivación y apoyo constante y enseñarme que en la vida hay que trabajar mucho para lograr el objetivo, a ellos les dedico este trabajo.

A toda mi familia y a las personas que han estado al pendiente de mí y que gracias a su apoyo y compañía hacen mi vida más feliz...

Nely

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xvi
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	3
HIPÓTESIS	3
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Origen e importancia del zapote mamey	4
Descripción botánica	4
Situación del zapote mamey en México	6
Selecciones	7
Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales	7
Marcadores genéticos	8
Marcadores morfológicos	8
Marcadores moleculares	9
Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)	10
Amplificación al azar del ADN polimórfico (RAPD)	10
Simples secuencias repetidas (SSR)	11
Polimorfismos de la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP)	11
Caracterización en frutales y sapotáceas	13
Caracterización de especies vegetales mediante técnica de AFLP	16
Azúcares en hoja	17
Azúcares en fruto	19
MATERIALES Y MÉTODOS	21
Material vegetal	21
Caracterización morfológica	21
Determinación de azúcares en hoja y fruto	26
Análisis molecular mediante AFLP	28
Aislamiento de ADN genómico	29
Cuantificación de ADN	30

Marcadores AFLPs (Polimorfismos de la longitud de los fragmentos amplificados)	31
Digestión	31
Ligación.....	32
Pre-amplificación	32
Amplificación selectiva.....	32
Electroforesis en gel de poliacrilamida.....	34
Tinción con nitrato de plata.....	34
Análisis estadístico.....	35
Caracterización Morfológica	35
Determinación de azúcares en hoja y fruto.....	37
Análisis molecular mediante AFLP	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
Caracterización morfológica	39
Análisis de componentes principales	44
Análisis de conglomerados	48
Análisis de correspondencia simple	54
Análisis de conglomerados	58
Determinación de azúcares en hoja y fruto.....	62
Análisis molecular mediante AFLP´s.....	67
Nivel de polimorfismo.....	67
Análisis de agrupamiento	69
Comparación entre datos morfológicos y AFLPs	75
CONCLUSIONES	76
LITERATURA CITADA.....	77
ANEXOS	91

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Datos de pasaporte de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) de Puebla, Veracruz y Yucatán usadas en caracterización morfológica.	24
Cuadro 2. Características cuantitativas utilizadas en la caracterización morfológica de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.	25
Cuadro 3. Características cualitativas utilizadas en la caracterización morfológica de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.	26
Cuadro 4. Lista de materiales para aislamiento de ADN genómico de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) y cuatro especies más.	29
Cuadro 5. Mezcla para la digestión de ADN genómico con la enzima MseI y EcoRI en el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).....	31
Cuadro 6. Mezcla para ligación de adaptadores en el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).	32
Cuadro 7. Mezcla para la pre-amplificación de ADN en el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).	33
Cuadro 8. Combinaciones de iniciadores para el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).	33
Cuadro 9. Mezcla para amplificación selectiva de ADN en el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).	34
Cuadro 10. Valores promedios, mínima, máxima, desviación estándar y coeficiente de variación de 24 características cuantitativas evaluadas en	

12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.	43
Cuadro 11. Valores propios, varianza absoluta y acumulada explicada por cuatro componentes principales con base en la matriz de correlaciones de 24 características cuantitativas de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.....	44
Cuadro 12. Vectores propios de 24 características cuantitativas de los primeros cuatro componentes principales en 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.....	46
Cuadro 13. Medias de los cinco grupos formados por I análisis de conglomerados a partir de 24 características cuantitativas en 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).	53
Cuadro 14. Valores de descomposición de la inercia y Chi-cuadrada del análisis de correspondencia simple de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.....	54
Cuadro 15. Contribuciones relativas (CR) y absolutas (CA) asociadas a los principales ejes del análisis de correspondencia simple en 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.	55
Cuadro 16. Características de cinco grupos formados por el análisis de conglomerados a partir de ocho variables cualitativas en 12 selecciones de sapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).....	61
Cuadro 17. Concentración y tipo de azúcares ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de peso de materia fresca), determinado por HPLC en hojas de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) de 9 selecciones.	64
Cuadro 18. Concentración y tipo de azúcares ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de peso de materia fresca), determinado por HPLC en frutos de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) de 9 selecciones.	67

Cuadro 19. Combinaciones de AFLP que presentaron polimorfismo en 19 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn), *P. campechiana*, *P. fossicola*, *Manilkara zapota* y *Chrisophyllum cainito*..... 68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Región noroeste del estado de Puebla, norte de Veracruz, sierra de Guerrero y occidente de Yucatán, México.	21
Figura 2. Representación de L* C* h* en un espacio de color (Minolta, 2007).	23
Figura 3. Curva de calibración de azúcares	28
Figura 4. Dispersión de acuerdo a la variabilidad morfológica de los dos primeros componentes principales de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.....	47
Figura 5. Dendrograma de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) construido con el método de UPGMA, a partir de 24 características cuantitativas. Correlación cofenética $r= 0.77$	52
Figura 6. Distribución de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México, en base a dos ejes principales del análisis de correspondencia simple a partir de ocho variables cualitativas.	57
Figura 7. Dendrograma de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) construido con el método de UPGMA, a partir de ocho características morfológicas cualitativas. Correlación cofenética $r= 0.90$	60
Figura 8. Concentración y tipo de azúcares en hojas de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) determinado por HPLC. ² Medias seguidas de la misma letra en cada columna no difieren significativamente entre sí (Tukey, $P\leq 0.05$).	62
Figura 9. Concentración y tipo de azúcares en general en frutos de 12 selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) determinado por HPLC. ² Medias seguidas de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, $P\leq 0.05$).	65

- Figura 10.** Dendrograma de agrupamientos UPGM de 19 selecciones de zapote mamey y tres especies de la misma familia: *Pouteria fossicola*, *P. campechiana*, *Chrisopyllum cainito* y *Manilkara zapota* coeficiente cofenético ($r = 0.99$). 72
- Figura 11.** Dendrograma de agrupamientos UPGM de 19 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla Veracruz Yucatán y Guerrero, Mexico. Coeficiente cofenético ($r = 0.84$). 73

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A. Matriz en base a las distancias euclidianas de características cuantitativas evaluadas en zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).....	91
Anexo B. Matriz en base a las distancias euclidianas de ocho características cualitativas evaluadas en selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn).....	92
Anexo C. Matriz de similitud entre selecciones de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i> Jacq. H.E. Moore & Stearn) acuerdo al índice de Jaccard a partir de datos molecula	93

INTRODUCCIÓN

El zapote mamey es originario del sur de México y Centro América (Yucatán, Belice, Guatemala, Norte de Honduras y Nicaragua) (Pennington, 1990). En México se puede encontrar en forma natural o bien en cultivos establecidos en los estados de Yucatán, Guerrero, Chiapas, Michoacán, Tabasco, Veracruz, Edo., de México, Colima, Puebla, Oaxaca, Morelos, Campeche, Hidalgo, Jalisco y Nayarit; siendo Yucatán el estado con mayor número de hectáreas en producción (374 ha, SIACON, 2010).

La diversidad genética en esta especie es amplia, dado que la mayoría de las plantaciones provienen de semilla (Villegas y Mora, 2008; Andrade *et al.*, 2008). La diversidad es también fuente de material genético para futuros trabajos que conlleven al registro de variedades así como al mejoramiento genético y la conservación, ésta última de vital importancia para México debido a que es centro de origen de zapote mamey.

Uno de los pasos iniciales para la conservación y protección del germoplasma es la caracterización del recurso genético mediante la medición de las características morfológicas, bioquímicas y moleculares (Picca *et al.*, 2004).

A la fecha, se han realizado escasas investigaciones sobre la caracterización morfológica de zapote mamey (Espinosa *et al.*, 2005, Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2006, Gaona-García *et al.*, 2008). En particular, Bayuelo-Jiménez *et al.* 2006, realizaron un estudio de caracterización morfológica en 44 accesiones del Estado de Michoacán y los resultados mostraron que las características del fruto: peso, longitud, diámetro, espesor, peso del mesocarpio, relación longitud/diámetro, forma, aroma y textura fueron determinantes en diferenciar la variabilidad morfológica entre accesiones. Similarmente, los estudios realizados en selecciones del Estado de Morelos (Gaona-García *et al.*, 2008) y Guerrero (Espinosa *et al.*, 2005) demostraron que la mayor variabilidad morfológica de la especie esta contenida en caracteres del fruto, particularmente en el peso, tamaño y color del fruto, cáscara, pulpa y número de

semillas. Gazel, *et al* (1999) también reportó que el diámetro, peso y longitud de fruto y la semilla son componentes importantes en la diferenciación de accesiones. Los estudios de caracterización bioquímica del fruto, demuestran que la relación de sólidos solubles totales y acidez titulable del mesocarpio (Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2007), azúcares totales, azúcares reductores, sacarosa, acidez, pH, contenido de proteínas y carbohidratos (Morera, 1992, Gazel, *et al.*, 1999; Alia-Tejacal *et al.*, 2002) son importantes en la estimación de la diversidad en mamey.

En lo que se refiere a estudios moleculares, Carraca *et al.* (2004) desarrollaron AFLP's en 41 selecciones de zapote mamey provenientes de la colección del jardín botánico Tropical Fairchild y de la Universidad de Florida, con accesiones procedentes de Cuba Yucatán, Petén, Guatemala, Belice, Guatemala, el Salvador, Nicaragua y Costa Rica. Los marcadores moleculares mostraron que la diversidad genética es mayor en las accesiones de Centro América.

Las evaluaciones de diversidad de especies como aguacate (Rodríguez-Medina *et al.*, 2003), mandarina (Tapia *et al.*, 2005), mango (Gálvez, 2006) y tejocote (Franco-Mora *et al.*, 2009) integraron mayor información debido al uso en conjunto de características morfológicas, bioquímicas y moleculares. En zapote mamey no hay un reporte que reúna esta información por lo que la presente investigación tuvo como objetivo estudiar la variabilidad entre 19 materiales de las zonas productoras de Guerrero, Puebla, Veracruz y Yucatán a través de la caracterización morfológica a nivel de planta, la determinación del perfil de azúcares y el estudio molecular de AFLP's en zapote mamey.

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la diversidad morfológica, bioquímica y molecular de 19 selecciones de zapote mamey provenientes de los Estados de Guerrero, Puebla, Veracruz y Yucatán.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir las características morfológicas determinantes en la variabilidad de las selecciones de zapote mamey.
- Estimar la diversidad genética en las selecciones de estudio mediante marcadores AFLP's.
- Determinar el contenido y perfil de azúcares presentes en fruto y hoja de zapote mamey.

HIPÓTESIS

- La procedencia de las selecciones de zapote mamey afecta las características morfológicas, así como contenido de azúcares en hoja y fruto.
- Los marcadores moleculares AFLP's serán capaces de diferenciar entre selecciones de acuerdo a su origen.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen e importancia del zapote mamey

El zapote mamey es originario del sur de México y Centro América, se ubica desde la Península de Yucatán, Guatemala, Belice, Norte de Honduras y Nicaragua (Pennington, 1990).

La importancia del zapote mamey radica en el valor comercial de sus frutos y en el uso en la alimentación humana. Es una fruta exótica y debido a sus características organolépticas y nutricionales se consume en fresco (Azurdia, 2006). Los materiales de buena calidad se caracterizan por tener frutos de una semilla con cáscara dura mesocarpio suave y de aroma intenso (Espinosa *et al.*, 2005; Gaona-García *et al.*, 2008).

A esta especie se le ha dado diferentes nombres científicos: *Sideroxylum sapota* (Jacquin, 1760); *Achras zapota* (Linnaeus, 1753); *Achras zapota major* (Jacquin, 1753); *Achras mammosa* (Linnaeus, 1780); *Achras mammosum* (Linnaeus, 1860); *Calocarpum mammosum* (Linnaeus, 1904); *Calocarpum sapota* (Jacquin, 1923); *Pouteria mammosa* (1946) y *Pouteria sapota* (Jacquin) H.E. Moore & Stearn (1967), (Pennington, 1990; Azurdia, 2006).

En México se le atribuyen diferentes nombres vernáculos tales como mamey, zapote mamey, mamey colorado, atzapotlcuahuitl (nahuatl), haaz, chacal-haaz (maya, Yucatán) ca-ac, potkak (mixe, Oaxaca), cuyg'auac (popoluca, Veracruz), guela-gue, guandashuno (zapoteco, Oaxaca), uacusiuruata, huacuz (tarasco, Michoacán) y taquisapane (zoque, Chiapas) (Azurdia, 2006).

Descripción botánica

El zapote mamey pertenece a la familia de las Sapotáceas. El árbol es de copa abierta, tronco central grueso con ramificaciones. De acuerdo a Morton (1987), la altura

varía desde 18 hasta 50 m y el diámetro de un metro o más, la corteza es color pardo, agrietada que al cortarla exuda látex blanco utilizado en la fabricación de goma (Balerdi y Crane, 2009).

El peciolo de las hojas presenta pubescencia color marrón, de 2 a 5 cm. Las hojas se encuentran agrupadas en los ápices de las ramas, son de forma ovada o lanceoladas de 10 a 30 cm de largo y 4 a 10 cm de ancho de 20 a 25 pares de nervaduras secundarias, casi perpendiculares a la nervadura central; en el envés son de color verde claro o marrón y pubescente cuando son jóvenes; ya maduras son glabras (Morton, 1987; Pennington, 1990; Azurdia, 2006 Balerdi y Crane 2009). Ledesma *et al.*, (2011) reportan que miden 15.4 cm de largo y 3.9 cm de ancho en materiales de Alpoyeca, Guerrero.

Las flores emergen de las axilas de las hojas caídas a lo largo de las ramas, surgen en grupos de 6 a 12, son sésiles, pequeñas, perfectas, y de color blanco o amarillo pálido (Morton, 1987; Balerdi y Crane, 2009). Domínguez-Ordoñez *et al.* (2007) mencionan que en materiales de Alpoyeca, Guerrero, presentan de 6 a 16 flores por inflorescencia.

El fruto es una baya, de forma ovoide o elipsoidal, su tamaño fluctúa entre 7.5 y 22.8 cm de largo y su peso puede ser de 227 a 2300 g (Morton, 1987). La cubierta es gruesa y leñosa, la pulpa del fruto maduro puede ser color salmón, naranja, roja con textura suave y uniforme a finamente granulada. Por lo regular, la pulpa tiene pequeñas cantidades de fibras (Balerdi y Crane, 2009).

Los frutos de mamey tienen de una hasta cinco semillas, de forma elipsoidal, de color negro brillante, el hilio es blancuzco conspicuo, presenta un embrión plano convexo y la radícula se extiende hasta la superficie de la semilla, presenta fuerte aroma a almendras (Azurdia, 2006).

Situación del zapote mamey en México

En México existen diferentes estados en los cuales se puede encontrar zapote mamey de forma natural o bien en cultivos establecidos.

SIACON (2010), reporta 1,511 ha cultivadas, de las cuales los Estados de Yucatán (403 ha), Guerrero (389 ha), Chiapas (162 ha) Michoacán (146 ha) y Tabasco (104 ha) ocupan la mayor superficie de cultivo. En menor extensión, se encuentran los Estados de Veracruz (49 ha), Edo. de México (44 ha), Colima (42 ha), Puebla (40 ha), Oaxaca (40 ha), Morelos (38 ha), Campeche (33 ha). El resto lo ocupan el Estado de Hidalgo Jalisco y Nayarit.

Magaña (2006) menciona que en Yucatán se cultivan aproximadamente 700 ha de zapote mamey con más de 11 selecciones y sus rendimientos son de hasta 15 t ha⁻¹. En este Estado se usan plantas injertadas principalmente de dos selecciones: Magaña 1 y 2, provenientes de una selección realizada por el Sr. Carlos M. Magaña R. en Akil, Yucatán, México (Cituk *et al.*, 2008).

López *et al.* (2008), señalan que en Chiapas se encuentra zapote mamey en la zona del Soconusco y Selva Palenque, mientras que en Tabasco se encuentra asociado con plantaciones de cacao. En el Estado de Morelos se cultiva en los municipios de Coatlán del Río y Tetecala de la Reforma en pequeñas extensiones. Martínez *et al.* (2008) mencionan que en Tabasco, la comercialización no es buena ya que la calidad es baja debido a daños por hongos y mosca de la fruta, sin embargo; tiene potencial de producción. SIACON (2010), indica que en los Estados de Yucatán, Guerrero, Chiapas y Michoacán es donde se cultiva más de 70% de zapote mamey. Sin embargo, hay varios estados que tienen microclimas donde se puede desarrollar el cultivo.

Selecciones

En general, la propagación de zapote mamey se realiza por semilla y es por ello que existe una amplia variabilidad en el tamaño y forma de fruto, el color de la pulpa y otras características (Andrade *et al.*, 2008; Villegas y Mora, 2008).

A pesar de que México es el centro de origen de zapote mamey, aún no se tienen variedades registradas. En Florida, se tienen materiales con características sobresalientes: Pantini, Magaña, Copan, Mayapan, Tazumal, AREC No. 3, Piloto, Pace, Florida, Lara, Chenox, Abuelo, Francisco Fernández, Flores y Viejo (Balerdi y Crane, 2009), sin embargo, aún no están registradas ya que hasta el momento no existen descriptores para mamey y solo podrían considerarse como materiales introducidos de México, Guatemala, El Salvador y Cuba.

Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales

El proceso de evolución y domesticación dan como resultado la variabilidad entre miembros de la población que forman una especie. La variabilidad contenida en el genoma puede ser aquella expresada en características visibles que dan como resultado el fenotipo o bien las que no son visibles, sino más bien el resultado de procesos y productos internos (Hidalgo, 2003).

La diversidad genética de las plantas regularmente está amenazada por la pérdida de su hábitat, cambio climático, sobreexplotación y el crecimiento demográfico, factores que constantemente están en aumento. Es por ello que la conservación de los recursos genéticos cada vez tenga mayor importancia a nivel mundial y sea motivo de preocupación mantener mayor número de especies conservadas no sólo en su centro de origen, sino también en aquellos lugares donde su uso tiene importancia o potencial (Hidalgo, 2003; Picca *et al.*, 2004).

Mediante la caracterización se estima la variabilidad existente en el genoma de la población de una especie. El genoma tendrá toda la información codificada en forma de genes que se requieren tanto para establecer su identidad morfológica como para desarrollar los procesos y funciones vitales para su supervivencia (Hidalgo, 2003).

Marcadores genéticos

Según Bretting y Widrechner (1995), los marcadores genéticos se caracterizan principalmente por 1) ser polimórficos, existen varios alelos por locus; 2) deben ser altamente heredables, es decir que la expresión fenotípica no sea afectada (relativamente) por las variaciones de ambiente o por la interacción genotipo ambiente; 3) de herencia simple, o bien genes Mendelianos con alelos codominantes, este tipo de marcadores son de fácil interpretación (alelo/locus); 4) la variedad de fenotipos de un tipo de marcador ideal pueden estar regidos por diferentes loci que están dispersos en todo el genoma. Finalmente se espera que un marcador pueda ser evaluado en un estado temprano del ciclo de vida de la planta (idealmente en la fase embrionaria).

Los primeros marcadores genéticos empleados en el mejoramiento de plantas eran controlados con genes asociados a características morfológicas de fácil interpretación visual (Nuez y Carrillo, 2000). Posteriormente, se desarrollaron los marcadores isoenzimáticos (bioquímicos) y con el surgimiento de nuevas técnicas de la biología molecular, surgieron métodos para detectar polimorfismos a nivel de ADN (Nuez y Carrillo, 2000)

Marcadores morfológicos

Los marcadores morfológicos son los más antiguos y ampliamente usados en el manejo del germoplasma. Estos marcadores son de fácil uso pero su empleo es limitado debido a que presentan dominancia (que existan más de dos variantes o alelos de un gen y solo se expresa el alelo dominante), epístasis e incluso algunos son deletéreos. Estos rasgos o atributos se vuelven importantes descriptores en el registro

de nuevas variedades (Bretting y Widrechner, 1995; Hidalgo, 2003; Martínez *et al.*, 2010).

Marcadores moleculares

Un marcador molecular es una secuencia de ADN o proteína que puede ser fácilmente detectada y cuya herencia puede ser monitoreada (CIAT, 2007). Agarwal *et al.* (2008) mencionan que un marcador molecular se define como un segmento particular de ADN que es representativo de las diferencias en el genoma. Así mismo, los marcadores moleculares consideran metodologías para aislar, cortar y visualizar moléculas de ADN (fragmentos) y conocer el grado de polimorfismo (Karp *et al.*, 1997).

Las ventajas de los marcadores moleculares es que son considerados neutros, debido a que no son afectados por el ambiente, se puede analizar toda la planta o parte de ella, en sus primeros estados de desarrollo (Masuelli, 1999; Agarwal *et al.*, 2008).

La importancia de los marcadores moleculares se basa en la infinidad de aplicaciones que tienen en la conservación y uso de los recursos genéticos, elaboración de mapas genómicos, análisis de germoplasma, nuevas fuentes de variación, etiquetado de genes que controlan caracteres de importancia comercial, elaboración de mapas loci con rangos cuantitativos, estudio de introgresión de genes y estudios taxonómicos (Moore y Durham, 1992; Nuez y Carrillo, 2000; Wilches, 2004).

Las técnicas moleculares más utilizadas son: polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), amplificación al azar de ADN polimórfico (RAPD), amplificación de la longitud de los fragmentos de restricción polimórficos (AFLP) (García-Mas *et al.*, 2000; Picca *et al.*, 2004) y la conocida como microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR) (Wilches, 2004). Todas las anteriores son basadas en la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) a excepción de los RFLP (Mondini *et al.*, 2009).

La técnica PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) fue descrita por Mullis (1985). Es un procedimiento eficaz que genera grandes cantidades de una secuencia específica de ADN a partir de una cadena doble de ADN que actúa como molde, dos oligonucleótidos sintéticos también llamados iniciadores, enzima ADN polimerasa termoestable (Taq polimerasa de *Thermus aquaticus*) y cuatro dioxirribonucleótidos sintéticos (dNTP's) que forman la cadena de ADN (Valadez y Günter, 2005). Esta amplificación se consigue a través de ciclos repetidos de reacciones enzimáticas. La reacción consta de tres pasos: a) desnaturalización, en la cual se separa la doble cadena ADN en dos sencillas, de 90 a 95° C, b) alineamiento, donde los iniciadores reconocen la secuencia original del ADN, esto sucede de 50 a 60° C y c) la extensión de la molécula iniciadora con ayuda de la Taq polimerasa uniendo los dNTP's a 72°C (Valadez y Günter, 2005).

Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)

La técnica RFLP permite distinguir organismos entre sí, mediante análisis de los patrones que surgen al digerir ADN genómico en pequeños fragmentos, si dos organismos son diferentes, en la distancia que exista entre dos sitios de ruptura particular, la longitud de los fragmentos generados será distinta cuando el ADN se digiera con una enzima de restricción. La metodología consiste en digestión de ADN y amplificación en gel de agarosa para observar los fragmentos obtenidos (Wilches, 2004; Weising *et al.*, 2005).

Amplificación al azar del ADN polimórfico (RAPD)

Los RAPD's se obtienen mediante amplificación por PCR el ADN genómico usando un único cebador, normalmente de 10 nucleótidos de longitud. Esta técnica permite amplificar de manera aleatoria el genoma de un individuo en aquellas zonas en las que los cebadores hibridan con ADN molde en ambas cadenas y en direcciones opuestas. Se heredan de manera mendeliana y la técnica tiende a producir marcadores

dominantes. La técnica se divide en la reacción de PCR y la electroforesis donde se lleva a cabo la visualización de la amplificación (Nuez y Carrillo, 2000).

Simples secuencias repetidas (SSR)

Los microsatélites o secuencias simples repetidas son regiones de secuencias pequeñas (dos a 10 pares de bases) repetidas, arregladas en serie, las cuales se asume que están distribuidas azorosamente por todo el ADN. Estas regiones son a menudo altamente variables y consecuentemente útiles para medir el polimorfismo entre especies o variedades relacionadas (Nuez y Carrillo, 2000, Azofeifa, 2006).

Polimorfismos de la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP)

Estos son marcadores de alta eficiencia, permiten el análisis de un elevado número de loci por experimento sin requerir información previa de su secuencia, en la mayoría dominantes y altamente reproducibles (Weising *et al.*, 2005; Azofeifa, 2006). Es una de las técnicas más recientes, usadas en trabajos de identificación de genotipos repetidos en colecciones de germoplasma, diversidad y relaciones genéticas en vid (Martínez *et al.*, 2003), agave (Gil-Vega *et al.*, 2005) banana (Wongniam *et al.*, 2010), así como caracterización en aguacate (Rodríguez-Medina *et al.*, 2003), piña (Yanes *et al.*, 2005) y papaya (Alonso *et al.*, 2009).

Esta técnica se basa en la amplificación selectiva por medio de PCR de fragmentos de restricción del total de ADN genómico digerido. Los pasos que considera son la digestión de ADN, ligación de adaptadores, amplificación y análisis en geles de acrilamida para su visualización (Vos *et al.*, 1995; CIMMYT, 2006).

El primer paso se basa en la digestión, el cual se lleva a cabo una vez que se tiene ADN de alta calidad, por medio de dos enzimas de restricción también llamadas endonucleasas (Mondini *et al.*, 2009), de las cuales una es de corte raro *Eco RI* que

reconoce de 6 a 8 pares de bases, y otra corte frecuente *MseI* que reconoce 4 pares de bases (Masiga y Turner, 2004).

El siguiente paso es la ligación de adaptadores, donde fragmentos de ADN doble cadena de 20 a 30 pares de bases llamados adaptadores previamente alineados son ligados de manera específica a los extremos de los fragmentos obtenidos en la digestión, lo que da como resultado el molde para la amplificación siguiente (García-Mas *et al.*, 2000; Martínez *et al.*, 2010). Después de la ligación se lleva a cabo la amplificación selectiva (Fry *et al.*, 2009) o bien pre-amplificación (CIMMYT, 2006), mediante PCR se amplifican fragmentos utilizando iniciadores de aproximadamente 20 nucleótidos que tienen secuencia específica complementaria a los adaptadores y además un nucleótido selectivo adicional en su extremo 3'. El producto de la pre-amplificación se emplea como molde de una nueva amplificación (amplificación selectiva) utilizando iniciadores que poseen 3 nucleótidos selectivos adicionales (Martínez *et al.*, 2010). Finalmente el producto de la amplificación selectiva se visualiza en geles de poliacrilamida desnaturalizantes, si uno de los iniciadores es marcado radioactivamente se observa mediante autoradiografía (Masuelli, 1999; CIMMYT, 2006).

Los marcadores antes mencionados tienen ciertas características que deben ser tomadas en cuenta:

- a) Nivel de polimorfismo: en isoenzimas es bajo, mientras que RFLP, RAPD, AFLP es medio, y en SSR alto.
- b) Dominancia: las Isoenzimas son por lo regular codominantes al igual que los RFLP y SSR, mientras que los RAPD y AFLP son dominantes.
- c) Número de loci: todos los marcadores, Isoenzimas, RFLP, RAPD, AFLP y SSR son multiloci.
- d) Abundancia en el genoma: Isoenzimas es baja, RFLP y SSR media, AFLP alta, y RAPD muy alta (Azofeifa, 2006).

Azofeifa (2006) mencionó el uso de distintos marcadores en el análisis la diversidad genética de frutales tropicales. El uso de RFLP para analizar la diversidad genética de

Theobroma cacao L., *Cocos nucifera* L., *Caricaceas*, *Cucumis melo* L., y *Musa* spp. El uso de RAPD en el caso de *Ananas* y *Pseudoananas*, *Carica papaya*, *Psidium* spp. *Manilkara sapota* (L.), *Bertholletia excelsa* Humb.& Bonpl (nuez de Brasil) y AFLP en el análisis genético de *Anacardium occidentale* L., *Elaeis guineensis* Jacq., *Euterpe edulis* Mart., *Bactris gasipaes*, *Theobroma cacao* L. *Mangifera indica*, *Ananas comosus*, *Carica papaya*, *Vasconcella* spp., *Jacaratia* spp. y *Artocarpus altilis* (fruta de pan). La comparación entre marcadores moleculares para el análisis de la diversidad genética de frutales demostró que los AFLP proporcionan mayor información y discriminación con respecto a los restantes.

Caracterización en frutales y sapotáceas

Existe poca información relacionada con caracterización de zapote mamey. A la fecha, no existen descriptores para esta especie.

Gazel, *et al.* (1999) caracterizaron morfológica y químicamente la colección de germoplasma de sapote mamey del CATIE. Evaluaron características del fruto, árbol y hoja. Observaron que las variables mas significativas para la discriminación entre grupos fueron: diámetro, peso y longitud de fruto, longitud de hoja y semilla, sólidos totales, azúcares totales, azúcares reductores, sacarosa, contenido de proteínas y carbohidratos, acidez, pH, distribución de la floración, producción, época de floración y fructificación. La clasificación de los materiales se dio de acuerdo a su origen.

En la Cañana de Huamuxtitlán, Guerrero se caracterizaron materiales de zapote mamey seleccionados por los productores con base a características sobresalientes del fruto: color, sabor y tamaño. De 11 materiales se midió el largo, ancho e índice de relación largo/ancho; proporción de pulpa semilla y epicarpio con respecto al peso total, color de pulpa y semilla así como color de epicarpio, cantidad y desprendimiento de escamas. De acuerdo a lo anterior 'Díaz', 'Pardo' II y 'Risueño' fueron los mas sobresalientes por tener entre 81 a 83 % de pulpa roja con poca fibra y una semilla (Espinosa *et al.*, 2005).

Por otra parte, en materiales de zapote mamey del Centro-Occidente de Michoacán, municipios de Ziracuaretiro, Taretan y Nuevo Urecho, se realizó la caracterización en base a parámetros morfológicos cualitativos y cuantitativos de 44 árboles. Se evaluó altura del árbol y diámetro del tronco a la altura del pecho; peso, longitud y diámetro de fruto, así como relación largo-diámetro, relación peso de fruto-peso semilla y forma; del mesocarpio se considero la textura, aroma, peso, color, y de la semilla número, peso, largo y diámetro, también se peso el epicarpio y se midió el grosor (Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2006). Los autores señalaron que las características de fruto y mesocarpio fueron las de mayor aportación a variabilidad morfológica de las accesiones.

Bayuelo-Jiménez *et al.* (2007), caracterizaron 118 genotipos de tres municipios del estado de Michoacán, considerando del árbol: altura, diámetro del tronco y hábito de crecimiento, del fruto: forma, peso, longitud, ancho, relación largo/ancho, relación peso/pulpa peso semilla; de la pulpa: peso, grosor, sabor, textura, color, pH, acidez, proteína, ceniza, solidos solubles totales, contenido de humedad; de la semilla: peso, longitud, ancho y número, también se peso el epicarpio y se midió el grosor. Mencionan que tanto peso del fruto, como del mesocarpio fueron determinantes para diferenciar selecciones, mismas características que definen tamaño de fruto y por tanto, la preferencia del consumidor, en el caso de las características químicas la relación solidos solubles totales y acidez titulable fueron las de mayor variación entre frutos.

Gaona-García *et al.* (2008) caracterizaron frutos de zapote mamey de 19 materiales localizados en el estado de Morelos, donde se evaluaron dimensiones de fruto, masa, longitud, diámetro, índice de relación longitud/ancho, también peso de epicarpio, semilla y pulpa, así como grosor de epicarpio; en pulpa: contenido se sólidos solubles y azúcares solubles totales, luminosidad, matiz y cromaticidad. Las variables que representaron mayor variabilidad fueron; peso de fruto, largo, ancho, número y peso de semillas, concentración de azúcares y grosor de pulpa.

Batista y Philo (2002), caracterizaron 13 árboles de *Manilkara zapota* (L.) P. Royen establecidos en el CATIE, en base variables morfológicas del árbol, fruto y análisis químico de éste, así como características de semilla y hoja. Mencionan que de 31 características evaluadas, sólo el diámetro de fruto, diámetro de copa, rendimiento, largo de hoja, acidez y glucosa fueron determinantes en la variabilidad entre materiales. Así mismo, Heaton *et al.*, (1999), en la misma especie compararon diversidad morfológica y molecular en cuatro poblaciones mediante el uso de RAPD, sin embargo; el análisis de esos marcadores no mostró diferencia genética, lo que puede inferir que no existe un componente genético en la variación morfológica observada, más bien se deba a factores ambientales, o a la falta de correlación entre los loci RAPD y las características adaptativas.

En aguacate, se caracterizo morfo-agronómica, isoenzimática y molecular usando ISTR. En la parte morfológica se usaron descriptores ya establecidos, de esta manera se distinguen los antillanos de guatemaltecos y los híbridos de estos quedando en el grupo de los guatemaltecos, tanto las técnica enzimática como molecular aportan información que permitió identificar cultivares y observar la similitud entre estos (Rodríguez-Medina *et al.*, 2003).

Diversos autores han realizado estudios de caracterización molecular usando RAPD, ISSR y RFLP y han encontrado diferencias en polimorfismo entre genotipos. Por ejemplo, en piña se ha usado RAPD e ISSR, los ISSR mostraron mayor porcentaje de polimorfismo, sin embargo con ambas técnicas el agrupamiento de materiales de acuerdo a su similitud fue parecido (Tapia *et al.*, 2005).

En tejocote se realizó la caracterización morfológica a nivel de planta para buscar las variables que sirvieran como discriminantes en la diferenciación taxonómica. De 76 variables evaluadas de hoja, flor y amarre de fruto, 35 resultaron determinantes en la caracterización (López-Santiago *et al.*, 2008). Por otra parte, en la caracterización bioquímica y morfológica del fruto de tejocote se evaluó el peso, longitud y diámetro de fruto, relación L/D, porcentaje de pulpa, peso, longitud del eje mayor y longitud del eje

menor del endocarpio; pH, acidez titulable, compuestos fenólicos y azúcares totales, todas las características mostraron diferencias significativas, sin embargo, el peso de fruto, compuestos fenólicos y concentración de azúcares fueron las variables de mayor importancia en la variabilidad observada (Franco-Mora *et al.*, 2009).

La caracterización morfológica comúnmente va respaldada con la molecular o bioquímica y viceversa, de esta manera se suele tener mayor información para evaluar la diversidad de las especies (Franco-Mora *et al.*, 2009).

Caracterización de especies vegetales mediante técnica de AFLP

Los AFLP's han sido ampliamente usados en la caracterización de diferentes especies frutales tales como mandarina (Chao *et al.*, 2004) manzana (Guo *et al.*, 2007) caña de azúcar (Arencibia *et al.*, 2006).

Hasta el momento existen escasos trabajos de análisis molecular en zapote mamey. Carrara *et al.* (2004) realizaron un estudio con materiales provenientes de Cuba, Costa Caribeña de América Central, (Yucatán, Petén, Guatemala y Belice) y la costa del pacífico de América central (Guatemala, el Salvador, Nicaragua y Costa Rica) de la colección del Jardín Botánico Tropical Fairchild (Fairchild Tropical Botanic Garden, FTBG) y de la Universidad de Florida del Centro de Educación e investigación Tropical (University of Florida's Tropical Research and Education Center, TREC) con la finalidad de analizar la diversidad genética en zapote mamey mediante el uso de marcadores AFLP. En general el estudio indicó que existe poca diversidad genética entre selecciones del FTBG y TREC. La mayoría de las selecciones de Yucatán y Cuba mostraron alto nivel de similitud, mientras que los materiales de Guatemala, el Salvador Nicaragua y Costa Rica mostraron mayor disimilitud.

En cítricos, Bastianel (2006) evaluó diversidad genética en híbridos de tanger 'Murcott' (*Citrus reticulata* Blanco x *C. sinensis* L. Osbeck) y naranja 'Pêra' dulce (*C. sinensis* L. Osbeck), mediante el uso de AFLP y RAPD, determinando que el uso de los

primeros detectan mayor polimorfismo y son adecuados para seleccionar híbridos cercanos a los progenitores. Chao *et al.* (2004), logaron identificar diferentes cultivares de mandarina 'satsuma' (*Citrus unshiu*) para la colección y conservación de germoplasma mediante el uso de AFLP, Liang *et al.* (2007), realizaron un estudio en 87 taxones de *Citrus*, *Fortunella* y *Poncirus* y demostraron que con la misma técnica se obtuvieron las relaciones filogenéticas de los géneros estudiados.

En Veracruz, México se hizo la caracterización molecular de 46 materiales de piña incluyendo 39 genotipos de *A. comosus* var. *comosus* Coppens & Leal, dos de *A. comosus* var. *bracteatus* (Lindl) Coppens & Leal, dos de *A. comosus* var. *ananassoides* (Baker) Coppens & Leal y tres del género *Bromelia* L., mediante AFLP's. El análisis identificó 169 fragmentos polimórficos con cuatro combinaciones de primers (EcoRI-ATT con Mse-AAG, Mse-AAC, Mse-AGT, Mse-ATG). En general se observó un bajo nivel de diversidad genética en la colección, sin embargo, se identificaron materiales que morfológicamente eran muy similares y en la caracterización molecular resultaron ser diferentes (Yanes *et al.*, 2005). Se ve la importancia de la caracterización molecular que no es influenciada por el ambiente y sirve como complemento en los trabajos de caracterización morfológica.

Azúcares en hoja

Los carbohidratos son moléculas orgánicas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno; son fuentes de energía para todas las actividades celulares vitales y constituyen la mayor parte de los componentes estructurales de los vegetales (Sthefen y Merrifield, 2005).

Los principales productos de la fotosíntesis en las plantas son: la sacarosa formada de una molécula de glucosa y una de fructosa, y almidón un polímero de glucosa insoluble el cual es el principal carbohidrato de almacenamiento en las plantas (Lodisch *et al.*, 2000).

La sacarosa es el principal azúcar translocado en la mayoría de las plantas; sin embargo, otras especies transportan azúcares no reducidos y azúcares alcoholes (Webb y Burley, 1962; Flora y Madore, 1993). Por ejemplo, el sorbitol se encuentra en las hojas maduras de manzano (*Malus domestica* Borkh) y chabacano (*Prunus armeniaca*) y se le atribuye la función de regulador osmótico en condiciones de estrés hídrico (Bialeski y Redgwell, 1985; Dietrich *et al.*, 2007). La estaquiosa está presente en los exudados de las células del tubo criboso de árboles de fresno blanco (*Fraxinus americana* L.) y olmo americano (*Ulmus americana* L.) (Zimmerman, 1957). En vid, se reportó estaquiosa en hoja, corteza, raíz y frutos (Kliwer, 1966), mientras que en olivo, además de estaquiosa se encontró manitol en la hoja (Flora y Madore, 1993). En cucurbitáceas también se tiene documentada la presencia de estaquiosa y rafinosa (Webb y Gorham, 1963; Hendrix, 1968; Gaudreault y Webb, 1981).

Taiz y Zeiger (2002) mencionan que en árboles frutales de climas tropicales y subtropicales generalmente hay transporte de oligosacáridos (rafinosa, estaquiosa verbascosa) además de sacarosa vía simplasto (plasmodesmos).

La estaquiosa se forma de una molécula de sacarosa y dos moléculas de galactosa. La sacarosa sintetizada en el mesófilo de la hoja se difunde a las células intermedias vía plasmodesmos donde se encuentran las enzimas necesarias para la síntesis de estaquiosa (Gaudreaulty y Webb, 1981; Hubber *et al.*, 1990). En la células intermedias se encuentra UDP-galactosa a partir de donde se sintetiza galactinol por la enzima galactinol sintasa, el galactinol se une a la molécula de sacarosa por medio de la enzima rafinosa sintasa produciendo una molécula de rafinosa la cual se une a otra molécula de galactinol mediante la enzima estaquiosa sintasa y se forma la estaquiosa. Taiz y Zeiger, 2002, Nishizawa *et al.*, 2008). Estaquiosa es un azúcar que no ha sido estudiado en frutales, no obstante estudios realizados en otras plantas han mostrado tener ventajas. En semillas de algunas leguminosas actúa como agente protector durante la desecación y almacenamiento con baja humedad también protege

a las raíces durante heladas en el invierno ((Dierking y Bilyeu, 2009; Xianfeng *et al.*, 2011).

Azúcares en fruto

Whiting (1970) mencionó que el sabor del fruto es proporcionado fundamentalmente por el balance azúcar-ácido, además de componentes de sabores específicos son a menudo glucósidos; los atractivos colores de muchas frutas se deben a derivados de azúcar, igualmente la textura se rige por polisacáridos estructurales.

El contenido de azúcares de los frutos de una especie puede variar considerablemente con la variedad, tipo de suelo y las condiciones climáticas donde se desarrolla la planta (Whiting, 1970). Freeman y Worthington (1989), hacen una compilación de trabajos relacionados con azúcares en fruto para comparar entre frutales de clima templado vs. climas subtropicales y tropicales. La concentración promedio de sacarosa en tropicales/subtropicales es 51.2 %, mientras que en templados 16.6 %. En el caso de fructosa y glucosa los templados reportan valores de 38.4 y 41.8 % respectivamente y tropicales/subtropicales 23.6 y 24.8 %. En resumen, los frutales de clima tropical/ subtropical muestran mayor concentración de sacarosa en comparación con templados, caso diferente a lo que se aprecia en fructosa y glucosa. En templados también se reporta la presencia de sorbitol.

En zapote mamey, Morera (1992) menciona que por cada 100 g de pulpa el 65.5 % es agua, 1.7 g es proteína, 0.4 g grasa, 31.1 g carbohidratos, 2 g fibra, 1.2 g ceniza, 40 mg calcio, 28 mg fósforo, 1 mg hierro, parecido a lo mencionado por Balerdi y Crane (2009), quienes reportan 28 g de carbohidratos.

Alia-Tejacal *et al.* (2002) encontraron una variación de 14 a 18.9 g de azúcares totales por 100 g de peso fresco en zapote mamey en materiales obtenidos en la central de abasto de la Ciudad de México. Quizá el lugar de origen, así como el genotipo sea un factor que este determinado la cantidad de azúcares que se han reportado, sin embargo, a pesar de la importancia de este recurso natural no existen

investigaciones de azúcares en fruto, así como concentraciones y posibles diferencias entre selecciones según la región de desarrollo (Martínez *et al.*, 2008).

Roy y Joshi (1997), mencionan que en chicozapote (*Manilkara zapota* (L.) P. Royen contiene de 12 a 14 % de azúcares, mostrando un incremento en el contenido de sacarosa durante la maduración de fruto, seguido de glucosa y fructosa. Sin embargo, la sacarosa disminuye con la sobre-maduración, comparado con glucosa y fructosa.

En guanábana, se ha obtenido 16 g de azúcares por 100 g de peso fresco, con una relación de 1:2:2 y 1:3:3 en sacarosa, glucosa y fructosa, respectivamente (Ojeda de Rodríguez *et al.*, 2007). En banana, se encontraron 11 g·100 g⁻¹ en relación 1:1:5 de fructosa, glucosa, sacarosa) mientras que en papaya se reporta de 3 a 5 g·100 g⁻¹, en relación 1:1:2, 1:1:3 de fructosa, glucosa, sacarosa (Torija *et al.*, 1998).

En frutales de clima templado como pera, manzano y cereza, los azúcares de mayor importancia fueron la glucosa, fructosa y sorbitol; además la concentración de sacarosa en jugo de tres variedades de pera fue menor en comparación con fructosa y glucosa (Jiménez *et al.*, 2003; Dietrich *et al.*, 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Durante el 2010 se evaluaron 19 selecciones en producción de huertos de traspatio, ubicados en la región noroeste de Puebla, norte de Veracruz, sierra de Guerrero y occidente de Yucatán. Estas selecciones previamente habían sido identificadas por los productores por características llamativas del fruto (Figura 1).

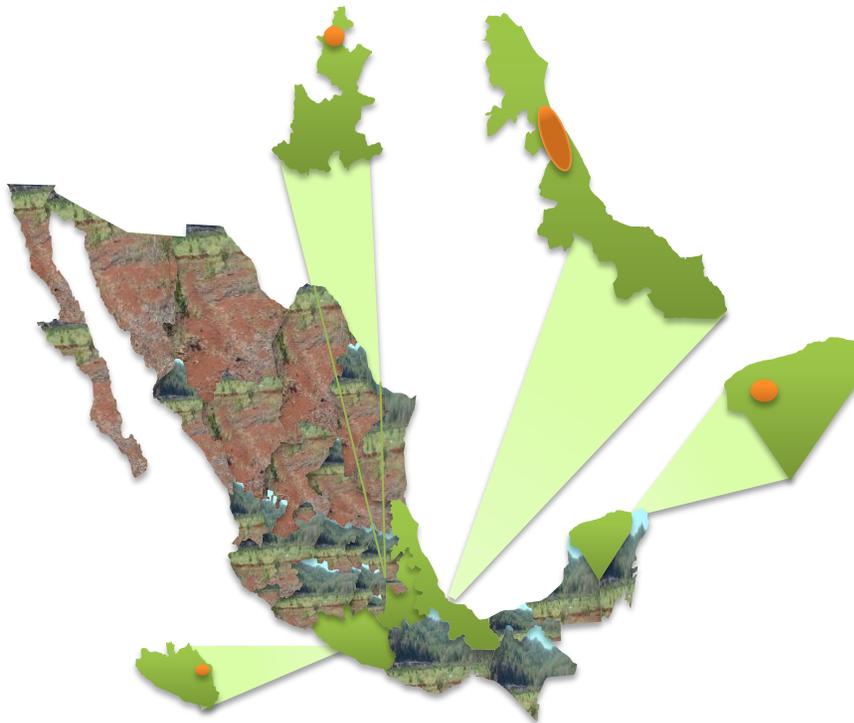


Figura 1. Región noroeste del estado de Puebla, norte de Veracruz, sierra de Guerrero y occidente de Yucatán, México.

Caracterización morfológica

La caracterización morfológica se realizó en 12 selecciones, seis provenientes de Puebla, tres de Veracruz y tres de Yucatán. De cada selección se tomaron datos de pasaporte: edad, altura del árbol, ubicación geográfica, clima del lugar de colecta y nombre del productor (donador) (Cuadro 1).

Hasta el momento no existen descriptores para zapote mamey, por lo cual en la caracterización morfológica se evaluaron características con base a la revisión para este frutal. Las variables evaluadas se dividieron en cualitativas y cuantitativas (Cuadro 2 y 3).

En base a la experiencia de estudios previos se tomó una muestra de 30 frutos de cada selección. Se colectaron frutos en los meses de marzo, mayo y junio de las selecciones de Yucatán, Puebla, y Veracruz, respectivamente. La cosecha se realizó de acuerdo al conocimiento del productor que consiste en quitar parte del epicarpio de la base o punta del fruto y si el mesocarpio muestra color rosado-naranja está listo para ser cosechado.

El registro de las variables morfológicas se llevó a cabo en el laboratorio de Fruticultura, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados Montecillo, México.

Para la cuantificación del peso del fruto, mesocarpio, epicarpio y semilla se utilizó una balanza granataria (Adventurer Ohaus, China), la longitud y diámetro del fruto y semilla se midieron con vernier analítico (Truper, Mod CALDI-6MP, México).

El color de la pulpa se midió con un espectrofotómetro SP64 X-Rite (X-Rite, Inc. Michigan, USA), que asigna los valores de L^*C^*h , los cuales están dados en un espacio de color cilíndrico. El valor L^* indica la luminosidad o claridad (0 = negro, 100 = blanco), C^* es cromaticidad, que se refiere a la intensidad que puede ser desde gris hasta un color puro y h^* es el ángulo Hue (tono) que se expresa en grados (0° = rojo, 90° = amarillo, 180° = verde y 270° = azul) (Minolta, 2007) (Figura 2).

El color de la semilla se determinó con las tablas de color (R.H.S. Colour Chart The Royal Horticultural Society LONDON)

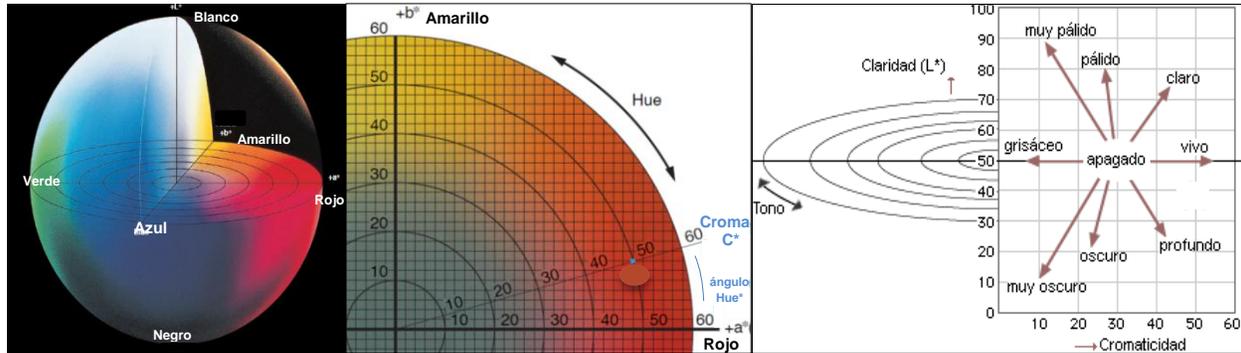


Figura 2. Representación de $L^* C^* h^*$ en un espacio de color (Minolta, 2007).

En el mes de septiembre se colectaron 15 hojas (una por rama), completamente desarrolladas y maduras de cada selección, tomadas de la periferia del dosel de los árboles. Se midió largo y ancho con una regla graduada en milímetros. El área foliar se determinó con el integrador LICOR-3100® (LI-COR, Inc. Lincoln, Nebraska, USA).

Cuadro 1. Datos de pasaporte de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) de Puebla, Veracruz y Yucatán usadas en caracterización morfológica.

Selección	Localidad	Ubicación geográfica			Clima	Edad	Productor (Donador)
		Latitud	Longitud	Altitud (m)			
M1-Y	Akil, Yucatán	21.04676°	89.30151°	15	Ax'(w1)(i')gw'' ^y	7	Carlos M. Magaña R.
M50-Y	Conkal, Yucatán	21.04912°	89.32258°	16	Awoig	10	ITC ^z
M51-Y	Conkal, Yucatán	21.04943°	89.32306°	13	Awoig	10	ITC
SANA-V	Martínez de la Torre, Ver.	20.09297°	97.05949°	80	Af (m) (e) gw''		Raúl Berdeja
RBB-V	Martínez de la Torre, Ver.	20.09291°	97.05943°	84	Af (m) (e) gw''		Raúl Berdeja
CRUZB-V	Cruz Blanca, Veracruz	20.64022°	97.27720°	58	Ax'(w1) (e) w''		SD
HER-P	Hula Tlacuilotepec, Puebla	20.38320°	97.93758°	479	(A)Cb (fm)(e)gw''	60	Herminio Flores A.
BONI1-P	Hula Tlacuilotepec, Puebla	20.37889°	97.94257°	547	(A)Cb (fm)(e)gw''	>50	Bonifacio Domínguez G.
BONI2-P	Hula Tlacuilotepec, Puebla	20.37928°	97.94090°	509	(A)Cb (fm)(e)gw''	<15	Bonifacio Domínguez G.
ROG-P	Hula Tlacuilotepec, Puebla	20.37378°	97.94038°	424	(A)Cb (fm)(e)gw''	>25	Rogelio Domínguez G.
BERNA-P	Xicotepec de Juárez, Puebla	20.36868°	97.92133°	541	(A)Cb (fm)(e)gw''	>15	Bernardo García Vargas
ODI-P	Xicotepec de Juárez, Puebla	20.38174°	97.88890°	341	(A)Cb(fm)(e)gw''	>20	Odilón

^zITC: Instituto Tecnológico de Conkal

^y **Ax'(w1)(i')gw''**: Clima cálido subhúmedo con temperatura media anual mayor a 22 °C y temperatura del mes más frío mayor a 18 °C con un porcentaje de precipitación invernal menor de 18 respecto al total anual,; con poca oscilación anual de las temperaturas medias mensuales, entre 5 y 7 °C, presentándose el mes más caliente antes del solsticio de verano y presencia de canícula o sequía intraestival.

Awoig: Clima cálido subhúmedo, con temperatura media anual mayor a 22 °C y temperatura del mes más frío mayor a 18°C, con régimen de lluvias en verano, con 5 a 10.2 de porcentaje de precipitación invernal con respecto al total anual, isotermal es decir con una oscilación de la temperatura media anual menor a 5°C, y el mes más caliente se presenta antes del solsticio de verano.

Af (m) (e)gw'': Clima tropical lluvioso cálido húmedo con régimen de lluvias de verano con temperatura media anual mayor a 22 °C y temperatura del mes más frío mayor a 18 °C, con menor de 18 % de lluvia invernal con respecto al anual, extremoso con el mes más caliente antes del solsticio de verano y presencia de canícula.

Ax'(w1) (e) w'': Clima cálido subhúmedo con temperatura media anual mayor a 22 °C y temperatura del mes más frío mayor a 18 °C con un porcentaje de precipitación invernal menor de 18 respecto al total anual, extremoso con oscilación anual de las temperaturas medias mensuales entre 7 y 14 °C y presencia de canícula.

(A) Cb (fm) (e)gw'': Clima semicálido templado con verano fresco y largo con una temperatura media anual entre 12 y 18 °C y la temperatura del mes mas frío entre -3 y 18 °C y temperatura del mes mas caliente menor a 18 °C, húmedo con régimen de lluvias de verano con precipitación del mes mas seco mayor a 40 mm y porcentaje de lluvia invernal entre 5 y 10.2 % de la anual, extremoso con el mes mas caliente antes del solsticio de verano y presencia de canícula (García, 1987).

Cuadro 2. Características cuantitativas utilizadas en la caracterización morfológica de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.

	Característica	Unidad	Simbología
ÁRBOL	Altura	m	ALT
	Circunferencia a la altura del pecho	m	CAP
	Altura a la primera ramificación	m	APR
HOJA	Largo	cm	LH
	Ancho	cm	AH
	Relación largo/ancho	numérico	RLAH
	Área foliar	cm ²	AFO
	Peso de hoja	g	PH
FRUTO	Diámetro	cm	DFRU
	Longitud	cm	LFRU
	Relación largo /ancho	numérico	RLAFRU
	Peso total del fruto	g	PFRU
	Peso de mesocarpio	g	PMES
	Peso de epicarpio	g	PEPI
	Sacarosa	g·100 g ⁻¹ peso de materia fresca (pmf)	SAC
	Fructosa	g·100 g ⁻¹ pmf	FRUC
	Glucosa	g·100 g ⁻¹ pmf	GLU
	Estaquiosa	g·100 g ⁻¹ pmf	EST
	Color: luminosidad (L)	numérico	L
	Color: cromaticidad (c)	numérico	C
	Color: ángulo de matiz (° Hue)	numérico	H
SEMILLA	Peso	g	PSEM
	Longitud	cm	LSEM
	Relación peso pulpa/peso semilla	numérico	RPPPS

Cuadro 3. Características cualitativas utilizadas en la caracterización morfológica de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.

	Característica	Escala	Simbología
ÁRBOL	Hábito de crecimiento	1: vertical 2: vertical tendiendo a esparcido 3: extendido 4: caído	HC
	Forma de la copa	1: semicircular 2: sin forma 3: piramidal	FC
FRUTO	Forma de fruto	1: elipsoide 2: globoso 3: ovoide	FF
	Forma de ápice de fruto	1: recto 2: curvo	FAF
SEMILLA	No. de semillas	1: una; 2: más de una	NS
	Color	1: café perú 2: café sienna 3: café oscuro (saddle brown)	CS
	Variación	1: variación de margen color claro 2: Variación de margen y lomo color claro 3: Variación de toda la semilla y margen color claro	VARSE
	Germinación prematura	1: ausente 2: presente	GP

Determinación de azúcares en hoja y fruto

Se determinó el perfil y contenido de azúcares en hojas de nueve selecciones (tres de Veracruz y seis de Puebla) y en frutos de 12 selecciones de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) seis del estado de Puebla, tres de Veracruz y de tres de Yucatán, México.

Se colectaron hojas maduras y sin daño mecánico en junio y julio de 2010, se tomaron 10 hojas de la periferia de cada árbol (1.5 a 3 m de alto), y se cortaron 5 cm de la parte media de cada hoja, eliminando la nervadura central. Las fracciones de hojas

se colocaron en paquetes de papel aluminio debidamente identificadas. A los paquetes se le hicieron pequeñas perforaciones para facilitar la penetración de nitrógeno líquido donde fueron inmediatamente colocadas para detener la actividad metabólica.

Del mesocarpio se analizó una muestra compuesta de 30 frutos (50 g por fruto) en madurez de consumo de cada selección. La muestra se homogenizó y almacenó a -20 °C durante un día para después liofilizar.

La extracción y determinación de azúcares, se realizó por medio de la metodología propuesta por Darnell *et al.* (1994). Las hojas y pulpa se liofilizaron por 48 y 96 h, respectivamente. En ambos casos se pesaron 0.5 g de materia liofilizada para macerar. El tejido se colocó en vasos de precipitados de 15 mL y se agregaron 5 mL de metanol (80 %). Los vasos se colocaron en la plancha donde hirvió durante 10 min. El contenido de los vasos se transfirió a tubos de 15 mL y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se separó y se determinó el volumen. Posteriormente, se agregaron 200 µL de manitol a cada muestra como estándar interno ($0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y el volumen se estandarizó a 5 mL, enseguida se adicionaron 3 mL de cloroformo. Posteriormente, se homogenizó y centrifugó a 2000 rpm durante 5 min a 4 °C. A la fase acuosa, se le agregaron 50 mg de PVPP; ésta se homogeneizó y centrifugó a 3000 rpm durante 10 min a temperatura ambiente. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo y al residuo de PVPP se le agregaron 2 mL de agua deionizada (18 mohm) se volvió a centrifugar a 3500 rpm por 15 min y el sobrenadante resultante se combinó con el primer sobrenadante. Las muestras se liofilizaron y resuspendieron con 3 mL de agua desionizada. Cada muestra se paso por resinas de intercambio iónico (Dowex 1x8 200-400 MESH Cl; Dowex 50 WX8-400 ion exchange resin) y enseguida por microfiltros (Nylon 25 mm x 0.2 µ, Tupper).

La cuantificación de azúcares se realizó por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), HP 1100, Agilent (Waldbronn Germany). Se utilizó una columna Supelco (Supelcogel CA, 30 cm x 7.8 mm ID). La fase móvil fue agua deionizada (18 mohm), y el flujo de 0.5 mL /min. De cada muestra se inyectaron 20 µL y el tiempo de

análisis por muestra fue de 26 min. La concentración de azúcares solubles se determinó de acuerdo a las curvas patrón que se prepararon con las soluciones estándar de 1, 2 y 4 mg·mL⁻¹ de estaquiosa, sacarosa, glucosa fructosa y manitol. Los picos cromatográficos de las muestras se identificaron por comparación de tiempos de retención de los estándares (Fig.3).

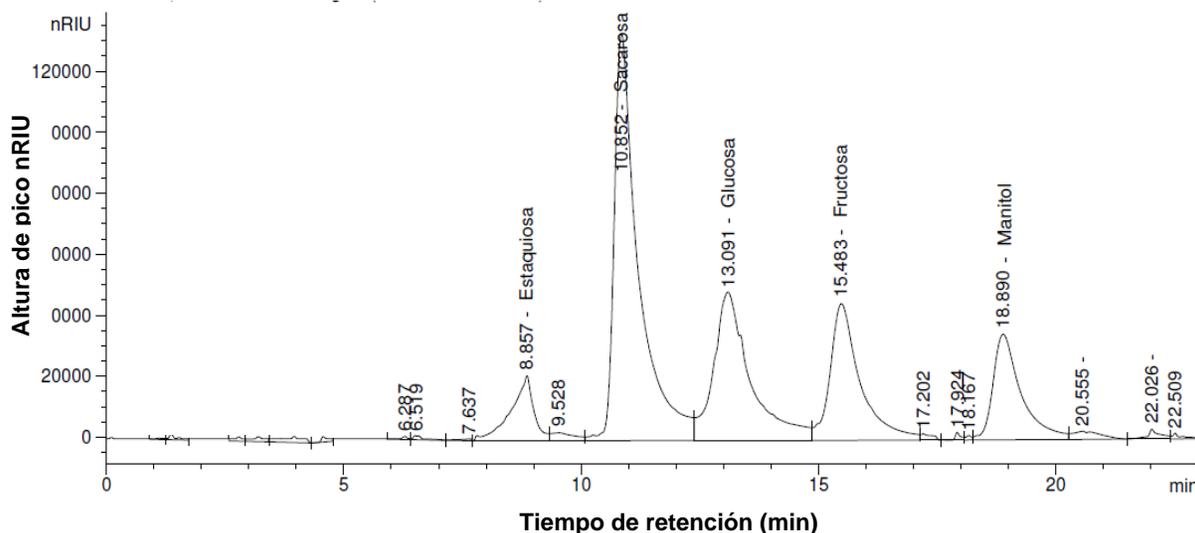


Figura 3. Curva de calibración de azúcares

Análisis molecular mediante AFLP

Para realizar el estudio molecular se colectaron hojas jóvenes de 10 a 15 días, visiblemente sanas, las cuales se colocaron en bolsas de plástico previamente identificadas y se transportaron en una hielera para conservarlas en buen estado. La extracción del ADN genómico, se llevo a cabo en el laboratorio de fruticultura Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados.

En este fase se utilizaron 12 materiales de Veracruz, Puebla y Yucatán caracterizados morfológicamente en esta investigación y siete selecciones más del estado de Guerrero, además se incluyeron muestras de *P. campechiana*, *P. fossicola*, *Manilkara zapota* y *Chrysophyllum cainito*, especies de la misma familia (Cuadro 4).

Cuadro 4. Lista de materiales para aislamiento de ADN genómico de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) y cuatro especies más.

Selección	Origen
HER-P	Puebla
CID23-G	Guerrero
M51-Y	Yucatán
A1-G	Guerrero
DPACO-G	Guerrero
BONI2-P	Puebla
<i>P. fossicola</i>	Veracruz
PIEDRA-G	Guerrero
ELREGALO-G	Guerrero
AMARILLO-G	Guerrero
<i>P. campechiana</i>	Veracruz
CRUZB-V	Veracruz
BONI1-P	Puebla
RISUEÑO-G	Guerrero
M50-Y	Yucatán
ROG-P	Puebla
BERNA-P	Puebla
ODI-P	Puebla
RBB-V	Veracruz
SANA-V	Veracruz
M1-Y	Yucatán
<i>Manilkara zapota</i>	Veracruz
<i>Chrisophyllum cainito</i>	Veracruz

Aislamiento de ADN genómico

El aislamiento del ADN genómico se llevó a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Saghai-Marroof *et al.* (1984) y Dehestani y Kazemi (2007) para especies con alto contenido de metabolitos secundarios.

Las hojas se colocaron a -20 °C, durante un día, después se liofilizaron durante 48 h y se trituraron con ayuda de un molino para café (Modelo Aromatic, TAURUS China) hasta obtener un polvo fino.

Del tejido previamente liofilizado y molido se pesó 50 mg en un tubo eppendorf de 2 mL, se le agregó 1 mL de solución amortiguadora CTAB [150 mM de Tris-HCL pH 7.5, 1.5 M de NaCl, 25 mM de EDTA (Tetracetato de etilendiamina) pH 8.0, CTAB 3.5 %

420 mM de BME (β -mercaptoetanol, PVP 3 %) calentada previamente a 65 °C y se mezcló hasta incorporar por completo la solución al tejido. Posteriormente, se incubó a 65 °C por 90 min, los tubos se agitaron continuamente; enseguida se realizaron dos purificaciones con cloroformo/isoamyl alcohol (24:1) con 500 μ L y se agitó durante 10 min, se centrifugó a 3500 rpm durante 10 min; la fase acuosa se transfirió a un tubo nuevo con RNasa (10 mg/mL) y se incubó durante 30 min a 37 °C. Para precipitar y formar la pastilla de ADN, se agregó 375 μ l de isopropanol, se mezcló con suavidad y se centrifugó a 3500 rpm a temperatura ambiente durante 30 min, se decantó el isopropanol y se dieron dos lavados con 1 ml de etanol 75 %, después se eliminó el etanol y finalmente se suspendió la pastilla de ADN en 500 μ L de agua destilada deionizada.

Cuantificación de ADN

La calidad de ADN se evaluó por electroforesis en geles de agarosa (Sigma) 1 % (p/v) con solución 1X TAE [10X TAE (400 mM Tris-base, 50 mM NaOAc, 7.7 mM) ajustando a pH 8 con ácido acético glacial], cargando 2 μ L de 5X SGB (azul de bromofenol, GIBCO) más 5 μ L de ADN genómico; como marcador de peso molecular se incluyó el fago λ (100 ng μ L (GIBCO, BRL). El gel se corrió en cámara de electroforesis horizontal (Labnet, mod. Enduro Gel XL, U.S.A) a 75 volts durante 100 min. Transcurrido el tiempo de electroforesis el gel se tiñó con bromuro de ethidio ($1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) durante 30 minutos y se visualizó en el transiluminador de luz ultra violeta.

La cuantificación y pureza del ADN se realizó en un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, U.S.A) con radio de absorbancia 260/280, donde valores inferiores a 1.8 sugieren existencia de proteínas u otros elementos absorbentes de luz UV en la muestra, mientras que valores mayores a 2.0 muestran contaminación por ARN, fenol, cloroformo o algunas sustancia orgánica (Maniatis *et al.*, 1986).

Marcadores AFLPs (Polimorfismos de la longitud de los fragmentos amplificados)

El análisis molecular de AFLP se realizó de acuerdo al manual de IRDye® Fluorescent AFLP® Kit for large Planta Genome Analysis, con algunas modificaciones. Los pasos que se llevaron a cabo fueron los siguientes:

Digestión

El primer paso del proceso de la técnica AFLP, es la digestión, en la cual el ADN extraído es “cortado” mediante dos enzimas de digestión, una frecuente cortadora y una rara cortadora, estas enzimas cortan en lugares específicos dejando secuencias con extremos diferentes. La especificidad de dichas enzimas genera grupos de fragmentos del total de ADN. En este caso se uso como enzima frecuente cortadora MseI y rara cortadora EcoRI. La cantidad de ADN en la mezcla de digestión fue 1 µg, de acuerdo a esto se revisó la concentración ($\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) obtenida en cada muestra y se hicieron los cálculos correspondientes, después se agregó mezcla de digestión (Cuadro 5) y se incubó a 37 °C por 2 h. Finalmente las enzimas se inactivaron a 70 °C por 15 min en el termociclador. Una vez finalizada la digestión, se evaluó la calidad en gel de agarosa 0.7 % (p/v), adicionando 5 µL del ADN digerido más 2 µL de colorante 5XSHB y como referencia el marcador de peso molecular $\phi\text{X174}/\text{HaeIII}$ (100 ng).

Cuadro 5. Mezcla para la digestión de ADN genómico con la enzima MseI y EcoRI en el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

Solución concentrada	Por reacción (12.5 µL)
H ₂ O destilada deionizada (dd)	Hasta 12.5 µL
5X Solución amortiguadora	2.5 µL
Mix EcoRI/MseI (5 U·µL ⁻¹)	1 µL
ADN genómico (20ng·µL ⁻¹)	5 µL

Ligación

Para la ligar de adaptadores se agregó mezcla de ligación (Cuadro 6) al tubo que contenía la digestión previa colocándolo en el termociclador (Therm-1000, Axygen) a 20 °C durante 2 h. Posteriormente, se hizo una dilución 1:10 (10 µl + 90 µl TE).

Cuadro 6. Mezcla para ligación de adaptadores en el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

Solución concentrada	Por reacción (15 µL)
H ₂ O dd	Hasta 15 µL
Solución amortiguadora de ligación (5X)	2 µL
Mezcla de adaptadores	12 µL
T4 ADN ligasa	0.5 µL

Pre-amplificación

De la dilución de ligación 1:10, se tomó 2.5 µl y se agregó a la mezcla de pre amplificación (Cuadro 7), colocando al final una gota de aceite mineral para evitar evaporación y pérdida de la mezcla. Después se colocó en el termociclador en un programa de 20 ciclos de: 94 °C por 30 s, 56 °C por 1 min y 72 °C por 1 min.

En gel de calidad (agarosa 1 %) se verificó el producto de la pre-amplificación cargando 5 µL del ADN pre-amplificado más 2 µL de colorante 5X SGB, incluyendo el marcador de peso molecular ϕ X174/*Hae*III (100 ng) y se tiño con bromuro de ethidio. De la pre amplificación se hizo una dilución 1:40 (5 µl pre amplificación + 195 µl H₂O dd).

Amplificación selectiva

En esta fase se utilizaron los iniciadores (primers) de todas las combinaciones posibles (Cuadro 8) ya que en la literatura no se encontraron trabajos que reporten algunas combinaciones que den mayor polimorfismo para esta especie.

Cuadro 7. Mezcla para la pre-amplificación de ADN en el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

Solución Concentrada	Por Reacción (25 µL)
H ₂ O dd	Hasta 25 µL
Dilución de ligación (1:10)	2.5 µL
Amortiguador 10 x reacción PCR	0.67 µL
Mezcla iniciador AFLP® pre amplificación	20 µL
Taq DNA polimerasa (5U/ µl) Invitrogen	0.5 µL
Mg Cl ₂ (50mM)	0.33 µl
dNTP's	1 µl

A partir de la dilución de pre amplificación 1:40 se tomaron 2 µl y se le agregó la mezcla de amplificación selectiva (Cuadro 9) más una gota de aceite mineral. La mezcla se amplificó en el termociclador con un programa de 1 ciclo (94 °C por 30 s, 65 °C 30 s y 72 °C 1 min), 12 ciclos (94 °C por 30 s, 65-0.7 °C c/ciclo por 30 s y 72 °C por 1 min) y 23 ciclos (72 °C por 1 min, 94 °C por 30 s y 72 °C por 1 min). La comprobación de la amplificación selectiva se realizó de la misma forma que en la pre-amplificación.

Cuadro 8. Combinaciones de iniciadores para el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

EcoRI MseI	AAC	AAG	ACA	ACC	ACG	ACT	AGC	AGG
CAA	AAC/CAA	AAG/CAA	ACA/CAA	ACC/CAA	ACG/CAA	ACT/CAA	AGC/CAA	AGG/CAA
CAC	AAC/CAC	AAG/CAC	ACA/CAC	ACC/CAC	ACG/CAC	ACT/CAC	AGC/CAC	AGG/CAC
CAG	AAC/CAG	AAG/CAG	ACA/CAG	ACC/CAG	ACG/CAG	ACT/CAG	AGC/CAG	AGG/CAG
CAT	AAC/CAT	AAG/CAT	ACA/CAT	ACC/CAT	ACG/CAT	ACT/CAT	AGC/CAT	AGG/CAT
CTA	AAC/CTA	AAG/CTA	ACA/CTA	ACC/CTA	ACG/CTA	ACT/CTA	AGC/CTA	AGG/CTA
CTC	AAC/CTC	AAG/CTC	ACA/CTC	ACC/CTC	ACG/CTC	ACT/CTC	AGC/CTC	AGG/CTC
CTG	AAC/CTG	AAG/CTG	ACA/CTG	ACC/CTG	ACG/CTG	ACT/CTG	AGC/CTG	AGG/CTG
CTT	AAC/CTT	AAG/CTT	ACA/CTT	ACC/CTT	ACG/CTT	ACT/CTT	AGC/CTT	AGG/CTT

Cuadro 9. Mezcla para amplificación selectiva de ADN en el estudio molecular mediante AFLPs en zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

Solución concentrada	Por reacción (15 µL)
H ₂ O dd	5 µL
DNA (1:40)	2 µL
Solución amortiguadora 10x	1.4µL
Iniciador amplificación selectiva <i>Msel</i> (10 pM)	2 µL
Iniciador amplificación selectiva <i>EcoRI</i> (10 pM)	2 µL
dNTP 's	2 µL
Mg Cl ₂ (50 mM)	0.5 µL
Taq polimerasa (5U/ µL)	0.1 µL

Electroforesis en gel de poliacrilamida

El producto de la amplificación selectiva se corrió en un gel de poliacrilamida desnaturalizado. El gel se preparó con solución de acrilamida al 6% [42 % Urea, buffer 10XTBE (0.9 Tris-borate, 20 mM EDTA pH 8.0), 40 % acrilamida (acrilamida:bisacrilamida 19:1)] a la cual se le agregaron 400 µL de APS (Persulfato de amonio) al 25 % y 50 µL de TEMED por cada 100 ml. En cada pozo del gel se colocó 3 µL de muestra de ADN amplificado más 2 µL de solución interruptora (10 mM NaOH, 95 % formamida, 0.05 % azul de bromofenol, 0.05 % cianol de xileno). La muestra fue previamente desnaturalizada a 95 °C por 5 min y colocada inmediatamente en hielo. La electroforesis se llevo a cabo en una cámara de secuenciación (C.B.S Scientific), a 300 V durante 3 h utilizando como solución amortiguadora 1X TBE.

Tinción con nitrato de plata

Para el revelado de bandas se utilizó el protocolo usado en STS y SSR (CIMMYT, 2006) con algunas modificaciones que se describen a continuación.

Una vez que el gel se desmontó de la cámara de electroforesis vertical, se transfirió a una solución fijadora (500 mL de etanol, 25 mL de ácido acético glacial y 447.5 mL de agua) donde se mantuvo por 10 min; después se enjuagó con agua corriente. Enseguida se le agregó solución de nitrato de plata (0.5 g de nitrato de plata diluida en 500 mL de agua), y permaneció ahí por 4 minutos; se enjuagó y se agregó la solución

reveladora (30 g de hidróxido de sodio diluido en 1 L de agua, y 200 µL de formaldehído [37 % concentración comercial] por cada 100 mL de solución al momento de utilizar), una vez que se observaron las bandas se detuvo la tinción agregando solución de paro (30 g de EDTA diluida en 1 L). En todos los pasos se mantuvo en agitación.

Análisis estadístico

Caracterización Morfológica

Con la finalidad de describir el comportamiento de las selecciones con respecto a cada carácter se obtuvieron los datos de media, valor máximo, mínimo, desviación estándar y coeficiente de variación de las variables cuantitativas.

Existen diferentes técnicas de estadística multivariada para analizar datos de caracterización, sin embargo, debido a que el número de observaciones (selecciones) era bajo y que el objetivo era ver que características aportaban la mayor variabilidad se optó por un análisis de componentes principales y conglomerados para datos cuantitativos y uno de correspondencia simple y conglomerados para datos cualitativos.

El análisis de componentes principales (ACP) se utiliza cuando se tiene un gran número de variables y se basa en la transformación del conjunto de variables originales en otro conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales. El objetivo es determinar los componentes que puedan explicar la mayor parte de la variabilidad observada. Permite seleccionar las características discriminantes para diferenciar entre accesiones y muestra la distribución y posible agrupación de las accesiones en un plano considerando dichas características (Franco e Hidalgo, 2003; Johnson, 1990)

El análisis se realizó a partir de los promedios de cada variable en el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute, 2000), previamente fueron estandarizadas con el propósito de que todas tuvieran el mismo peso y no dependiesen de las unidades de medida. La fórmula de estandarización fue la siguiente:

$$Z = \frac{X - \bar{X}}{S}$$

Donde:

Z: valor estandarizado

X: valor original

\bar{X} : promedio general para dicha variable

S: desviación estándar

Para este análisis se incluyeron 24 características cuantitativas de la cuales tres fueron del árbol, cinco de hoja, 13 de fruto y tres de semilla.

El análisis de conglomerados es otra de las técnicas de estadística multivariada de clasificación. Consiste en ordenar objetos (accesiones) en grupos de forma que el grado de asociación/similitud entre miembros del mismo grupo sea mayor que el grado de asociación/similitud entre miembros de diferentes grupos. Existen dos métodos de agrupamiento: jerárquicos y no jerárquicos. En los primeros, se forman grupos a varios niveles, y se quiere conocer el nivel de similitud al que se agrupa cada conjunto de individuos, mientras que en los no jerárquicos se forman grupos a través de criterios predefinidos (es necesario conocer el número de grupos a priori) (Franco e Hidalgo, 2003).

Debido a que en este estudio se quiere ver la relación entre las selecciones, se realizó un método de agrupamiento de tipo jerárquico. Para este método existen diferentes medidas de asociación o distancia. La distancia utilizada fue la euclidiana que es la básica, a partir de esta se derivan otras. Se apoya en el teorema de Pitágoras. Es de las más utilizadas en trabajos de caracterización, por ejemplo en nace (Martínez-Moreno *et al.*, 2006) chico zapote (Gazel, 2002) y tejocote (Franco-Mora *et al.*, 2009). Por otra parte el método de agrupamientos fue el de ligamiento promedio de UPGMA (Unweighted pair-group method arithmetic averages) donde el cálculo de la matriz de distancias se hace promediando los valores de las distancias de las accesiones del grupo con el de las otras accesiones que es lo matemáticamente lógico. El criterio es maximizar la variación entre grupos y minimizarlo entre ellos. (Nuñez y

Escobedo, 2011). Así mismo, se obtuvo el coeficiente de correlación cofenética, el cual indica la coherencia entre los datos de la matriz ingresada y el resultado de los agrupamientos logrados según los criterios aplicados. Entre mayor sea la correlación el ajuste será bueno lo que indica que existe una clara estructura jerárquica entre las selecciones. El análisis se realizó en el programa estadístico Sistema de Análisis Multivariado y Taxonomía Numérica (NTSYS-pc) versión 2.2 (Rohlf, 2000).

A las características cualitativas se les realizó análisis multivariado de correspondencia simple con base en una matriz de modas de siete variables discretas. Este análisis explica que características aportan mayor variabilidad, similar al de componentes principales, pero se usa en variables cualitativas. El análisis se realizó mediante el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute, 2000). Para el análisis de conglomerados se realizó el mismo procedimiento que en variables cuantitativas.

Determinación de azúcares en hoja y fruto

La unidad experimental fue la muestra compuesta de la parte media de 10 hojas maduras de cada selección, con tres repeticiones. En el caso de fruto, fue la muestra compuesta de mesocarpio de 30 frutos de donde se obtuvieron tres sub-muestras. En ambos casos se calculó la media, valores mínimos, máximos y desviación estándar mediante PROC MEANS, así mismo, se realizó el análisis de varianza con base a un diseño experimental completamente al azar y se hizo la comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute, 2000).

Análisis molecular mediante AFLP

De acuerdo a las bandas generadas de las combinaciones de iniciadores incluyendo las de *Pouteria campechiana*, *P. fossicola*, *Manilkara zapota* y *Chrisophyllum cainito* se construyó una matriz de datos codificada en presencia (1) o ausencia (0) con base a la cual se calculó el coeficiente de similitud con el índice de Jaccard (J) utilizado principalmente en marcadores de tipo AFLP's (Tapia *et al.*, 2005; Morales-Nieto *et al.*, 2006). Se utilizó el método de ligamiento promedio de UPGMA que como ya se mencionó anteriormente tiene como criterio maximizar la variación entre grupos y minimizarlo entre ellos. También se obtuvo el coeficiente de correlación cofenética que tiene como objetivo ver que tanta correlación hay entre la matriz de datos original y el resultado de los agrupamientos por los criterios aplicados. Para realizar análisis de agrupamiento se utilizó el paquete estadístico NTSYS-pc versión 2.2 (Rohlf, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfológica

De las 24 características cuantitativas evaluadas, nueve de ellas mostraron mayores coeficientes de variación, de las cuales siete corresponden a fruto (peso total de fruto, peso de mesocarpio, peso de epicarpio, relación peso mesocarpio/peso semilla, cantidad de estaquiosa, glucosa y fructosa), una a semilla (peso de semilla) y otra a hoja (área foliar) (Cuadro 10).

De las variables evaluadas del árbol, la altura, la circunferencia a la altura del pecho y la altura a la primera ramificación tuvieron amplios rangos de variación (5 a 25.4 m, 0.62 a 2.76 m, 0.43 a 5.8 m respectivamente) esto quizá debido a que la mayoría eran de huertos de traspatio de diferentes edades a excepción de las selecciones de Yucatán que eran injertos. Bayuelo-Jiménez *et al.* (2007) encontraron árboles de 12.8 hasta 18.3 m de altura, con diámetro de tronco de 0.4 a 0.6 m en selecciones de Michoacán. El zapote mamey se puede reproducir de forma sexual y asexual, los materiales propagados por injerto tiene la característica de empezar a producir en un periodo de tiempo corto y en un inicio las plantas son de porte bajo, sin embargo, la mayoría de las plantaciones que se tienen en México son de semilla, por lo que se tienen árboles grandes (Villegas-Monter y Mora-Aguilera, 2008). Azurdia (2006) menciona que el zapote mamey tiene árboles de hasta 50 m de altura y de más de 1 m de diámetro.

El área foliar osciló entre 92.35 y 607.2 cm², siendo otra de las características de amplia variación. Previamente Ibarra (2005) encontró que en árboles de Cazonas, Ver. (17 m de altitud) y Alpoyecá, Gro. (1050 m de altitud) existieron claras diferencias en área foliar, siendo mayor en las de Veracruz, aspecto que tuvo relación con el número de hojas: entre más hojas, el tamaño era menor y viceversa, respuesta que le atribuyen al ambiente y altitud. Por otra parte, quizá el largo, ancho y forma de la hoja serían características más adecuadas para discriminar entre selecciones como lo observó Ledesma quien evaluó largo y ancho de la hoja en relación a su posición en el brote, encontrando que en algunas selecciones las hojas más anchas y largas se encontraron

en la parte media del brote, mientras que en otras estaban en la parte basal, lo cual podría ser una característica típica de ciertos materiales (Ledesma, 2011). Así mismo en chicozapote el ancho de la hoja fue muy variable en las selecciones lo que sirvió para diferenciar entre grupos (Gazel, 2002). Estas características son importantes ya que las hojas son los principales órganos fotosintéticos que funcionan como abastecedoras para el crecimiento y desarrollo del fruto (Fahn, 1977).

Por otra parte en el fruto, el peso total y del mesocarpio tuvieron amplia variabilidad, (121.26 a 829.66 g y 65.76 a 577.72 g respectivamente) parecido a lo que se encontró en selecciones de zapote mamey de los estados de Morelos, Guerrero, Michoacán y de la colección del CATIE (Costa Rica, Guatemala, Honduras, Nicaragua, El Salvador y Panamá). En Morelos el fruto pesó de 242.6 a 948.4 g, en Guerrero de 350 a 859 g, en Michoacán de 200.9 a 469.2 g y en los materiales del CATIE de 221.7 a 485.5 g. Así mismo, el peso del mesocarpio fue de 157.4 a 712 g y 167.8 a 368.6 g en Morelos y Michoacán respectivamente, mientras que en Guerrero fue del 77.6 a 83.8 % del peso total (Gazel *et al.*, 1999; Bayuelo-Jiménez y Ochoa, 2006; Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2007; Gaona-García *et al.*, 2008; Espinoza, 2009). Lo anterior muestra la amplia diversidad de tamaño del fruto que existe en las selecciones de zapote mamey. Andrade *et al.* (2008) mencionan que el consumidor prefiere frutos grandes, de pulpa dulce, color rojo salmón y con una semilla, sin embargo, la variabilidad de tamaño tiene ventajas ya que permite abarcar un mercado más amplio de consumidores de acuerdo a sus necesidades. Espinos *et al.* (2005), sugieren que el consumo por persona se favorece si los frutos son de menor peso, como ocurre con frutos pequeños como manzana y banana mientras que de frutos grandes se puede extraer pulpa para procesarse en la elaboración de aguas, helados, repostería etc.

El peso del epicarpio también fue variable (26 a 229 g). En las selecciones de los estados de Morelos y Michoacán tuvo valores de 34 a 147 g y 43.6 a 79.9 g respectivamente. Los coeficientes de variación obtenidos oscilaron entre el 15 y 29 %. Por otra parte el grosor del epicarpio fue una característica determinante en la caracterización de las accesiones, se encontraron variaciones desde 1 a 2.8 mm (Gazel *et al.*, 1999; Bayuelo-Jiménez y Ochoa, 2006; Gaona-García *et al.*, 2008). El

grosor del epicarpio es importante en el manejo postcosecha de la fruta, por lo cual sería una característica importante en futuras evaluaciones de diversidad Gaona-García *et al.* (2008).

Otras de las características de importancia en fruto son el diámetro, la longitud y la relación largo/ancho ya que influyen directamente en la forma. La relación largo ancho vario de 1 a 3.24 dando como resultado formas redondas y alargadas. En las selecciones de Michoacán y Morelos la relación largo/ancho del fruto fue de 1.2 a 1.7 y 1.1 a 2.6 respectivamente, y los frutos los describieron como elipsoides, alargados, globosos y ovoides (Gazel *et al.*, 1999; Bayuelo-Jiménez y Ochoa 2006; Gaona-García *et al.*, 2008).

La forma del fruto es un aspecto que esta relacionado con el gusto del productor, por ejemplo: en la Alpayeca Gro., se tienen formas típicas que caracterizan los materiales de ciertos productores, tal es el caso del Sr. German quién ha seleccionado árboles que dan frutos alargados, o el Sr. Pardo que selecciona materiales de frutos ovados. Considerando lo anterior y que la mayoría de los árboles caracterizados son de traspatio, es importante mencionar que estos fueron previamente seleccionados por los productores por alguna característica deseable, ya sea color, forma, tamaño o sabor.

El color de los frutos tuvo variaciones en: luminosidad, ángulo de matiz y cromaticidad (29.55 a 53.45, 34.10 a 54.03 y de 23.64 a 46.69, respectivamente). De acuerdo al ángulo de matiz, las selecciones de mamey presentaron un color entre rojo y anaranjado (0= rojo, 90= amarillo) Minolta (2007). En selecciones de Morelos el color fue principalmente anaranjado oscuro a claro (L=35.5 a 67.3, °Hue =61 a 81.1 y C= 20.3 y 58.9. En otros estudios, el color se ha evaluado de acuerdo a las tablas de Munsell y Methuen Handbook of Colour y los tonos rojizos, amarillos rojizos naranja rojizo y naranja intenso son los más frecuentes (Gazel *et al.*, 1999; Bayuelo-Jiménez y Ochoa 2006; Espinosa, 2009). El color anaranjado o rojo es proporcionado por los carotenoides, el zapote mamey es rico en estos pigmentos; recientemente Alia-Tejacal *et al.*, (2005) encontraron tres tipos en este frutal, α -caroteno, ζ -caroteno y β -caroteno de los cuales este último en mayor concentración. Meléndez *et al.*, (2004) menciona que el patrón y concentración de carotenoides en un mismo fruto puede estar

influenciado por las variedades y las condiciones ambientales. Agustí (2010) menciona que el rango óptimo de síntesis de carotenoides es de 15° C a 35° C.

El color del fruto es una de las características más importantes para el consumidor ya que es el primer atributo que valora y lo asocia a calidad (Mínguez *et al.*, 2006). Por lo regular se prefieren los de color rojo (Domínguez *et al.*, 2010), no obstante se tiene materiales naranjas claro e intensos, que son de buen sabor.

Otra de las características relevantes es el perfil y contenido de azúcares en el mesocarpio. Sacarosa fue el azúcar en mayor concentración (10.94 g en 100 g de peso de materia fresca (pmf)) seguida de glucosa, fructosa y estaquiosa, siendo estas dos últimas las de mayor coeficiente de variación (24 y 26 %, respectivamente), resultados similares obtuvo Gazel *et al.*, (1999) en materiales del CATIE a excepción de estaquiosa que no es reportada. En general solo se han cuantificado los carbohidratos totales en mamey con fluctuaciones de 14 a 31.8 g en 100 g pmf (Azurdia 2006; Gaona-García *et al.*, 2008). En chicozapote, el contenido de glucosa fue importante en la caracterización ya que presentó diferencias significativas entre selecciones, siendo una de las características relevantes para la diferenciación entre grupos. (Gazel, 2002). La variación en concentración de azúcares en frutos también se ha sido reportado en otros frutales tropicales como guanábana (Ojeda de Rodríguez *et al.*, 2007), esto probablemente se deba al genotipo y el ambiente ya que los materiales son de diferentes zonas productoras, y por tanto diferentes condiciones edafo-climáticas que intervienen en la fisiología de la planta. Por otra parte es importante señalar que la estaquiosa es un azúcar que no ha sido reportada en mamey, solamente en cucúrbitas (Hendrix, 1968; Gaudreault y Webb, 1981) y algunas semillas como leguminosas (Dierking y Bilyeu, 2009), por lo cual sería necesario investigar su función en este frutal.

El peso de la semilla tuvo amplio rango de variabilidad (10.07 a 94.84), misma tendencia que se observó en selecciones de Morelos (22.1 a 178 g). Al ser los frutos de diferentes tamaños, igualmente se encontraron semillas de distintas dimensiones y peso. Por otra parte la relación peso mesocarpio/peso semilla también fue muy variable

(1.24 a 17.67), al igual que sucedió en los materiales de Michoacán (7.6 a 13.7), lo cual se debe a que algunos materiales tuvieron más de una semilla, como lo reporta Balardi y Crane (2009), encontrando hasta cuatro semillas por fruto. La relación peso pulpa/peso semilla es importantes, ya que al tener más de una semilla se reduce la cantidad de pulpa, característica no deseable por el consumidor, que prefiere frutos con más pulpa, sin embargo, este tipo de materiales podría ser útil en la propagación, para obtener patrones para injerto (Villegas¹, 2010; comunicación personal).

Cuadro 10. Valores promedios, mínima, máxima, desviación estándar y coeficiente de variación de 24 características cuantitativas evaluadas en 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.

Característica		\bar{X}^2	Mínima	Máxima	s^2	CV (%)
ARBOL	Altura	14.73	5	25.4	6.76	6.78
	Circunferencia a la altura del pecho	1.40	0.62	2.76	0.73	3.01
	Altura a la primera ramificación	2.65	0.43	5.8	1.75	11.09
HOJA	Largo de hoja	35.11	22.5	59.5	8.14	11.07
	Ancho de hoja	10.17	6.14	17.4	2.01	10.94
	Relación largo/ancho	3.49	2.3	5.12	0.63	9.92
	Área Foliar	242.16	92.35	607.2	95.31	21.99
	Peso de hoja	5.47	1.67	11.48	1.92	19.35
FRUTO	Diámetro	8.12	4.48	14.42	10.54	7.53
	Longitud	12.32	8.22	18.3	2.02	9.7
	Relación largo /ancho	1.53	1.01	3.24	0.25	10.79
	Peso fruto	448.90	121.26	829.66	148.57	18.95
	Peso de mesocarpio	313.71	65.76	577.72	114.01	20.26
	Peso epicarpio	85.48	25.56	229.09	35.49	27.33
	Sacarosa	10.94	5.82	16.10	2.56	15.04
	Fructosa	2.51	0.76	4.25	0.77	24.02
	Glucosa	2.69	0.99	4.35	0.70	19.53
	Estaquiosa	1.59	0.48	3.27	0.49	26.48
	Color: luminosidad (L)	41.57	29.55	53.45	5.35	8.68
	Color: cromaticidad (c)	37.50	23.64	46.69	5.67	11.09
	Color: ángulo de matiz ($^{\circ}$ Hue)	43.94	34.10	54.03	4.39	6.48
SEMILLA	Peso semilla	44.72	10.07	94.84	15.41	22.34
	Longitud semilla	7.40	3.90	10.75	1.21	9.11
	Relación peso pulpa/peso semilla	6.66	1.24	17.67	2.58	27.96

\bar{X}^2 : media; s^2 : desviación estándar; CV: coeficiente de variación

¹ Dr. Angel Villegas Monter, Profesor Investigador Titular PREGEP-Fruticultura Campus Montecillo Colegio de Postgraduados.

Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales mostro que la proporción de la varianza explicada se registró en los primeros cuatro componentes. CP1, CP2, CP3 y CP4 explicaron el 30, 22.4, 18, y 12.3 % de la variación total (Cuadro 11).

Cuadro 11. Valores propios, varianza absoluta y acumulada explicada por cuatro componentes principales con base en la matriz de correlaciones de 24 características cuantitativas de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.

Componente principal	Valor propio	Proporción de la varianza explicada (%)	
		Varianza absoluta	Varianza acumulada
1	7.0969	29.57	29.57
2	5.3783	22.41	51.98
3	4.2399	17.67	69.65
4	2.9496	12.29	81.94
5	1.7098	7.12	89.06
6	0.9835	3.95	93.01
7	0.6230	2.60	95.61
8	0.4427	1.84	97.45
9	0.2734	1.14	98.59
10	0.2607	1.09	99.68
11	0.0769	0.32	100

El número de variables más importantes en cada componente principal se determinó en base a los valores propios (Cuadro11), de este modo se consideraron aquellas con los vectores propios más altos en valor absoluto (Cuadro 12).

En el CP1, la variabilidad aportada fue debida al peso de fruto (PFRU), diámetro de fruto (DFRU), peso de pulpa (PMES), peso de epicarpio (PEPI), longitud de fruto (LFRU), ancho de hoja, (AH) y peso de semilla (PSEM).

En el CP2 las características relevantes fueron el largo de la hoja (LH), área foliar (AF), altura de árbol (ALT), circunferencia a la altura del pecho (CAP) y la altura a la primera ramificación (APR).

En el CP3 estuvo determinado por la relación largo/ancho de fruto (RLAFRU), contenido de sacarosa (SAC), longitud de semilla (LSEM) y peso de la hoja (PH).

El CP4 lo determinó la concentración de glucosa (GLU), fructosa (FRU) y estaquiosa (EST).

El análisis de componentes principales indicó que la variabilidad de las selecciones se relacionó con las características del fruto, tales como el peso, forma (relación largo/ancho), peso del mesocarpio, peso del epicarpio y contenido de sacarosa, glucosa, fructosa y estaquiosa. Estos resultados son similares a los reportados por Gaona-García (2008) y Bayuelo-Jiménez *et al.* (2007) en selecciones de mamey de los estados de Morelos y Michoacán. Estos autores mencionan que la variabilidad entre selecciones es atribuida a las características del fruto, la semilla y los azúcares acumulados en el mesocarpio.

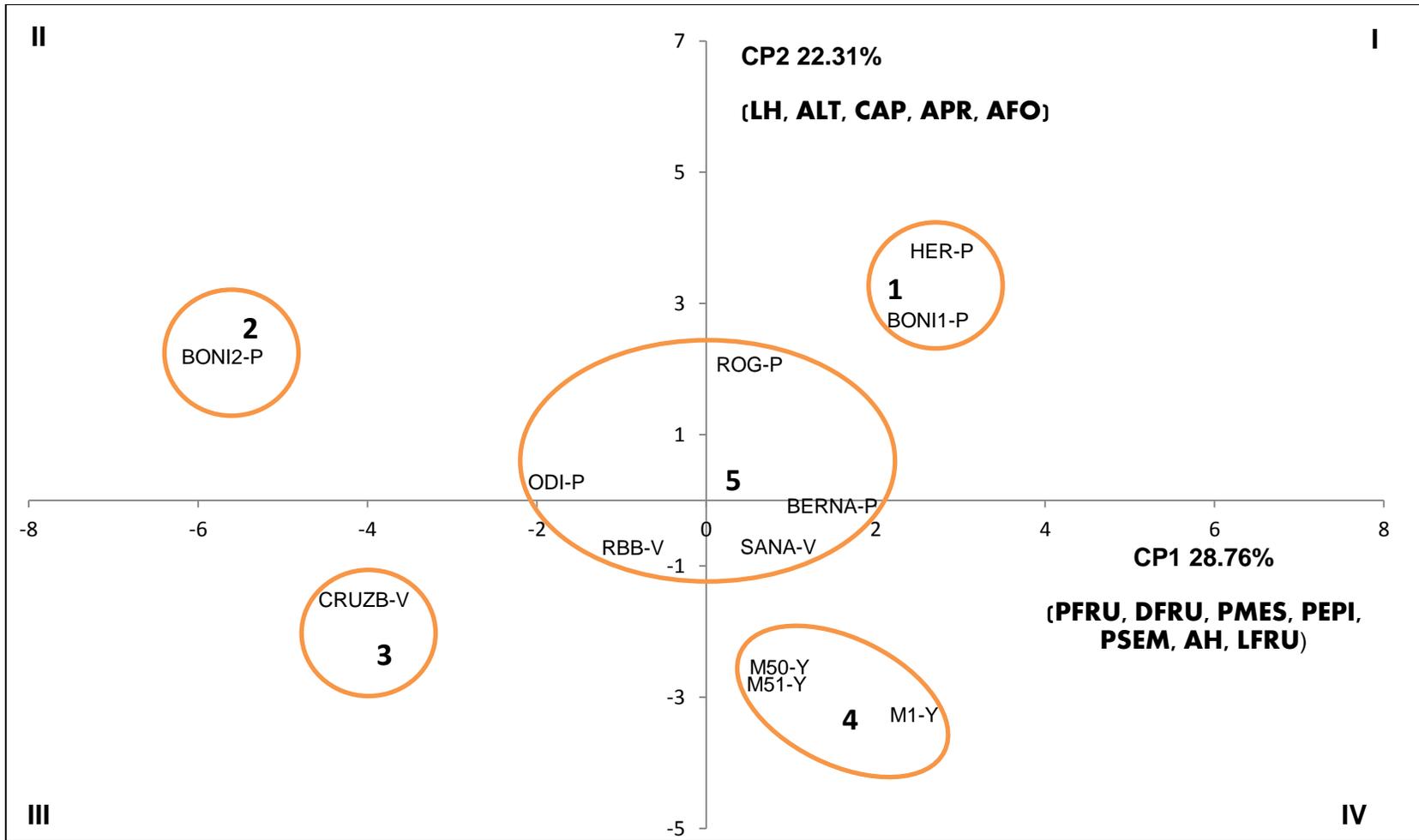
De acuerdo a las variables de los dos primeros componentes principales, es posible definir 5 grupos de selecciones.

El grupo I está representado por las selecciones HER-P y BONI1-P, provenientes del estado de Puebla. Estas selecciones tienen frutos grandes y los árboles de mayor altura. En el grupo II solo está representada por la selección BONI2-P de Puebla, caracterizada por árboles altos con frutos pequeños de reducido peso. Al igual que el grupo anterior, el grupo III esta representado solo por la selección CRUZB-V proveniente de Veracruz, de frutos pequeños y árbol de porte mediano. El grupo IV lo conformo las selecciones M1-Y, M50-Y y M51-Y de Yucatán que se caracterizan por ser frutos grandes de pulpa roja y árboles de porte bajo. El grupo V lo integraron las

selecciones de ROG-P, BERNA-P, ODI-P, RBB-V Y SANA-V que pertenecen a Puebla y Veracruz los árboles son de porte alto y los frutos grandes. La distribución observada entre grupos muestra la variabilidad morfológica de los árboles y los frutos del mamey entre estados y dentro de los estados principalmente de Veracruz y Puebla.

Cuadro 12. Vectores propios de 24 características cuantitativas de los primeros cuatro componentes principales en 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.

Característica	Componentes Principales (CP)			
	CP1	CP2	CP3	CP4
Diámetro del fruto	0.3421	-0.0732	--0.1006	-0.0380
Longitud del fruto	0.2366	-0.0631	0.2809	-0.0127
Relación largo /ancho de fruto	-0.0443	0.1296	0.3781	-0.0267
Peso de fruto	0.3519	-0.0165	0.0622	0.0044
Peso de mesocarpio	0.3355	-0.0110	0.1177	0.0050
Peso de epicarpio	0.3190	-0.1558	-0.1006	0.1111
Peso de semilla	0.2840	0.1404	-0.1089	-0.1719
Relación peso mesocarpio/ peso semilla	0.2082	-0.2466	0.2125	0.1480
Longitud de semilla	0.1710	0.0709	0.3103	0.2726
Color: luminosidad (L)	0.1922	-0.1760	0.2202	-0.0507
Color: cromaticidad (c)	0.0787	0.0609	0.2284	-0.1373
Color: ángulo de matiz (° Hue)	0.1735	-0.1143	0.2543	0.0532
Sacarosa	-0.0368	0.1869	0.2643	-0.0183
Glucosa	-0.0853	0.0188	-0.0197	0.5367
Fructosa	-0.0966	0.0021	-0.0875	0.5300
Estaquiosa	-0.1486	0.1547	0.2088	0.4020
Largo de hoja	0.0393	0.3914	-0.1489	-0.0155
Ancho de hoja	0.2381	0.2038	-0.2459	0.1587
Relación largo/ancho de hoja	-0.2161	0.2732	0.0758	-0.2041
Área foliar	0.1790	0.2959	-0.2248	0.1015
Peso de hoja	0.2151	0.1779	-0.2911	0.1411
Altura de árbol	0.0529	0.3758	0.1471	-0.0781
Circunferencia a la altura del pecho	0.1585	0.3385	0.0115	-0.0276
Altura a la primera ramificación	-0.0416	0.3345	0.2327	0.0052
VALOR PROPIO	7.0969	5.3783	4.2399	2.9496



PFRU=Peso de fruto, **DFRU**=Diámetro del fruto, **LFRU**=Longitud del fruto, **PMES**=Peso de mesocarpio, **PEPI**=Peso de epicarpio, **PSEM**=Peso de semilla, **LH**=Largo de hoja, **AFO**=Área foliar, **CAP**=Circunferencia a la altura del pecho, **ALT**=Altura del árbol, **AH**=ancho de hoja

Figura 4. Dispersión de acuerdo a la variabilidad morfológica de los dos primeros componentes principales de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.

Análisis de conglomerados

En base a las distancias euclidianas (Anexo A) en el análisis de conglomerados por UPGMA se formaron cinco grupos a distancia de corte de 6.25, (Figura 5).

El grupo I lo conformó las selecciones ROG-P, BONI-P, BERNA-P, RBB-V, ODI-P y CRUZB-V. Similar agrupación a la obtenida en el análisis de componentes principales a excepción de CRUZB-V y BONI-P. Este grupo se caracterizó por tener árboles de 18m de altura, frutos con peso promedio de 439 g, mayor relación largo/ancho y peso mesocarpio/peso semilla, semillas más largas y mayor contenido de sacarosa, fructosa, glucosa y estaquiosa (Cuadro 13). El color del mesocarpio fue anaranjado apagado.

El grupo II incluyó la selección SANA-V, caracterizada por árboles de 10 m de altura, con frutos más alargados y de mayor peso (547 g) con semillas grandes (63.9 g) y una alta relación peso pulpa/peso semilla (5.6). Fue un material de los de color anaranjado oscuro o rojizo.

El grupo III incluyó las selecciones M1-Y, M50-Y y M51-Y. Estas selecciones, tienen árboles de 6.3 m altura, el diámetro a la altura del pecho de 0.83 m, con frutos de 500 g, con semillas alargadas y de mayor cantidad de mesocarpio de acuerdo a la relación peso mesocarpio/peso semilla (8.3). El mesocarpio fue de color anaranjado intenso.

En el grupo IV se encuentra la selección HER-P, caracterizada por árboles de 25 m de altura, con frutos redondos y grandes (500 g) pero de una menor relación peso mesocarpio/peso semilla (5.3). El color de los frutos era anaranjado oscuro.

El grupo V lo representó la selección BONI2-P con árboles de 14.6 m. Es una de las selecciones de frutos de menor tamaño (193.8 g) y peso de mesocarpio (112.43 g). Y según el ángulo de matiz fue color anaranjado apagado.

La formación de 5 grupos muestra la variabilidad entre selecciones de los tres estados, dada principalmente por las características del fruto, similar a lo reportado por Gaona-García *et al.* (2008) y Bayuelo-Jiménez *et al.* (2007).

El peso de fruto fue una de las características de mayor variación, SANA-V perteneciente al grupo II fue el material de mayor peso (547 g), seguido de los materiales de Yucatán (500 g) del grupo III, sin embargo, también se identificaron materiales de menor tamaño como fue BONI2-P del grupo V con frutos pequeños. (193.8 g). Así mismo, el mayor peso del mesocarpio fue en SANA-V, seguido de HERM-P (grupo IV), este fue superior al de las selecciones del grupo III, que fueron las segundas de mayor peso de fruto. Generalmente el consumidor prefiere frutos de grandes, ya que los asocian a calidad, sin embargo, la variabilidad de tamaños ofrece una diversificación en el aprovechamiento del fruto, como es su consumo en fresco o procesado, en aguas, paletas helados y postres. Espinos (2005) menciona que los frutos pequeños pueden ser buenos si se crea una estrategia análoga al consumo de un fruto pequeño como es una manzana, que su tamaño facilita su consumo, por otra parte frutos muy grandes pueden servir en la extracción de pulpa para procesamiento.

La forma de los frutos fue desde casi redondos como lo fue la selección HER-P (grupo IV) de Puebla hasta otros elipsoides del grupo I (ROG-P, BONI-P, BERNA-P, RBB-V, ODI-P y CRUZB-V) de Puebla y Veracruz. Comúnmente la forma del mamey más conocida es elipsoidal, sin embargo, se han observado diferentes formas, además esta característica se puede inferir de acuerdo a la relación largo ancho. Algunos autores reportan formas desde elipsoides, alargados, ovoides y globosos (Gazel *et al.*, 1999; Bayuelo-Jiménez y Ochoa 2006; Gaona-García *et al.*, 2008). Gaona-García *et al.* (2008) mencionan que los frutos redondos se asocian con mayor número de semillas, característica no deseable por el consumidor, sin embargo, los materiales que presenten dicha característica podrían ser útiles en la obtención de semillas con la finalidad de germinarla para usar como patrones para injerto.

Por otra parte se observó que los materiales del grupo III, pertenecientes a Yucatán (M1-Y, M50-Y y M51-Y) fueron los de mayor relación peso mesocarpio/peso semilla (8.3). Esta característica es muy importante ya que en el ámbito de mejoramiento y de producción de frutales siempre se buscan los materiales de este tipo, con mayor cantidad de pulpa. Cabe señalar que M1-Y (Magaña 1), es uno de los materiales de amplia extensión de producción en Yucatán, que se caracteriza por ser un fruto de

buen sabor, tamaño y color rojo, que además es propagado vegetativamente (injerto). Este material por su alta relación peso mesocarpio/peso semilla sería ideal para extraer pulpa para su comercialización labor que en los últimos años ya se ha puesto en marcha.

Las selecciones de Yucatán del grupo III fueron las de mayor peso de epicarpio mientras que la selección BONI2-P (grupo V) la de menor. Esto está directamente relacionado con el tamaño del fruto ya que BONI2-P fue un material pequeño, sin embargo entre la selección SANA-V y los materiales de Yucatán que fueron de peso de fruto similar, estos últimos son de mayor peso de epicarpio y por consiguiente de grosor. Esta característica es de suma importancia en el aspecto postcosecha ya que durante el transporte de fruto debería considerarse con la finalidad de no mermar la calidad de la fruta. Por otra parte la cáscara de mamey también tendría uso en la industria de los sustratos.

A pesar de que el color no tuvo mucha variación se logró identificar a la selección SANA-V (grupo II) como la de color anaranjado intenso o anaranjado rojizo (ángulo de matiz = 39.2), el resto de las selecciones fueron de color anaranjado. Gaona-García *et al.* (2008) reportan en materiales de Morelos valores de 67 a 70 con lo cual el color estaría en el rango de anaranjado claro a amarillo. El color es una característica importante para el consumidor que asocia a calidad, y es lo primero que observa al escoger el fruto, generalmente se prefieren los de pulpa roja. Por lo que los materiales evaluados serían promisorios, si bien no son rojos, tienden a ese color.

Con lo anterior podemos observar la variabilidad que existe en zapote mamey de tres de los estados productores, reflejada principalmente por las características de sus frutos, con lo que se tiene una amplia gama de materiales ya sea para consumo en fresco, frutos pequeños a medianos (200-350 g), de colores naranja a rojizo, cantidad de pulpa considerable o bien para programas de mejoramiento (>500 g). Por lo cual es de suma importancia caracterizar los materiales que se tienen para la conservación y uso estos de manera adecuada.

Mamey es un cultivo que se adapta bien a climas tropicales y subtropicales en y altitudes de 0 a 1300 m (Azurdia, 2006), las selecciones evaluadas fueron de climas parecidos, sin embargo, la altitud fue una variante bien definida. Los materiales de Yucatán se desarrollan a altitud de 13 a 16 m mientras que los de Veracruz a 58 - 80 m y los de Puebla fueron los de mayor altitud de 300 a 500 m. Se corrobora que este frutal se puede desarrollar muy bien a diferentes altitudes.

Hasta el momento solo se tenía conocimiento de la variabilidad de materiales en Michoacán, Morelos y Guerrero, con esto se contribuye a conocer un poco más de la diversidad que tienen otros estados productores de esta especie.

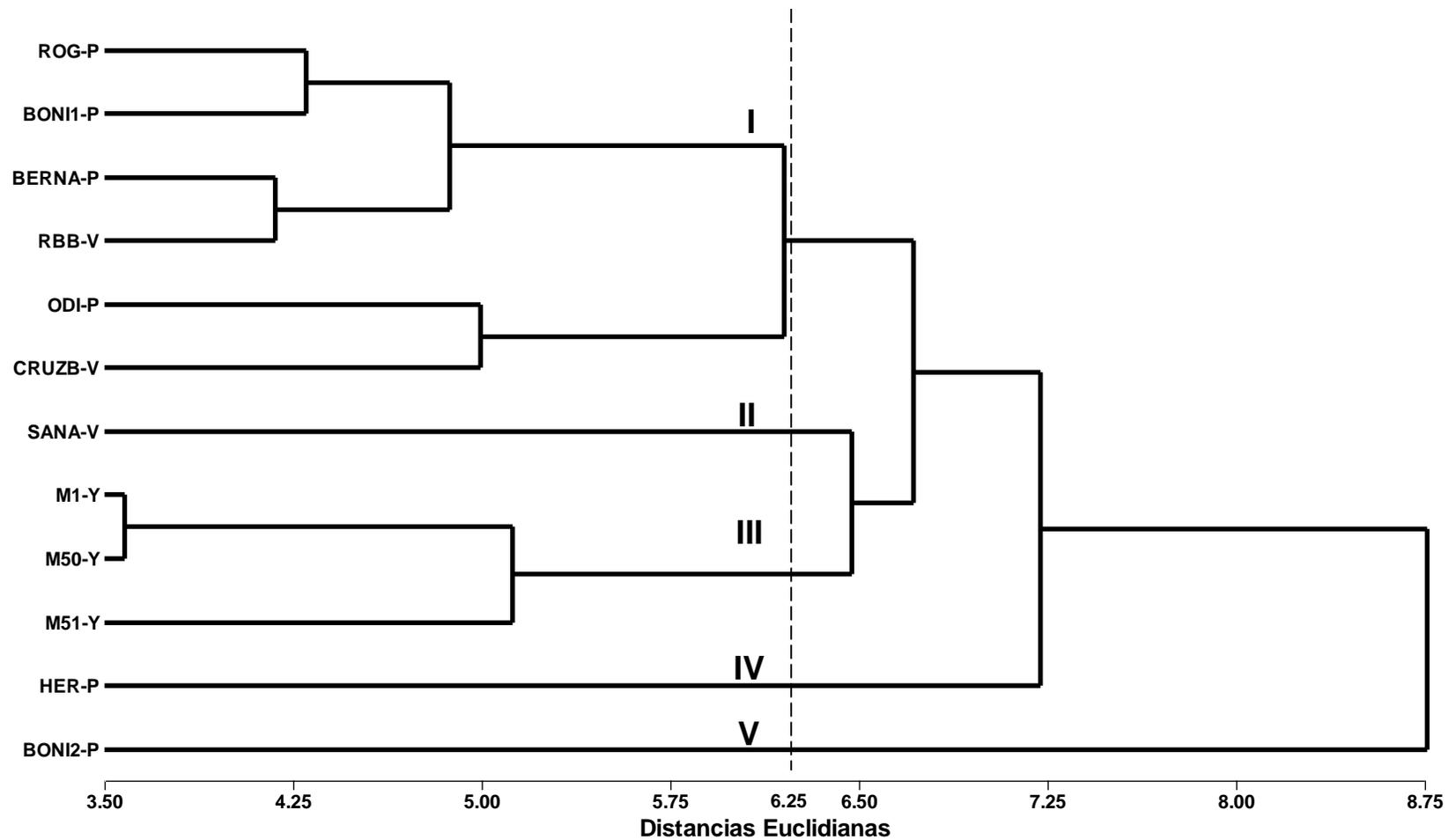


Figura 5. Dendrograma de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) construido con el método de UPGMA, a partir de 24 características cuantitativas. Correlación cofenética $r = 0.77$.

Cuadro 13. Medias de los cinco grupos formados por I análisis de conglomerados a partir de 24 características cuantitativas en 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

Característica		GRUPO				
		I	II	III	IV	V
ARBOL	Altura	18.09 b ^z	10 cd	6.3 d	25.3 a	14.6 bc
	Circunferencia a la altura del pecho	1.56 b	1.14 b	0.83 b	2.75 a	0.86 b
	Altura a la primera ramificación	3.73 a	0.65 b	0.60 b	3.32 a	3.53 a
HOJA	Largo de hoja	34.3 c	35.4 c	28.1 d	50.8 a	44.1 b
	Ancho de hoja	9.4 b	9.5 b	10.6 b	13.8 a	9.9 b
	Relación largo ancho	3.6 b	3.7 b	2.6 c	3.6 b	4.4 a
	Área Foliar	217.0 b	222.3 b	228.4 b	431.0 a	264.9 b
	Peso de hoja	4.63 b	5.83 b	6.02 b	8.17 a	5.7 b
FRUTO	Diámetro	7.8 b	8.6 a	8.8 a	9 a	6.3 c
	Longitud	12.9 a	13.3 a	11.7 b	11.4 b	9.6 c
	Relación largo /ancho	1.6 a	1.5 b	1.3 c	1.2 c	1.5 b
	Peso fruto	439.3 b	546.6 a	500 ab	510 a	193.8 c
	Peso mesocarpio	314.4 b	394.3 a	340.4 b	349.7 ab	112.43 c
	Peso epicarpio	75.1 c	88.2 bc	117.3 a	93.7 b	40.43 d
	Sacarosa	12.1 a	10.2 a	8.76 a	11.3 a	10.2 a
	Fructosa	2.32ab	1.70 b	2.86 ab	2.28 b	3.58 a
	Glucosa	2.57 ab	1.83b	2.96 ab	2.56 ab	3.59 a
	Estaquiosa	1.72 ab	0.92 b	1.45 ab	1.45 ab	2.0 a
	Color: luminosidad (L)	42.1 a	38.3 a	44.1 a	40.7 a	31.5 b
	Color: cromaticidad (c)	39.1 a	36.2 ab	35.9 ab	41.5 a	28.8 b
	Color: ángulo de matiz (^o Hue)	45.2 a	39.2 bc	45.1 a	43.9 a	37.0 c
SEMILLA	Peso semilla	41.7 b	63.9 a	42.9 b	62.9 a	30.1 c
	Longitud semilla	7.9 a	5.1 c	7.5 a	7.6 a	6.0 b
	Relación peso pulpa/ peso semilla	6.8 a	5.6 bc	8.3 a	5.3 c	2.9 d

^zMedias seguidas de la misma letra en cada fila no difieren significativamente entre sí (Tukey, 0.05)

Análisis de correspondencia simple

Para el análisis de correspondencia simple se incluyeron siete variables discretas: hábito de crecimiento, forma de la copa, color y variegación de la semilla, forma de fruto, forma de ápice de fruto y número de semillas. De este análisis se observó que el valor singular λ_1 explicó 45% de la variación total, λ_2 22%, y λ_3 16 % con lo cual los tres primeros valores explican 83.32 % de la variación total (Cuadro 14).

Cuadro 14. Valores de descomposición de la inercia y Chi-cuadrada del análisis de correspondencia simple de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.

Eje principal	Valor singular	Inercia principal	Chi-cuadrada	Porcentaje
λ_1	0.2036	0.0414	7.3430	45.29
λ_2	0.1421	0.0202	3.5747	22.05
λ_3	0.1210	0.0146	2.5917	15.98

La forma de la copa (FC) determinó el primer eje (λ_1) con 0.4207 de contribución relativa, mientras que la forma del fruto (FF) y la variegación de la semilla (VARSE) el segundo eje (λ_2) (Cuadro 15).

De acuerdo a las variables del eje 1 y 2 fue posible identificar 4 grupos (Figura 6).

El primer grupo (grupo 1) se representó por las selecciones CRUZB-V, ODI-P y BERNA-P, que presentan árboles de copa piramidal, con frutos elipsoides y globosos y la semilla con margen claro.

Cuadro 15. Contribuciones relativas (CR) y absolutas (CA) asociadas a los principales ejes del análisis de correspondencia simple en 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México.

Característica	Calidad	CR1	CA1	CR2	CA2	CR3	CA3
Hábito de crecimiento	0.9998	0.1121	-0.1534	0.0125	-0.0357	0.3131	-0.1523
Forma de copa	0.9999	0.4207	0.3209	0.0405	0.0663	0.0508	0.0663
Color de la semilla	1.0000	0.0188	-0.0729	0.0968	-0.1154	0.3201	0.1786
Variegación de la semilla	1.0000	0.3348	-0.3920	0.3968	0.2977	0.0847	0.1171
Forma de fruto	1.0000	0.0100	-0.0496	0.3392	-0.2010	0.0030	-0.0160
Forma del ápice del fruto	0.9959	0.0203	0.1071	0.0006	0.0127	0.0230	0.0677
Número de semillas	0.9963	0.0566	0.1723	0.0405	0.1017	0.0417	-0.0878
Germinación prematura	0.9947	0.0266	0.1226	0.0731	0.1418	0.1637	-0.1806

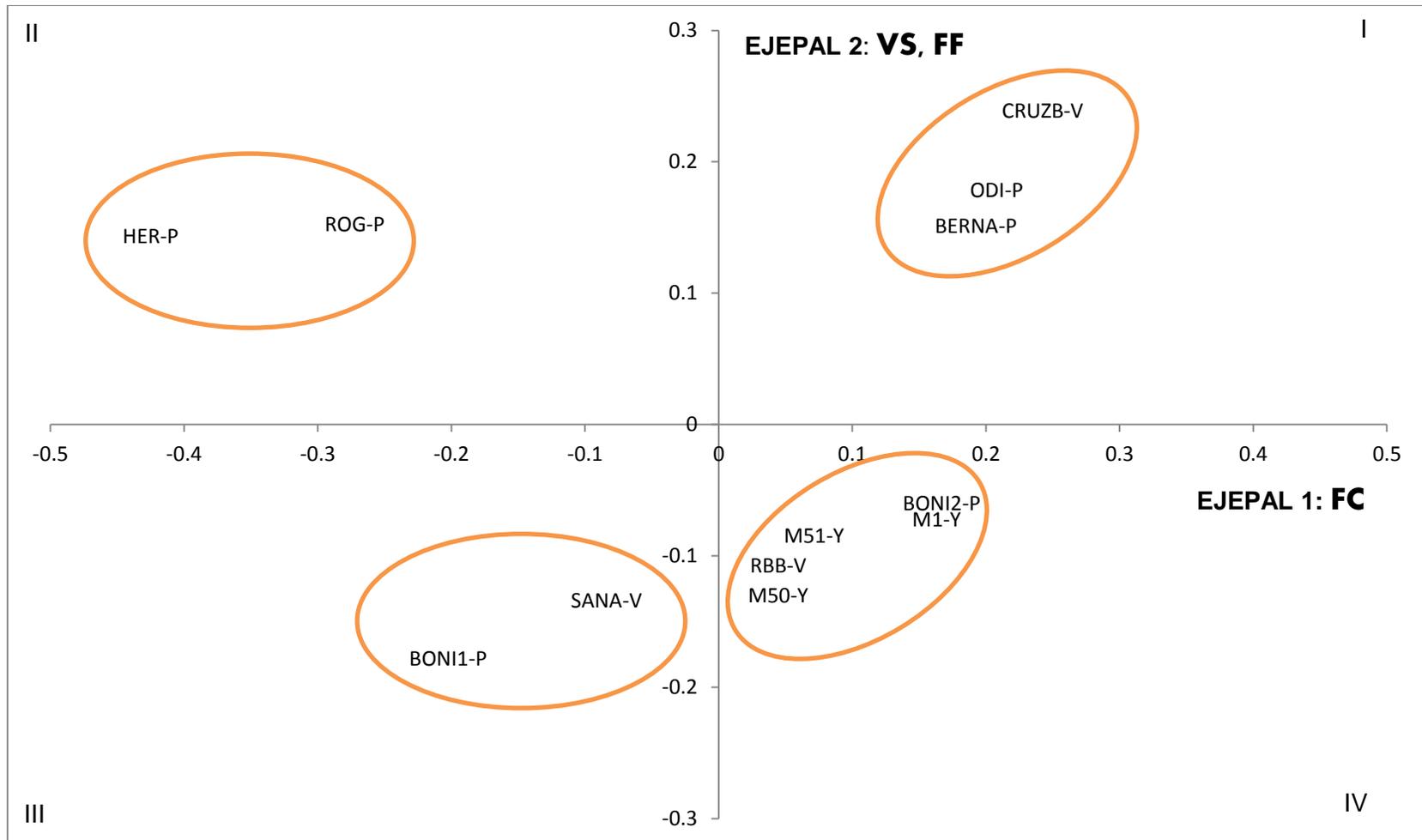
En el grupo II, se situaron dos selecciones de Puebla (HER-P y ROG-P) la forma de la copa semicircular o bien sin forma, con frutos entre globosos y ovoides, y semillas variegada además de margen color claro. El grupo III reunió a los materiales BONI1-P y SANA-V, de Puebla y Veracruz respectivamente, la copa de estos árboles fue semicircular o sin forma, los frutos ovoides y semillas de margen claro. El cuarto grupo (IV) lo conformó BONI2-P, M1-Y, M51-Y, M50-Y y RBB-V, materiales de Puebla, Veracruz y Yucatán, los árboles fueron de copa piramidal y los frutos ovoides con semillas de margen claro.

Se observó que los árboles jóvenes tienen forma de la copa piramidal, algunos con base más ancha que otros, sin embargo, conforme van creciendo, como el caso de BONI1-P, algunas ramas se alargan y se va perdiendo la figura piramidal del inicio. En otros casos el árbol pierde dominancia apical por la poda "natural" debido a vientos fuertes (nortes) dado que las ramas de esta especie puede quebrarse con facilidad (Azurdia, 2006).

Así mismo dentro de las características cualitativas más importantes, la forma del fruto fue la de mayor variabilidad similar a lo que describe Bayuelo-Jiménez *et al.*

(2007) con frutos de formas globosas, ovadas y obovadas en materiales de Michoacán, o bien Gazel (1999), que describe frutos alargados, ovalados y redondo achatado.

De nuevo se observa que tanto en las características cuantitativas como cualitativas las características que aportan mayor variabilidad fueron relacionadas con el fruto.



FC=Forma de la copa; **VS**=Variegación de la semilla; **FF**= Forma del fruto

Figura 6. Distribución de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla, Veracruz y Yucatán, México, en base a dos ejes principales del análisis de correspondencia simple a partir de ocho variables cualitativas.

Análisis de conglomerados

El análisis de conglomerados, en base a matriz de distancias euclidianas (Anexo B), mostró semejanza con el de análisis de correspondencia simple (ACS), sin embargo se formaron dos grupos más (Figura 7).

El grupo I, fue el conformado por las selecciones ROG-P y HER-P, se caracterizó por tener árboles con ramas extendidas y caídas, dando forma semicircular a la copa y en algunos casos sin forma. Los frutos fueron globosos y ovoides con ápice recto, con una semilla de color café siena a oscura, completamente variegada además de margen claro y no presentan germinación prematura (Cuadro 16).

En el grupo II, se ubicaron los materiales RBB-V, M50-Y, M1-Y, M51-Y, SANAN –V y BONI-P, fue de los más diversos encontrando árboles con hábito de crecimiento vertical tendiendo a esparcirse o bien extendidos y algunos con ramas más caídas, lo que daba forma de copa piramidal, semicircular, y algunos sin forma. Sin embargo, todas las selecciones de este grupo tuvieron frutos ovoides con ápices rectos. La semilla de color café siena y café oscura con margen claro.

El grupo III, lo formó BERNA-P y CRUZB-V con árboles de forma vertical con copa piramidal. De frutos elipsoides con ápice recto, semillas color café perú y café siena de margen claro.

En el grupo IV solo se situó BONI2-P el material era de hábito de crecimiento vertical con copa piramidal, frutos ovoides con ápice curvo, diferente al resto de las selecciones, con dos semillas color café oscura de margen claro.

El grupo V, fue ODI-P la selección tenía hábito de crecimiento extendido con copa piramidal. Los frutos fueron globosos de ápice recto, con dos semillas color café Perú de margen claro, y presentaba germinación prematura.

Las características cualitativas son de suma importancia ya que a simple vista se pueden distinguir diferencias. Las formas de los frutos de mamey es variable, debido a esa diversidad el consumidor tiene una amplia gama de las cuales puede escoger. En los materiales evaluados se encontraron de globosos a ovoides. Se ha visto que la forma del fruto tiene relación con el número de semillas, siendo las de forma globosa o redonda de mayor número de semillas lo que se observó claramente en la selección ODI-P. Así mismo al tener mayor número de semillas se reduce la cantidad de mesocarpio, estos materiales podrían tener poca aceptación en el mercado para consumo en fresco, sin embargo, pueden tener otros usos, como germinación de la semilla para patrones de mamey, o bien extracción de aceites.

La semilla mostró diferentes colores siendo en algunas más oscura como fue en la selección BONI2-P (grupo IV), o los materiales del grupo I (ROG-P y HER-P) y II (RBB-V, M50-Y, M1-Y, M51-Y, SANAN -V y BONI-P), esta característica llama mucha la atención al hacer mayor contraste con el color de la pulpa, por lo cual tiene gran preferencia por el consumidor, considerando que el color es la principal característica que evalúan al comprar un fruto. Mientras que las selecciones que tienen una semilla de color café claro, son menos llamativas.

Finalmente tanto el análisis de componentes principales (características cuantitativas) como en el de correspondencia simple (características cualitativas) determinaron que las características más discriminativas en la variabilidad de las selecciones en estudio fueron peso de fruto, pulpa, semilla, epicarpio, forma de fruto, variegación de la semilla y forma de la copa del árbol.

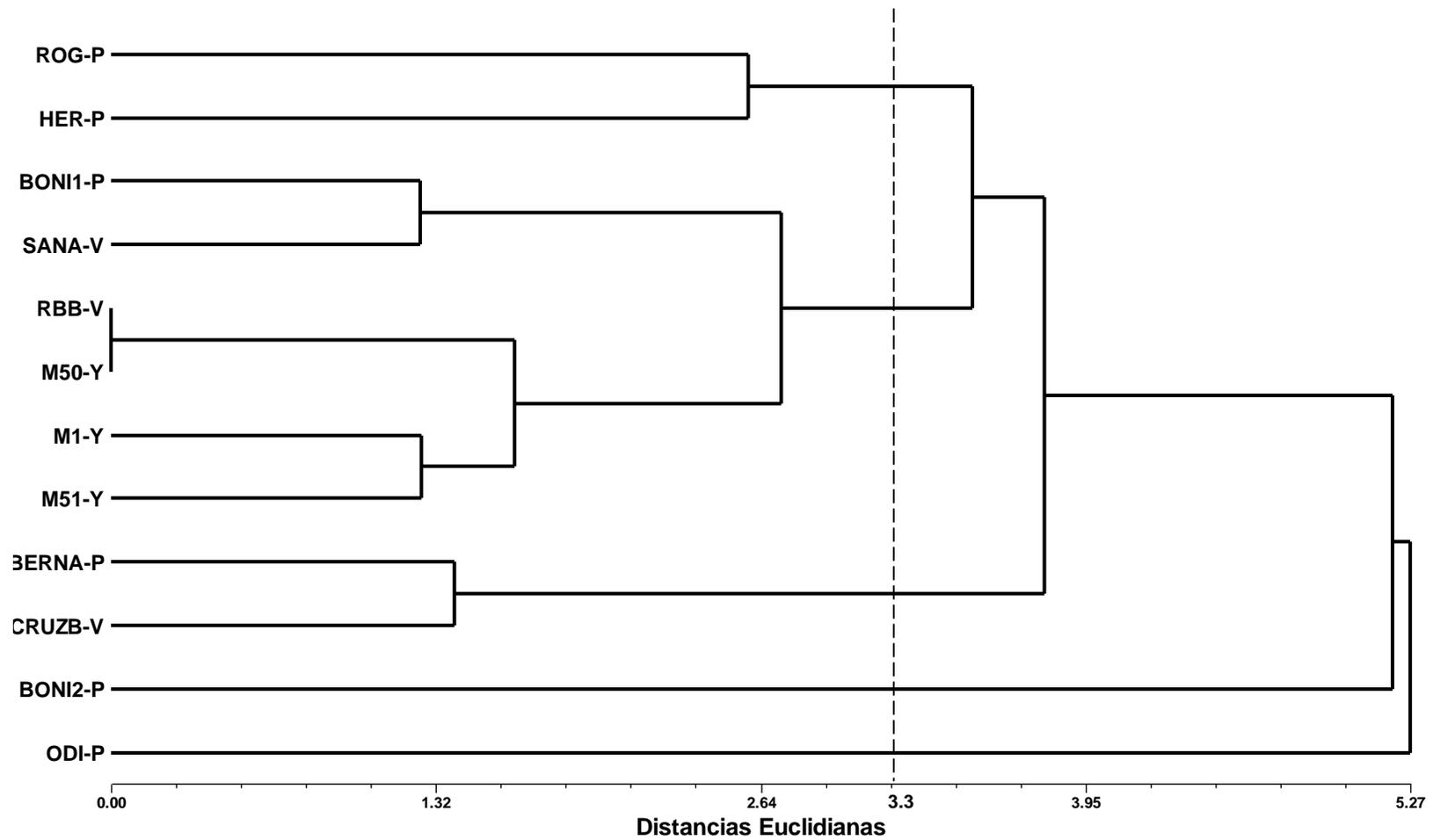


Figura 7. Dendrograma de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) construido con el método de UPGMA, a partir de ocho características morfológicas cualitativas. Correlación cofenética $r = 0.90$.

Cuadro 16. Características de cinco grupos formados por el análisis de conglomerados a partir de ocho variables cualitativas en 12 selecciones de sapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

Característica	Grupo					
	I	II	III	IV	V	
ARBOL	Hábito de crecimiento	Expandido - caído	Vertical- expandido – caído	Vertical- expandido	Vertical- expandido	Expandido
	Forma de la copa	Semicircular-sin forma	Semicircular, sin forma, piramidal	Piramidal	Piramidal	Piramidal
FRUTO	Forma de fruto	globoso-ovoide	Ovoide	Elipsoide	Ovoide	Globoso
	Forma de ápice de fruto	Recto	Recto	Recto	Curvo	Recto
	No. de semillas	Una	Una	Una	Dos	Dos
SEMILLA	Color	Café siena-oscura	Café siena –oscura	Café Perú-siena	Café oscuro	Café Perú
	Variegación	Variegación completa y margen claro	Margen claro	Margen claro	Margen claro	Margen claro
	Germinación prematura	Ausente	ausente	Ausente	ausente	Presente

Determinación de azúcares en hoja y fruto

La Figura 8 representa la concentración de azúcares acumulados en las hojas de mamey. En general, la concentración de estaquiosa y sacarosa fue significativamente mayor a la acumulación de glucosa y fructuosa.

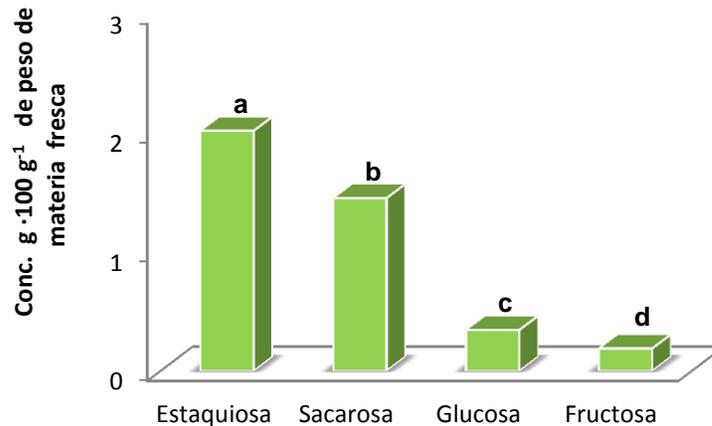


Figura 8. Concentración y tipo de azúcares en hojas de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) determinado por HPLC. ²Medias seguidas de la misma letra en cada columna no difieren significativamente entre sí (Tukey, $P \leq 0.05$).

Así mismo estaquiosa fue mayor que sacarosa. La sacarosa es el principal azúcar translocado por muchas plantas; sin embargo, algunas otras, transportan azúcares no reducidos y azúcares alcoholes como sorbitol (Webb y Burley, 1962; Flora y Madura, 1993). Dentro de los azúcares no reductores se encuentran los oligosacáridos (rafinosa, estaquiosa y verbascosa). Estos azúcares pueden ser transportados vía floema al igual que la sacarosa debido a que son menos reactivos en comparación con los azúcares reductores (glucosa y fructosa) (Taiz y Zeiger, 2002).

La estaquiosa está constituida por dos moléculas de galactosa más una molécula de sacarosa (Vaclavik y Christian, 2008). La síntesis y transporte de estaquiosa han sido motivo de varios estudios. Las primeras investigaciones realizadas por Zimmerman (1957) reportan la acumulación de estaquiosa en los tubos cribosos de

árboles de fresno (*Fraxinus americana* L.), olmo americano (*Ulmus americana* L.), Tilo americano (*Tilia americana* L), tulipero de virginia (*Liriodendron tulipifera* L) y arraclán (*Rhamnus frangula*). Posteriormente, se volvió a confirmar la presencia de estaquiosa, en mayor proporción con relación a otros azúcares, en las venas intermedias y peciolos de las hojas de fresno, y además en calabaza (*Cucurbita pepo*) y gordolobo (*Verbascum thapsus*) por lo que los autores sugieren que podría de ser azúcar de transporte para estas especies (Webb y Burley, 1964). Similar a lo anterior, Beebe y Turgeon (1992) reportaron estaquiosa en mesófilo y células intermediarias de venas secundarias en hojas de calabaza.

Lodish *et al.* (2004) mencionaron que la síntesis de estaquiosa se lleva a cabo en células intermedias (floema), ya que la sacarosa, elaborada en mesófilo, pasa a través de células del haz de la vaina, a células intermedias vía plasmodesmos, donde se encuentra la galactosa y las enzimas necesarias para formar estaquiosa. Debido a la anatomía de tejido y tamaño de dicho azúcar, esta no puede regresar a células del haz de la vaina, pero puede continuar la difusión por los tubos cribosos vía simplasto (Zimmermann, 1957). Por lo que al encontrar estaquiosa en mayor concentración valdría la pena evaluar si podría ser un azúcar de transporte en esta especie.

Al comparar la concentración de azúcares en hoja entre selecciones CRUZB-V, RBB-V de Veracruz y BERNA-P de Puebla fueron superiores en estaquiosa (Cuadro 17). En el caso de sacarosa, las selecciones BERNA-P de Puebla y SANA-V de Veracruz presentaron mayor concentración de manera significativa. En glucosa y fructosa no hubo diferencias entre selecciones (Cuadro 17). La selección BERNA-P, llama la atención al ser la que presentó las mayores concentraciones tanto en estaquiosa como en sacarosa, lo que demuestra que el genotipo está determinando este resultado, ya que otras selecciones de Puebla no presentaron dicha respuesta. Mientras que las selecciones de Veracruz que mostraron mayores concentraciones de estaquiosa y sacarosa fueron diferentes, nuevamente se ve la influencia del genotipo.

De acuerdo a la comparación entre azúcares en hoja, en la mayoría de las selecciones estaquiosa superó estadísticamente a sacarosa, glucosa y fructosa (Cuadro 17), a excepción de BONI1-P donde sacarosa fue mayor que estaquiosa

respuesta que puede atribuirse a la selección ya que fue la única de las de Puebla que presento dicho comportamiento.

Cuadro 17. Concentración y tipo de azúcares ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de peso de materia fresca), determinado por HPLC en hojas de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) de 9 selecciones.

Selección	Estaquiosa	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
	Promedio $\pm \sigma$	Promedio $\pm \sigma$	Promedio $\pm \sigma$	Promedio $\pm \sigma$
ROG-P	1.96 bcA ^z ± 0.05	1.53 bcdB ± 0.02	0.39 nsC ± 0.01	0.23 nsD ± 0.03
BONI2 -P	1.99 bcA ± 0.01	1.22 eB ± 0.02	0.28 nsC ± 0.08	0.10 nsD ± 0.01
BONI1-P	1.27 dB ± 0.09	1.56 bcA ± 0.09	0.31 nsC ± 0.03	0.22 nsC ± 0.04
BERNA-P	2.29 abA ± 0.17	1.72 aB ± 0.01	0.27 nsC ± 0.01	0.10 nsC ± 0.06
HER-P	2.05 bcA ± 0.25	1.54 cdB ± 0.02	0.36 nsC ± 0.09	0.18 ns ± 0.13
ODI-P	1.83 cA ± 0.06	1.41 dB ± 0.11	0.35 nsC ± 0.009	0.18 nsD ± 0.01
RBB-V	2.23 abcA ± 0.23	1.51 bcdB ± 0.03	0.33 nsC ± 0.01	0.20 nsC ± 0.01
SANA-V	1.97 bcA ± 0.06	1.65 abB ± 0.03	0.36 nsC ± 0.01	0.23 nsD ± 0.03
CRUZB-V	2.51 aA ± 0.12	0.96 fB ± 0.09	0.36 nsC ± 0.07	0.19 nsD ± 0.04

^zMedias seguidas de la misma letra minúscula en cada columna, y con la misma letra mayúscula en cada hilera, no difieren significativamente entre sí (Tukey, $P \leq 0.05$).

σ : Desviación estándar

En fruto se cuantificó sacarosa, glucosa, fructosa y estaquiosa. En este caso sacarosa presentó mayor cantidad en general y superó a glucosa, fructosa y estaquiosa (Figura 9).

De acuerdo a la concentración de azúcares entre selecciones, en sacarosa no hubo diferencias significativas, sin embargo, los materiales RBB-V y BERNA-P presentaron las mayores concentraciones (13.73 g y $12.54 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ pmf, respectivamente). Sacarosa es el principal azúcar de transporte y por tanto se encuentra en el fruto, pero cabe señal que fueron las mismas selecciones que tuvieron mayor concentración de estaquiosa en hoja, y se sabe que estaquiosa también es un azúcar de transporte en

algunas especies, y en su composición tiene una molécula de sacarosa, por lo cual debieron llevarse a cabo reacciones de hidrólisis en el fruto para romper la molécula de estaquiosa y dejar sacarosa la cual sumada a la sacarosa propiamente transportada aumento la cantidad al final en los frutos siendo este el azúcar de mayor concentración.

Con respecto a glucosa y fructosa BONI2-P fue la selección que mostró diferencias significativas ($3.58 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ pmf}$, en ambos casos) y para estaquiosa no hubo diferencias sin embargo, también BONI2-P fue mayor ($2.00 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ pmf}$) (Cuadro 18).

De acuerdo a la comparación entre azúcares por selección, en todas las selecciones sacarosa fue superior, seguido de glucosa, fructosa y estaquiosa que se mantuvieron similares a excepción de BERNA-P, donde hubo diferencias en glucosa con fructosa y esta a su vez con estaquiosa (2.70 , 2.20 y $1.58 \text{ g}^{-1} \text{ pmf}$, respectivamente).

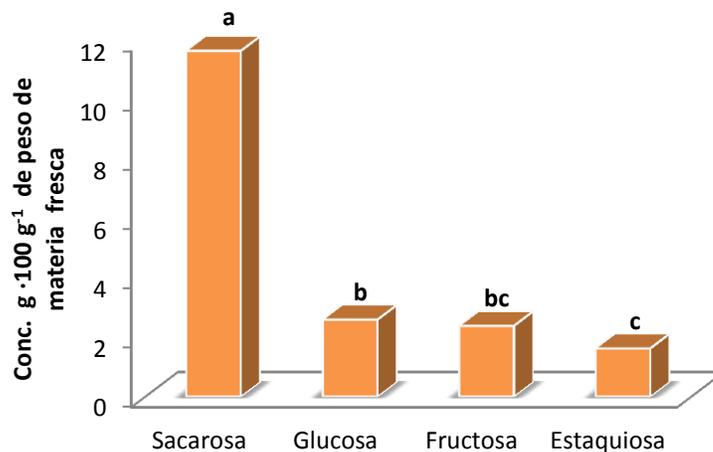


Figura 9. Concentración y tipo de azúcares en general en frutos de 12 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) determinado por HPLC. ²Medias seguidas de la misma letra no difieren significativamente entre sí (Tukey, $P \leq 0.05$).

Estudios previos en mamey reportan la concentración de azúcares totales entre 14 y $31 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ de peso fresco (Alia-Tejacal *et al.*, 2002; Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2007). Solo Gazel (1999) cuantificó sacarosa glucosa y fructosa en mamey en concentraciones de $11.3 \text{ g } / 100 \text{ g pmf}$, $5.2 \text{ g} / 100 \text{ g pmf}$ y $4.9 \text{ g} / 100 \text{ g pmf}$ respectivamente, similar a lo encontrado en el presente estudio. En otras especies

tropicales como guanábana encontraron $16\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ pmf de azúcares totales, en relación 1:2:2 y 1:3:3 de sacarosa, glucosa y fructosa (Ojeda de Rodríguez *et al.*, 2007), en banana $11\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ en relación 1:1:5 (fructosa, glucosa, sacarosa) y en papaya 3 a $5\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ relación 1:1:2, 1:1:3 (fructosa, glucosa, sacarosa) (Torija *et al.*, 1998). Podemos observar que zapote mamey tiene mayor contenido de azúcares totales, principalmente sacarosa en comparación de otros frutales tropicales.

Estaquiosa es un azúcar que no ha sido estudiado en frutales, no obstante estudios realizados en otras plantas han mostrado tener ventajas, por ejemplo: actúa en semillas de algunas leguminosas como agente protector durante la desecación y almacenamiento con baja humedad (Dierking y Bilyeu, 2009) también protege a las raíces durante heladas en el invierno (Xianfeng *et al.*, 2011). Por otra parte, es un oligosacárido considerado como pre-biótico que puede estimular el crecimiento de bifidobacterias benéficas en el intestino, así como proteger las funciones de los órganos eliminando sustancias dañinas (FAO, 1998; Seo *et al.*, 2007), al encontrarlo en mamey, es otra de las cualidades atribuibles a este frutal.

Cabe señalar que la determinación del perfil de azúcares mostro resultados relevantes ya que se detectó la presencia de estaquiosa en hoja, azúcar no reportado anteriormente en esta especie, sin embargo, se debe considerar en futuras investigaciones debido a que se presentó en mayor concentración en comparación con sacarosa que comúnmente es el azúcar de transporte de las especies.

Cuadro 18. Concentración y tipo de azúcares ($\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$ de peso de materia fresca), determinado por HPLC en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) de 9 selecciones.

Selección	Estaquiosa	Sacarosa	Glucosa	Fructosa
	Promedio $\pm \sigma$	Promedio $\pm \sigma$	Promedio $\pm \sigma$	Promedio $\pm \sigma$
ROG-P	1.89 aB ² ± 0.20	12.36 aA ± 1.86	2.79 abB ± 0.32	2.77 abB ± 0.38
BONI2 -P	2.00 aC ± 0.08	10.27aA ± 0.65	3.58 aB ± 0.21	3.58 aB ± 0.28
BONI1-P	1.98 aB ± 0.21	11.91aA ± 0.97	2.90 abB ± 0.72	2.65 abB ± 0.94
BERNA-P	1.58 aD ± 0.08	12.54 aA ± 0.26	2.70 abB ± 0.11	2.20 abC ± 0.12
HER-P	1.45 aB ± 0.23	11.39 aA ± 1.51	2.55 abB ± 0.28	2.28 abB ± 0.26
ODI-P	1.26 aB ± 0.33	11.33 aA ± 3.48	2.01 bB ± 0.94	1.80 bB ± 0.95
RBB-V	1.62 aB ± 0.65	13.76 aA ± 3.28	2.27 bB ± 0.81	2.07 bB ± 0.82
SANA-V	0.92 aB ± 0.45	10.25 aA ± 1.32	1.83 bB ± 0.14	1.70 bB ± 0.19
CRUZB-V	1.98 aB ± 1.12	11.16 aA ± 2.48	2.74 abB ± 0.73	2.44 abB ± 0.72

²Medias seguidas de la misma letra minúscula en cada columna, y con la misma letra mayúscula en cada hilera, no difieren significativamente entre sí (Tukey, $P \leq 0.05$).

σ : Desviación estándar

Análisis molecular mediante AFLP's

Nivel de polimorfismo

Debido a que en zapote mamey solo se encontró un trabajo de análisis molecular con el uso de AFLPs y no se mencionan cuales combinaciones de iniciadores (primers) usaron en la amplificación selectiva, se decidió utilizar las 64 combinaciones posibles, de las cuales 27 mostraron polimorfismos (Cuadro 19) dando en total 89 bandas polimórficas. Cabe señalar que fueron pocas las bandas generadas, diferente a lo que mencionan Vos *et al.* (1995) con 50-100 bandas con una combinación de amplificación selectiva, mientras que en el genero *Musa* con ocho combinaciones tuvieron 260 bandas polimórficas (Ude *et al.*, 2002), en vid tres combinaciones mostraron 111

bandas, de las cuales 81 fueron polimórficas (Martínez *et al.*, 2003), en cítricos 109 bandas con 94 polimórficas (Tapia *et al.*, 2005). Sin embargo, Carraca *et al.*, (2004) reportan 104 marcadores en mamey, pero no mencionan el número y combinaciones evaluadas. Así mismo, a pesar de no saber el tamaño del genoma del zapote mamey, se observó que los fragmentos se concentraron en tamaños de 100 a 800 pb.

Las combinaciones *EcoAAG* más *MseCTA* y *EcoACC* más *MseCAT* fueron las que generaron mayor número de bandas (20) con 30 y 15 % de polimorfismo respectivamente, mientras que las combinaciones *EcoAAG* más *MseCTC*, *EcoACA* más *MseCTA* y *EcoAGC* más *MseCTG* con nueve, cinco y 12 bandas respectivamente, fueron las que generaron mayor polimorfismo (88.99, 80 y 58.33 %).

En otros trabajos solo se han utilizado las combinaciones que dan mayor porcentaje de polimorfismo. Tal es el caso de cítricos donde se utilizaron *EcoACA* más *MseCAG* y *EcoAGG* más *MseCAA* (86 % de polimorfismo) (Tapia *et al.*, 2005), en papaya seis (*ACG/CGC*, *ACG/CAG*, *ACA/CAC*, *ACA/CTA*, *ACC/CTA*, *AAC/CTA*) con 48.7 a 97.8 % de polimorfismo (Alonso *et al.*, 2009), en vid *EcoACC-MseCTG*, *EcoACC-MseCTG*, y *EcoACC-MseCAA*. (81 % de polimorfismo) (Martínez *et al.*, 2003).

Cuadro 19. Combinaciones de AFLP que presentaron polimorfismo en 19 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn), *P. campechiana*, *P. fossicola*, *Manilkara zapota* y *Chrisophyllum cainito*.

Combinación de iniciadores	Número de Bandas	Bandas Polimórficas	Polimorfismo (%)	Combinación de iniciadores	Número de Bandas	Bandas Polimórficas	Polimorfismo (%)
AAC/CAA	6	1	16.6	ACG/CAT	12	1	8.33
AAC/CAC	18	5	27.78	ACG/CTA	9	2	22.22
AAC/CAG	19	6	31.58	ACT/CAA	8	4	50.00
AAC/CTA	11	3	27.27	ACT/CAT	12	3	25.00
AAC/CTT	11	1	9.09	ACT/CTG	8	3	37.50
AAG/CTA	20	6	30.00	AGC/CAA	4	1	25.00
AAG/CTC	9	8	88.89	AGC/CAC	9	4	44.44
AAG/CTG	8	4	50.00	AGC/CAT	10	1	10.00
ACA/CAC	13	3	23.08	AGC/CTA	15	3	20.00
ACA/CTA	5	4	80.00	AGC/CTG	12	7	58.33
ACC/CAG	16	5	31.25	AGC/CTT	9	2	22.22
ACC/CAT	20	3	15.00	AGG/CAG	15	2	13.33
ACC/CTA	18	1	5.56	AGG/CTT	9	5	55.56
ACG/CAA	14	1	7.14	Total	320	89	27.81

Análisis de agrupamiento

A partir de los datos moleculares de las 19 selecciones de zapote mamey incluyendo los polimorfismos con respecto a *Pouteria campechiana*, *P. fossicola*, *Manilkara zapota* y *Chrisophyllum cainito* se generó el dendrograma con coeficiente de correlación cofenético de 0.99, que representa el ajuste de los datos con respecto a la representación gráfica (Figura 10).

Los valores de coeficiente de similitud entre individuos fueron elevados de 0.88 hasta 0.98, entre selecciones de zapote mamey y se observó claramente la diferencia con las otras especies de Sapotáceas, (los valores cercanos a 1 indican que son materiales muy relacionados), siendo *Manilkara zapota* la especie más diferente del zapote mamey y la más cercana *P. fossicola*. Carraca *et al.* (2004) mencionan algo similar cuando incluyeron una muestra que compartía características de *P. sapota*, *P. fossicola* y *P. viridis*, siendo las especies con más parentesco a zapote mamey (*P. sapota*). Así mismo, en el estudio que realizaron con 41 selecciones de zapote mamey mencionan que se observó poca variabilidad entre genotipos. El material que más difería era una selección de Colombia con coeficiente de similitud de 0.52, mientras que en promedio, el resto estuvo en 0.88. Similar a lo que mencionaron Heaton *et al.* (1999) en materiales de *Manilkara zapota* (L.) P. Royen pero con uso de marcadores RAPD, donde no hubo diferencias genéticas, y asumen que posiblemente no existe un componente genético en la variación morfológica observada, y que probablemente pudiera deberse a factores ambientales.

Así mismo, se generó un dendrograma con las bandas polimórficas de selecciones de zapote mamey de Guerrero, Puebla, Veracruz y Yucatán con coeficiente de correlación cofenético de 0.84 (Figura 11). Los valores de similitud fueron de 0.3 a 0.84 (Anexo C.). Con distancia de 0.64 se formaron ocho grupos.

El primer grupo se conformó por siete selecciones: HERM-P, CID 23-G, DPACO-G, PIEDRA-G, ELREGALO-G y ALFONS17-G, donde quedaron la mayoría de los materiales de Guerrero y uno de Puebla.

En el segundo grupo se ubicaron tres materiales CRUZB-V, RISUEÑO-G, M50-Y, de Veracruz, Puebla y Yucatán.

El tercer grupo se conformó por ROG-P, BERNA-P, ODI-P, RBB-V y SANA-V, tres selecciones de Puebla y dos de Veracruz.

En el cuarto grupo quedó la selección M51-Y. En el quinto M1-Y de Yucatán, este se considera de frutos más rojos. En el sexto, AMARILLO-G de Guerrero, selección que se caracteriza por tener la pulpa clara. En el séptimo BONI1-P de Puebla, con frutos grandes de bastante pulpa y en el octavo grupo, BONI2-P también de Puebla, este es de los materiales de frutos pequeños que además frecuentemente tienen dos semillas.

El análisis de componentes principales a partir de los datos moleculares AFLP de las selecciones de mamey corrobora lo que se muestra en el dendrograma (Figura 12). Claramente se aprecia que los materiales diferentes son BONI2-P, AMARILLO-G, BONI1-P y M1-Y. Se observa otro grupo formado por SANAN-V, ROG-P, ODI-P y BERNA-P, y otro donde quedan las selecciones M51-Y, PIEDRA-G, REGALO-G, CID23-G, RISUEÑO-G, M50-Y, RBB-V, CRUZB-V. Estas últimas tres selecciones de Veracruz aparecen en el dendrograma en un grupo diferente, quizá en componentes principales no se aprecia bien la ubicación porque solo se manejan dos dimensiones. Así mismo se ve Alfonso17-G y DPACO-G, materiales de Guerrero en otro grupo.

De manera general, los resultados presentados demuestran que entre las selecciones de zapote mamey existe diversidad a pesar de las pocas bandas generadas y bajo polimorfismo encontrado. Mediante marcadores AFLP's se logró agrupar principalmente las selecciones de Guerrero, a excepción de RISUEÑO-G y AMARILLO-G que quedaron separados.

En la mayoría de trabajos donde han utilizado dos o más tipos de marcadores con la misma finalidad, los AFLP han sido los más discriminantes y mejores en estudios de diversidad, para separar grupos e incluso para detectar materiales similares información que en ocasiones otros marcadores no aportan, ejemplo RAPD (Ipek *et al.*, 2003; García *et al.*, 2004).

Sin embargo, se recomienda hacer un estudio más amplio incluyendo otros materiales de las zonas productoras de zapote mamey con la finalidad de observar la variabilidad de este frutal en nuestro país y para futuros trabajos de mejoramiento.

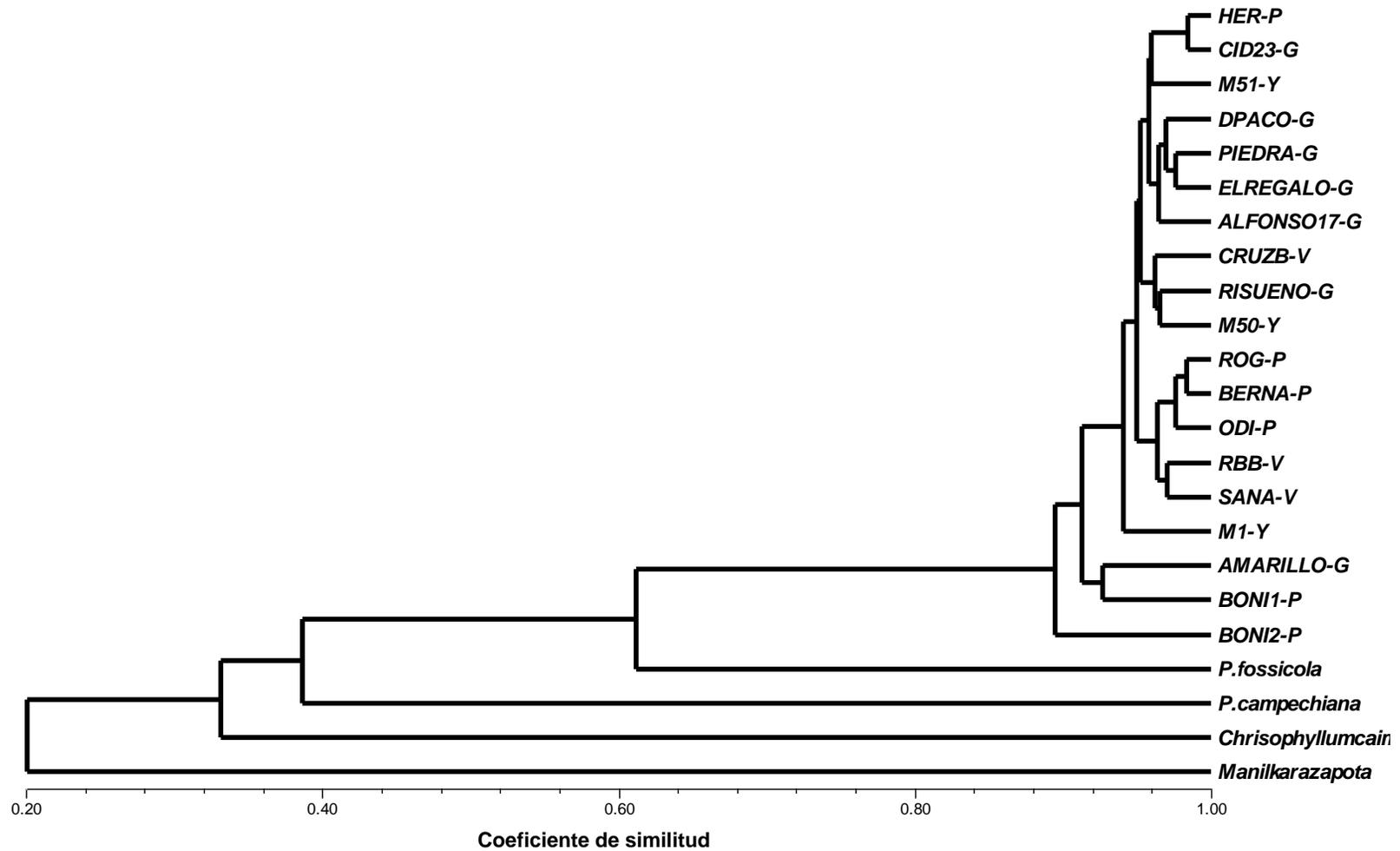


Figura 10. Dendrograma de agrupamientos UPGM de 19 selecciones de zapote mamey y tres especies de la misma familia: *Pouteria fossicola*, *P. campechiana*, *Chrisophyllum cainito* y *Manilkara zapota* coeficiente cofenético ($r = 0.99$).

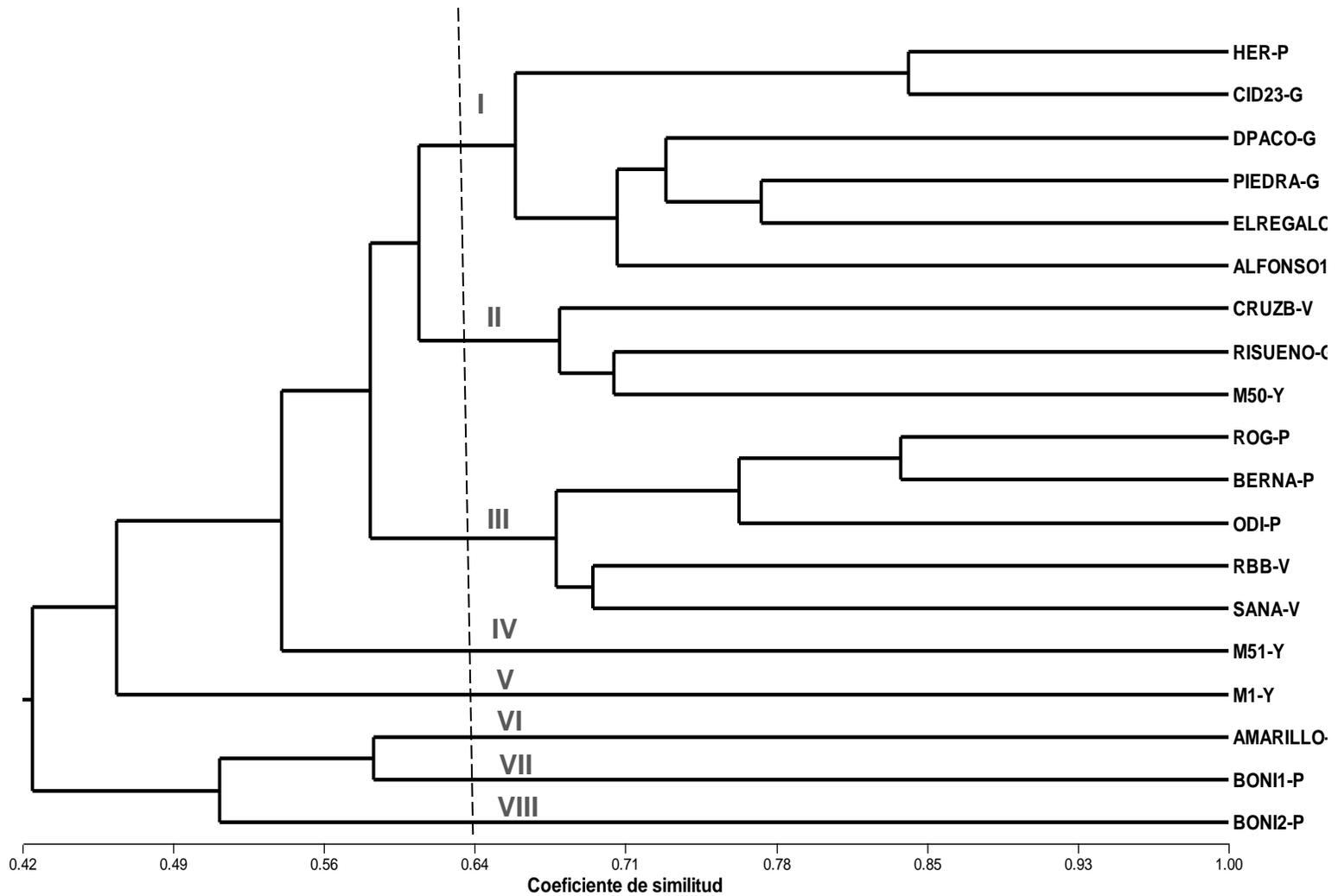


Figura 11. Dendrograma de agrupamientos UPGM de 19 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) provenientes de Puebla Veracruz Yucatán y Guerrero, Mexico. Coeficiente cofenético ($r=0.84$).

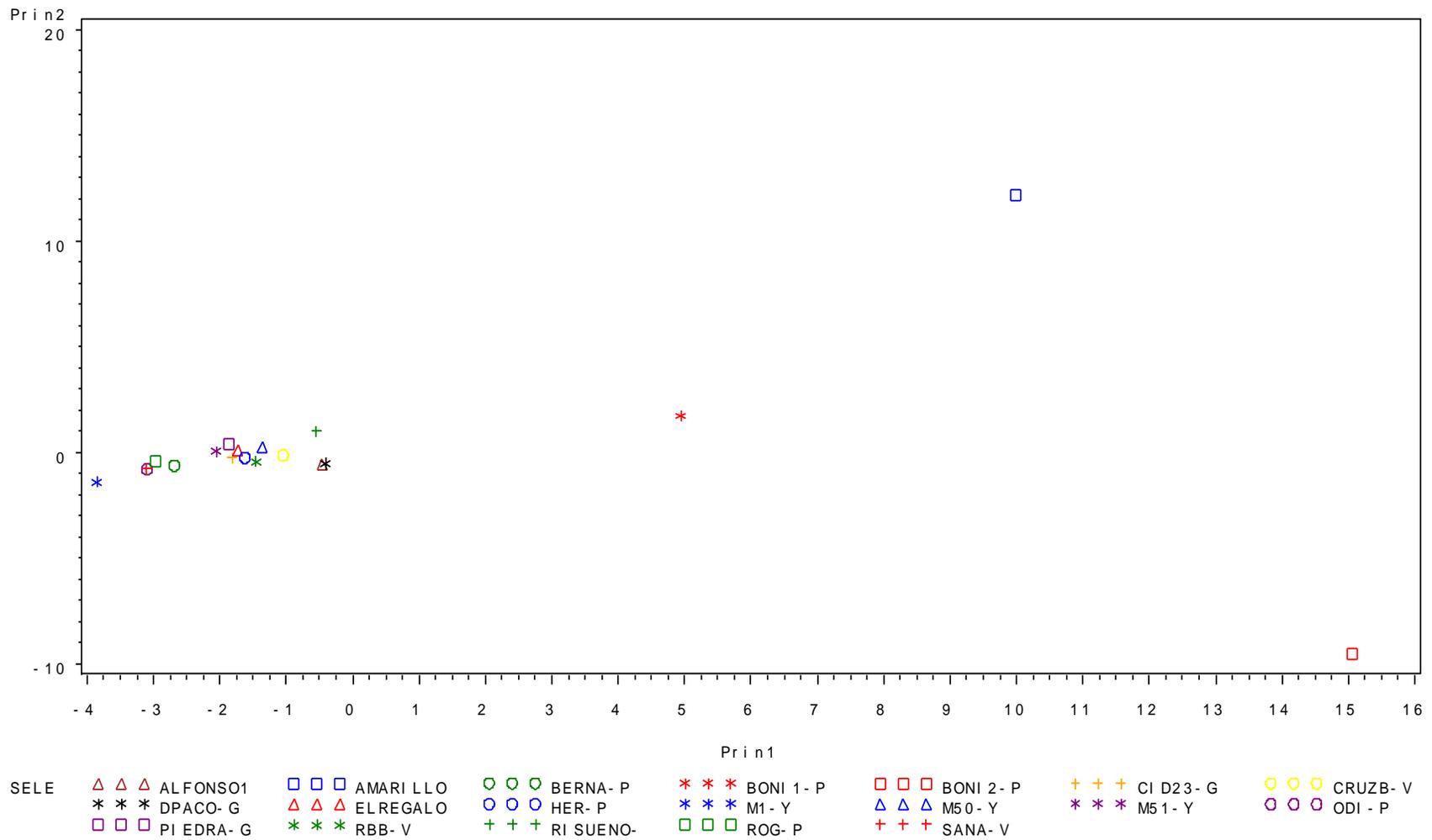


Figura 12. Dispersión de 19 selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) a partir de los dos componentes principales generados de datos moleculares AFLP.

Comparación entre datos morfológicos y AFLPs

En aquellos individuos donde se realizaron los dos análisis se compararon las matrices cofenéticas, mediante la prueba de Mantel, con el propósito de evaluar el nivel de correlación de los datos obtenidos. El valor de correlación cofenética fue $r = -0.49$, lo que indica que la correlación es mínima entre los datos morfológicos y los moleculares.

La baja correlación de los datos morfológicos con los moleculares han sido reportados en otros estudios: en *Citrus spp.* (Tapia *et al.*, 2005), yuca (Demey *et al.*, 2003), *lens culinaris* Medikus (Fikiru *et al.*, 2011), al igual que en mandarina donde Koehler-Santos *et al.* (2003) encontraron diferencias en los dendrogramas generados a partir de datos morfológicos y moleculares y adjudican dicha variación a factores evolutivos y presión de selección.

Además, dado que los AFLP son marcadores arbitrarios y neutrales, la presencia o ausencia de una banda entre individuos no necesariamente significa que este relacionada con un gen que codifique para la expresión de cierta característica en la planta. Como mencionan Demey *et al.*, (2003) que la similitud fenotípica no necesariamente es producto de la similitud genotípica, sino que diferentes pool de genes pueden generar fenotipos similares.

Sin embargo, Hillis y Moritz (1990) mencionan que estudios donde se integren descriptores morfológicos y marcadores moleculares ofrecen información que se puede considerar complementaria ya que no se origina un patrón único de asociación, corroborando la importancia de ambos estudios para obtener mejor descripción e interpretación de la diversidad genética de los individuos.

CONCLUSIONES

Las características determinantes para diferenciar entre selecciones de zapote mamey fueron: peso del fruto (PFRU), pulpa (PPUL), epicarpio (PEPI) relación peso pulpa/peso semilla, forma de fruto (FF) y color de la semilla (CS).

Los marcadores AFLP no fueron capaces de discriminar entre selecciones de acuerdo a su origen a excepción de los materiales de Guerrero.

En hojas de mamey, estaquiosa es el azúcar presente en mayor cantidad. En fruto se encuentra principalmente sacarosa.

RECOMENDACIONES

Es necesario desarrollar descriptores para zapote mamey con la finalidad de hacer la caracterización en base a los mismos parámetros. Así mismo, en futuras investigaciones sería importante evaluar la presencia de estaquiosa en tallo y raíz como azúcar de transporte.

LITERATURA CITADA

- Agarwal, M., N. Shrivastava, H. Padh. 2008. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.* 27:617-631.
- Agustí, M. 2010. *Fruticultura*. 2da. Edición. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 507 p.
- Alia-Tejagal, I., M.T. Colinas-León, M.T. Martínez Damián, M.R. Soto-Hernández. 2002. Factores fisiológicos , bioquímicos y de calidad en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) durante poscosecha. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 8:263-281.
- Alia-Tejagal, I., M.R. Soto-Hernández, M.T. Colinas-León, M.T. Martínez Damián. 2005. Análisis preeliminar de carotenoides y compuestos fenólicos en frutos de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 11:225-231
- Alonso E.A., M. Bautista A., M. Ortiz G. A. Quiroz M., W.Rohde y L.F. Sánchez T. 2009. Characterising Cuban papaya accessions (*Carica papaya* L.) by AFLP markers. *Rev. Colomb. Biotecnol.*11(2)31:39.
- Andrade R., M., T. J. R. Rojas, I. Alia T. 2008. Caracterización morfológica y molecular de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) *In: El zapote mamey en México: avances de investigación*. 2008. Alia T., I., A. Villegas M., V. López. M., M. Andrade R., C. M. Acosta D., O.G Villegas T., D. Guillén S. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos México. pp 41-56.
- Arencibia A., Delgado M., Jorge H., Coto O., Jorge O., García H. 2006. Caracterización molecular de variedades cubanas de caña de azúcar (*Saccharum* spp) mediante AFLP. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29(01):19-25.

- Azofeifa A., D. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas: aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17:221-242.
- Azurdia C. 2006. Tres Especies de Zapote en América Tropical (*Pouteria campechiana*, *P. sapota* y *P. viridis*). Southampton Centre for Underutilized Crops, Universidad de Southampton, Southampton, UK. 254p.
- Balerdi, C.F. y 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.
- Bastianel, A.L.M., A.C. de Olivera, M. Cristofani, and M.A. Machado. 2006. Diversidade genética entre híbridos de laranja-doce e tangor "Murcott" avaliada por AFLP e RAPD. *Pesq. Agropec. Bras.* 41: 779-784.
- Batista, A y Filho G. 2002 Caracterización de plantas de chicozapote (*Manilkara zapota* (L.) P. van Royen) de la colección del CATIE, mediante el uso del análisis multivariado. *Rev. Bras. Frutic.* 24:227:230.
- Bayuelo J.J.S. y I. Ochoa. 2006. Caracterización Morfológica de sapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq) H.E. Moore y Stearn) del centro occidente de Michoacán, México. *Fitotecnia Mexicana* 29:9-17.
- Bayuelo-Jiménez J.S., N. Rivera Alcantar and I. Ochoa. 2007. Sapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacquin) H.E. Moore y Stearn): A potential fruit crop for subtropical regions of Michoacán, México. *Canadian Journal of Plant Science* 537-544.
- Beebe, D.U., R. Turgeon. 1992. Localization of galactinol, raffinose, and stachyose in *Cucurbita pepo* leaves. *Planta* 188:354-361.
- Bialeski, R.L. and R.J. Redgwell. 1985. Sorbitol versus sucrose as photosynthesis and translocation products in developing apricot leaves. *Aust. J. Plant. Physiol.* 12(6):657-668.
- Bretting P., K. y M. P. Widrlechner, 1995. Genetic markers and horticultural germplasms management. *HortScience* 30:1349-1355.

- Carraca S., R., R. Campbell and R. Shnell. 2004. Genetic variation among cultivated selections of mamey sapote (*Pouteria* spp. Sapotaceae). Proceedings of the Florida State Horticultural Society 117: 195-200.
- Chao, C.C.T., P.S. Devanand, and B.R. Cao. 2004. Identification of satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) cultivars in california using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. Acta Hort. 634:159-165.
- CIAT. 2007. Multi-Instgitudinal Distance Learning Course on the ExSitu Conservation of Plant Genetic Resources. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). Cali, Colombia pp. 171-181.
- CIMMYT. 2006. The applied biotechnology center manual of laboratory protocols. Third Edition. CIMMYT, D.F., México.
- Cituk, C. D.E., J.M. Tun Z.,V. Reyes O., T. Canché B., A. Chacón C., C. Magaña R. 2008. El cultivo y diagnostico nutricional del mamey en Yucatán .In: El zapote mamey en México: avances de investigación. Alia T., I., A. Villegas M., V. López. M., M. Andrade R., C. M. Acosta D., O.G Villegas T., D. Guillén S. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos México. pp 41-56.
- Dehestani, A. and S.K. Kazemi Tabar, 2007. A Rapid Efficient Method for DNA Isolation from Plants with High Levels of Secondary Metabolites. Asian Journal of Plant Sciences, 6: 977-981.
- Demey, J.R., A.V. Zambrano, F.Fuenmayer, V. Segovia. 2003. Relación entre caracterización molecular y morfológica en una colección de yuca. Interciencia 28:684-689.
- Dierking E.C. and K. D. Bilyeu. 2009. Raffinose and stachyose metabolism are not required for efficient soybean seed germination. Journal of Plant Physiology 166:1329-1335.

- Dietrich H., E.Krüger-Steden, C. Dieter Patz, F. Will, A. Rheinberger, I. Hopf. 2007. Increase of sorbitol in pear and apple juice by water stress, a consequence of climatic change?. Science & Research 348-355.
- Domínguez, B., A. Martínez-Morales y I. Alía-Tejacal. 2010. Caracterización de la maduración en ecotipos de zapote mamey. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 11:122-129.
- Domínguez-Ordoñez, L., A. Villegas-Monter, E. García-Villanueva, S. Espinoza-Zaragoza. 2007. Fenología de la floración en seis genotipos de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) en Alpoyeca, Estado de Guerrero, México. Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort. 51:132-137.
- Espinosa Z., S. 2009. Fisiología postcosecha y calidad de fruto de once genotipos sobresalientes de zapote mamey producidos en Alpoyeca, Guerrero, México. Tesis de doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México 87 p.
- Espinos, Z. S., C. Saucedo V., A. Villegas M., M.E. Ibarra E. 2005. Caracterización de frutos de zapote mamey en Guerrero, México. Interamerican Society for Tropical Horticulture 48: 135-138.
- Fahn, A. 1977. Plant Anatomy. Secon edition, Pergamon Press Oxford. New York USA. 611p.
- FAO. 1998. Carbohydrates in human nutrition Chapter 1 The role of carbohydrates in nutrition. In: FAO Food and nutrition papers. 20 Mayo 2011. <http://www.fao.org/docrep/W8079E/W8079E00.htm>
- Fikiru, E., K. Tesfaye y E. Bekele. 2011. Morphological and molecular variation in Ethiopian lentil (*Lens culinaris* Medikus) varieties. International Journal of Genetics and Molecular Biology 3(4):60:67.
- Flora, L.L., and M.A. Madore.1993. Stachyose and manitol transport in olive (*Olea europaea* L.). Planta 189:484-490.

- Franco, T. L. e Hidalgo, R. (eds.). 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Boletín técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p
- Franco-Mora, O., S. Aguirre-Ortega, E. J. Morales-Rosales, A. Gonzales-Huerta y F. Gutiérrez-Rodríguez. 2009. Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México. Ciencia 17:61-66.
- Freeman, C.E. and D. Worthington R. 1989. Is there a difference in the sugar composition of cultivated sweet fruits of tropical/subtropical and temperate origins? Biotropica 21: 219-222.
- Fry, K. N., P. Savelkoul H.M. and P. Visca. 2009. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis is a universal polymerase chain reaction (PCR). Methods in Molecular Biology. Molecular Epidemiology of Microorganisms 551: 89-104.
- Gálvez, L.D. 2006. Caracterización molecular de mangos (*Mangifera indica* L.) criollos chiapanecos y relaciones genéticas con mangos de otras regiones de México. Tesis de Maestría. Centro de Biotecnología genómica. Reynosa, Tamaulipas. 73 p.
- Gaona-García, A.; I. Alia-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(1): 41-47.
- García, A.A.F., L.L.Benchimol, A.M.M. Barbosa, I.O.Geraldi. C.L.Souza, A.P.de Souza. 2004. Comparasion of RAPD, RFLP, AFLP and SSR. Markers for diversity studies in tropical maize inbred lines.
- García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la republica mexicana). Cuarta edición. México D.F.

- García-Mas, J.; E. Graziano; M.J. Aranzana; A. Monforte; M. Oliver; J. Ballester; M.A. Viruel y P Arús. 2000. Marcadores de ADN: conceptos, tipos, protocolos. *In: Los Marcadores Genéticos en la Mejora Vegetal*. Nuez, F. y J.M. Carrillo (eds.) Sociedad Española de Genética. Universidad Politécnica de Valencia. pp. 91-151.
- Gaudreault P.R. and J.A. Webb. 1981. Stachyose synthesis in leave of *Cucurbita pepo*. *Phytochemistry* 20:2629-2633.
- Gazel, F. A.B. 2002. Caracterización de plantas de chicozapote (*Manilkara zapota* (L.) P. van Royen) de la colección del CATIE, mediante el uso del análisis multivariado. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal* 24(3):727-730,
- Gazel F., A.B., J. Morera, P. Ferreira, J. León y J. Pérez. 1999. Diversidad genética de la colección de zapote (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) del CATIE. *Plant Genetic Resources Newsletter* 117:37-42.
- Gil-Vega K., C. Díaz, A Nava-Cedillo and J Simpson. 2005. AFLP analysis of *Agave tequilana* Varieties. *Plant Science* 170:904-909.
- Guo, Q., Y. Yu, Q. He, X. Li, and G. Liang. 2007. AFLP analysis of four wild *Malus mill*. *Acta Hort. (ISHS)* 760:131-136.
- Heaton H., J., R. Whitkus and A. Gómez-Pompa. 1999. Extreme ecological and phenotypic differences in the tropical tree chicozapote (*Manilkara zapota* (L) P. Royen) are not matched by genetic diverange: random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Molecular Ecology* 8:627-632.
- Hendrix, J.E. 1968. Labeling pattern of translocated stachyose in squash. *Plant Physiol.* 43:1631-1636.
- Hidalgo R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. *In: Franco T. L.; Hidalgo R. (eds.) 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Boletín técnico No. 8 IPGRI, Cali, Colombia. pp. 2-26.*

- Hillis, D.M. y C. Mortiz. 1990. Molecular systematics: context and controversies. In: Hillis, D.M., C.Mortiz (eds). Molecular Systematics. Sinauer. Sunderland U.S.A. pp 1-11.
- Huber J.L.A., D. Mason P. and S. C. Huber. 1990. Partial purification and characterization of stachyose synthase in leaves of *cucumis sativus* and *cucumis melo*: utilization of a rapid assay for myo-inositol. Plant Science. 69:179-188.
- Hurtado M., A., G. Llacer, M.L. Badenes, and A.G. Abbott. 2006. Genetic linkage maps of two apricot cultivars (*Prunus armeniaca* L.) Based on RAPD and AFLP markers. Acta Hort. 701:301.
- Ibarra, E.M.E. 2005. Morfología de hojas y fenología en selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) de Alpayeca, Gro., y Cazonas, Ver. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México, 60 p.
- Ipek, M., A. Ipek, and S. Philipp W. 2003. Compararison of AFLPs, RAPD markers, and isoenzymes for Diversity assessment of garlic and detection of putative duplicates in germiplasm collections. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 128(2):246-252
- Jasso-Argumedo, J. 2008. Caracterización de 11 materiales criollos de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq) en el estado de Yucatán. In: 3era Reunión Nacional de Innovación Agrícola y Forestal. Mérida, Yucatán 2008.
- Jiménez, T.S., A. Garín, J.A. Beltrán, Y. Gogorcena A., M.A. Moreno S. 2003. Effect of several rootstocks on fruit quality of Sunburst sweet cherry. ISHS Acta Horticulturae 99(1):112-119.
- Johnson, E.D. 1990. Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. Thomson Editores. México 566 p.
- Karp, A., S. Kresovich, K.V. Bhat, W.g. Ayad and T. Hodgkin. 1997. Molecular tools. In: Plant Genetic Resources Copnservation: A guide to the Technologies. IPGRI Bulletin 2. International Plant Resources Institute, Italia 47 p.

- Kato, C.Y., Nagai, C., Moore, P.H., Zee, F., Kim, M.S. Steiger, D.L. and Ming, R. 2005. Intra-specific DNA polymorphism in pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) assessed by AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51:815-825.
- Kliwer, W.M. 1966. Sugars and organic acids of *vitis vinifera*. *Plant Physiology* 41:923-931.
- Koehler-Santos, P., A.L.C. Dornelles, L.B. de Fretias. 2003. Characterization of mandarin citrus germoplasm from southern Brazil by morphological and molecular analyses. *Pes. Agropec. Bras.* 38:797-806.
- Liang, G., G. Xiong, Q. Guo, Q. He, and X. Li. 2007. AFLP analysis and the taxonomy of citrus. *Acta Hort.* 760:137.
- LICOR. 2007. IRDye Fluorescent AFLP Kit for Large Plant Genome Analysis. Nebraska, USA.
- Lodisch Berka, Zipursky S.L, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. W H Freeman and Co 2000. *Molecular Cell Biology*. Editorial Médica Panamericana. 4th. Ed. New York USA.
- López, J.A. y D. Hidalgo M. 1994. Análisis de componentes principales y análisis factorial. *In: Ato, M. y J.J. López (Eds.). Fundamentos de Estadística con SYSTAT*. Addison Wesley Iberoamericana. Madrid. pp. 457-503.
- López M., V., I.A. Tejacal, M.J.G. Ramírez, D.G. Sánchez. 2008. Insectos plagas de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) *In: El Zapote Mamey en México: Avances de Investigación*. Alia T., I., A. Villegas M., V. López. M., M. Andrade R., C. M. Acosta D., O.G. Villegas T., D. Guillén S. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México. pp. 41-56.
- López-Santiago J.; R. Nieto-Angel, A.F. Barrientos-Priego; E. Rodríguez-Pérez; M.T. Colinas-León, M.W. Borys y F. Gonzáles-Andrés. 2008. Selección de variables

- morfológicas para la caracterización de tejocote (*Crataegus* spp.) Revista Chapingo Serie Horticultura 14:97-111.
- Madora, A.M., D.E Mchelly and C. Boyd. 1988. Stachyose synthesis in source leaf tissues of the CAM Plant *Xerosicyos danguyi* H. Hum. Plant Physiol. 87:588-591.
- Magaña, R. C. 2006. El mamey, una alternativa de desarrollo en el estado de Yucatán. Uuy u T´aan (2):8-9.
- Maniatis, T., E.F. Fritsch, J. Sambrook. 1986. Molecular Cloning . A laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Prees. New York, USA.
- Martínez, L., P. Cavagnaro, R. Masuelli and J. Rodríguez. 2003. Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinífera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. Electronic Journal of Biotechnology. 6(3)241-250.
- Martínez, M., A., L.U. Hernández, J.M. Urrieta, R.Osorio, I.A. Tejacal, y S. V. Guadarrama. 2008. Estudios de poscosecha, plagas y enfermedades del zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) en Tabasco, México. *In*: El zapote mamey en México: avances de investigación. Alia, T.I., A.V. Monter, V.L. Martínez, M.A. Rodríguez, C. M. Acosta, O,G, Villegas, D. G. Sánchez. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos México. pp 141-152.
- Martínez, M., C., M. Helguera y A. Carrera. 2010. Marcadores moleculares. *In*: Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Levitus G., V. Echenique, C. Rubistein, E. Hopp, y L. Mroginski. (eds.). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina. pp: 70-85.
- Martínez-.Moreno, E., T. Corona T., E. Avitia G., A. M. Catillo G., T. Terraza S., .M.T. Colinas L. 2006. Caracterización morfométrica de frutos y semillas de nanche (*Byrsonima crasifolia* (L) H.B.K.) Revista Chapingo Serie Horticultura 12(0001):11-17.

- Masiga, K. D. and C.M. Turner R. 2004. Amplified (restriction) fragment length polymorphism (AFLP) analysis. *Methods in Molecular Biology* 270:173-185.
- Masueli, W.R. 1999. Uso de los marcadores moleculares en el mejoramiento genético de las especies hortícolas. *Avances en Horticultura* 4:54-66.
- Mínguez, M.M.I., A. Pérez G. y D. Hornero M. 2006. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales: mucho más que simples “colorantes” naturales. *CTC Alimentación* 26:108-113.
- Minolta, K. 2007. *Precise color communication*. Kónica Minolta Sensing, Inc. Japan. 59 p.
- Mondini, L., A. Noorani and M A. Pagnotta. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. *Diversity* 1:19-35.
- Moore, G.A. y R.E. Durham. 1992. Molecular markers. *In: Biotechnology of Perennial Fruits Crops*. F.A. Hammerschlay, R.E. Litz (eds.) CAB International. U.K. 105-139.
- Morales-Nieto, C., A. Quero-Carrillo, O. Le-Blanc, A.Hernández-Garay, J. Pérez-Pérez y S. Gonzáles-Muñoz. 2006. Caracterización de la diversidad de pasto nativo *Bouteloua curtipendula* Michx. Torr. Mediante marcadores de AFLP. *Agrociencia* 40:711-720
- Morera, J.A. 1992. El zapote. Centro Agronómico Tropical de Investigación y enseñanza (CATIE).Turrialba, Costa Rica. 20p.
- Morton, J. 1987. Sapote. *In: Fruits of warm climates*. J. F. Morton (ed.) Miami, FL. pp. 398–402.
- Munsell Color Co. 2000. *Munsell Color Charts for Plant Tissues*. Munsell Color York Windsor, New York, USA.

- Nishizawa, A., Y. Yabuta y S. Shigeoka. 2008. Galactinol and raffinose constitutive a novel function to protect plants from oxidative damage. *Plant Physiology* 147:1251-1263.
- Nuez, F. y J.M. Carrillo. 2000. Los Marcadores Genéticos en la Mejora Vegetal Sociedad Española de Genética. Nuez, F. y J.M. Carrillo. (eds.). Editorial Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. pp 579.
- Núñez, C. C.A. y D. Escobedo L. 2011. Uso correcto del análisis clúster en la caracterización de germoplasma vegetal. *Agronomía mesoamericana* 22(2):415-427.
- Ojeda de Rodríguez, G. J. Coronado, R. Nava., B. Sulbarán., D. Araujo y L. Cabrera. 2007. Caracterización fisicoquímica de la pulpa de la guanábana (*Annona muricata*) cultivada en el occidente de Venezuela. *Bol. Centro Invest. Biol.* 41:151-160.
- Pennington, T.D. 1999. *Flora Neotropica Sapotaceae*. Bronx, New York. The New York Botanical Garden. pp. 494.
- Picca, A., M. Helgera, N. Salomón, A. Carrera. 2004. Marcadores Moleculares. *In: Biotecnología y Mejoramiento Vegetal*. 2004. Echenique V., C. Rubinstein, L. Mroginski (eds.) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina. pp. 61-68.
- Rodríguez-Medina N.N., W. Rohde, C. González-Arencia, I.M. Ramírez-Pérez, J.L. Fuentes-Lorenzo, M.A. Román-Gutiérrez, X. Xiqués-Martín, D.Becker y J.B. Velázquez-Palenzuela. 2003. Caracterización morfológica, Bioquímica y Molecular de cultivares de aguacatero (*Persea americana* Mill.) en Cuba. *Proceedings V. World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate)*. Granada-Málaga, Spain. pp. 47-53.
- Rohlf, F.J. 2000. *NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System version 2.2* Excenter Software, New York, USA.

- Roy, S. K. and G.D. Joshi. 1997. Sapota *In:Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits*. S.K. Mitra (ed). CAB International New York, USA. pp. 387-396.
- Saghai-Marroof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgesen and R.W. Allard, 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 81: 8014-8018.
- SAS Institute. 2000. SAS user Guide Release 8.1. SAS Institute Inc. Cary, NC.,USA.
- Seo, D.M., K. SO-Young, E. Hyun-JU, and Han N. Soo. 2007. Synbiotic synthesis of oligosaccharides during milk fermentation by addition of *Leuconostoc* starter and sugars. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17(11):1758-1764.
- SIACON- . Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. 2010. México D.F.
- Stephen A., M. and E. Merrified H. 2005. Carbohydrates *In: Encyclopedia of Analytical Science*. Worsfold, P. A. Townshend and C. Poole (eds) Elsevier pp. 392-408.
- SYSTAT. 1992. "Statics" SYSTAT, Inc.: Evanston, IL. USA. 560 p.
- Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. *Plant Physiology*. 3edition. Ed. Sinauer Associates. Sunderland, Inglaterra. 690 p.
- Tapia, C.E., H. Gillén A., and M.A. Gutiérrez E. 2005. Caracterización genética de materiales de piña (*Ananas* spp.) mediante RAPD e ISSR. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28(3)187-194.
- Tapia, C. E., M.A. Gutierrez E., M.L. Warburton, A. Santacruz V. y A. Villegas M. 2005. Characterization of mandarin (*Citrus* spp) using morphological and aflp markers. *INCI* 30(11):687-693.
- Torija, E., C. Díaz, C. Matallano, M. Camara, E. Camacho and P. Mazario. 1998. Influence of freezing process on free sugars content of papaya and banana fruits. *J Sci Food Agric.* 76:315-319.

- Ude, G., M. Pillay, D. Nwakanma and A.Tenkouano. 2002. Analysis of genetic diversity and sectional relationships in Musa using AFLP markers.
- Vaclavik, V.A. and E.W. Christian. 2008. Essential of Food Science. 3ra ed. Springer. New York, USA. pp.35-47.
- Valadez, M.E. y K. Günter. 2005. Huellas de ADN en genomas de plantas (Teoría y Protocolo de laboratorio). Ed. Mundi Prensa. Universidad Autónoma de Chapingo. 147 p.
- Villegas, M. A. y A. Mora A. 2008. Propagación de zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) *In: El zapote mamey en México: avances de investigación.* Alia T., I., A. Villegas M., V. López. M., M. Andrade R., C. M. Acosta D., O.G Villegas T., D. Guillén S. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos, México. pp. 41-56.
- Vos P. R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee. M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23(21):4407-4414.
- Webb, J.A. and P.R. Gorham. 1963. Traslocation of photosynthetically assimilated C¹⁴ in straight-necked squash. *Plant Physiology* 39:663-672
- Webb, K.L. and J.W.A.B. Burley. 1962. Sorbitol translocation in apple. *Science* 137:766.
- Webb, K.L. and J.W.A.B. Burley. 1964. Stachyose translocation in plants. *Plant physiology* 973:977.
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolff, and G. Kahl. 2005. DNA fingerprinting in plants principles, methods and applications. CRC Press. Taylor & Francis. New York, USA. 444 p.
- Whiting, G. C. 1970. Sugar. *In: The Biochemistry of fruits and their products.* Academic Hulme A., C. (ed.) Press Inc. New York. USA. 1-27 p.

- Wilches, M.V.A. 2004. Descripción de algunas herramientas moleculares y su aplicaciones. Serie Técnica No.15. Universidad Rafael Landívar. Guatemala, Guatemala. 31 p.
- Wongniam, S., J. Somana, S. Swangpol, T. Seelanan, P. Chareonsap, S.Chadchawan and T. Jenjittikul. 2010. Genetic diversity and species-specific PCR-based markers from AFLP analyses of Thai bananas. *Biochemical Systematics and Ecology* 38:416-427.
- Xianfeng, Z., H. Guidong, C. Yan, L. Chaobo, D. Zeyuan and M. Xiaojuan. 2011. Optimization of extracting stachyose from *Stachys floridana* Schuttl. ex Benth by response surface methodology. *J. Food Sci Technol.*
- Yahia, E.M., F. Gutiérrez-Orozco, C. Arvizu-de Leon. 2011. Phytochemical and antioxidant characterization of mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) fruit. *Food Research International* 44(7) 2175-2181.
- Yanes, P. E., K. Gil, L. Rebolledo, A. Rebolledo, D. Uriza, O. Martínez, M. Isidró and J. Simpson. 2005. AFLP Characterization of the Mexican pineapple germplasm collection. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130:575-579
- Zimmermann, M.H. 1957. Translocation of organic substances in trees. I. The nature of the sugars in the sieve tube exudates of trees. *Plant Physiology* 32(4):288–291.

ANEXOS

Anexo A. Matriz en base a las distancias euclidianas de características cuantitativas evaluadas en zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

	ROG-P	BONI1-P	BONI2-P	HER-P	BERNA-P	ODI-P	SANA-V	RBB-V	CRUZB-V	M1-Y	M50-Y	M51-Y
ROG-P ^z	0											
BONI1-P	4.3002	0										
BONI2-P	7.3746	10.0119	0									
HER-P	4.5639	6.0724	9.421	0								
BERNA-P	4.3483	4.3417	9.3151	6.9506	0							
ODI-P	5.23	7.3744	7.5876	6.945	5.736	0						
SANA-V	6.4277	8.0025	9.1315	7.0399	6.0503	5.6239	0					
RBB-V	4.4706	6.3378	7.8298	7.3847	4.1817	4.3095	5.8095	0				
CRUZB-V	6.7602	8.419	7.6961	10.1591	6.9498	4.995	8.3774	4.8498	0			
M1-Y	6.3268	7.3553	10.3892	7.7229	5.8643	7.0728	6.6185	5.7943	7.9061	0		
M50-Y	5.8005	8.0293	8.4942	7.0195	6.7027	6.3234	5.7935	5.6784	7.8394	3.5826	0	
M51-Y	6.1582	7.3734	9.0995	8.3685	6.0401	7.2922	6.9976	5.7766	7.5248	5.2178	5.0315	0

^zSelecciones de zapote mamey

Anexo B. Matriz en base a las distancias euclidianas de ocho características cualitativas evaluadas en selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn).

	ROG-P	BONI1-P	BONI2-P	HER-P	BERNA-P	ODI-P	SANA-V	RBB-V	CRUZB-V	M1-Y	M50-Y	M51-Y
ROG-P ^z	0											
BONI1-P	3.1244	0										
BONI2-P	5.5048	5.7609	0									
HER-P	2.5835	3.18	6.2784	0								
BERNA-P	4.0059	4.3512	5.1795	4.7707	0							
ODI-P	5.5031	5.4762	5.9099	6.3907	4.8686	0						
SANA-V	2.8619	1.2536	5.3361	3.4182	3.7708	5.0274	0					
RBB-V	3.18	3.1332	4.4934	4.0059	3.1332	5.2855	2.259	0				
CRUZB-V	4.2413	4.5688	5.7141	5.3463	1.3933	4.665	4.0199	3.9548	0			
M1-Y	3.1244	3.5563	4.5322	4.7707	2.5071	4.8686	2.8165	1.8792	2.8683	0		
M50-Y	3.18	3.1332	4.4934	4.0059	3.1332	5.2855	2.259	0	3.9548	1.8792	0	
M51-Y	2.8586	2.8064	4.7044	4.2413	2.8064	4.7024	1.7781	1.3933	3.1332	1.2611	1.3933	0

^zSelecciones de zapote mamey

Anexo C. Matriz de similitud entre selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) acuerdo al índice de Jaccard a partir de datos molecula

	HER-P	CID23-G	M51-Y	AMARILLO	DPACO-G	BONI2-P	PIEDRA-G	ELREGALO	ALFONSO1	CRUZB-V	BONI1-P	RISUENO-G	M50-Y	ROG-P	BERNA-P	ODI-P	RBB-V	SANA-V	M1-Y	
HER-P	1																			
CID23-G	0.8421	1																		
M51-Y	0.6	0.6216	1																	
AMARILLO-G	0.3971	0.4	0.371	1																
DPACO-G	0.7209	0.7073	0.6	0.4844	1															
BONI2-P	0.3881	0.3692	0.2969	0.4615	0.4762	1														
PIEDRA-G	0.6279	0.6098	0.5789	0.4219	0.7073	0.3485	1													
ELREGALO-G	0.6591	0.6429	0.575	0.4242	0.7381	0.3731	0.7692	1												
ALFONSO17-G	0.6042	0.6222	0.5581	0.4412	0.7111	0.4118	0.6591	0.7273	1											
CRUZB-V	0.5745	0.5556	0.5238	0.4394	0.6818	0.4091	0.6279	0.6222	0.6042	1										
BONI1-P	0.55	0.5085	0.4068	0.5833	0.5763	0.5556	0.4833	0.5333	0.5738	0.5763	1									
RISUENO-G	0.56	0.5745	0.4783	0.4776	0.5918	0.3857	0.6087	0.6042	0.5882	0.6596	0.6167	1								
M50-Y	0.6047	0.5854	0.6389	0.4516	0.6829	0.375	0.625	0.619	0.5319	0.6829	0.5172	0.6977	1							
ROG-P	0.5778	0.5952	0.4524	0.3529	0.6512	0.3043	0.5952	0.5909	0.5745	0.6512	0.5	0.6667	0.6098	1						
BERNA-P	0.6136	0.6341	0.4524	0.3731	0.6905	0.3433	0.675	0.6667	0.6087	0.6905	0.5	0.6304	0.6098	0.8378	1					
ODI-P	0.5455	0.561	0.4872	0.3284	0.5814	0.2985	0.5238	0.5581	0.5106	0.619	0.45	0.5319	0.6154	0.7105	0.8056	1				
RBB-V	0.5435	0.5581	0.4524	0.3731	0.5778	0.3636	0.5227	0.5556	0.5417	0.5435	0.5254	0.5625	0.5714	0.619	0.6585	0.7105	1			
SANA-V	0.5122	0.5263	0.4444	0.2969	0.55	0.2656	0.5263	0.525	0.4773	0.5122	0.4211	0.5	0.5	0.6389	0.6857	0.697	0.6857	1		
M1-Y	0.4186	0.425	0.5	0.2424	0.4524	0.2121	0.425	0.3953	0.4222	0.4186	0.3333	0.413	0.5135	0.45	0.45	0.4865	0.5263	0.4848	1	

Figura A1. Frutos de la selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) de Puebla, Veracruz y Yucatán México, 1) BONI1-P, 2) BERN-P, 3) BONI2-P, 4) ODI-P, 5) ROG-P, 6) HERM-P, 7) M1-Y, 8) M50-Y, 9) M51-Y, 10) CRUZB-V ,11) SANA-V, 12) RBB-V.

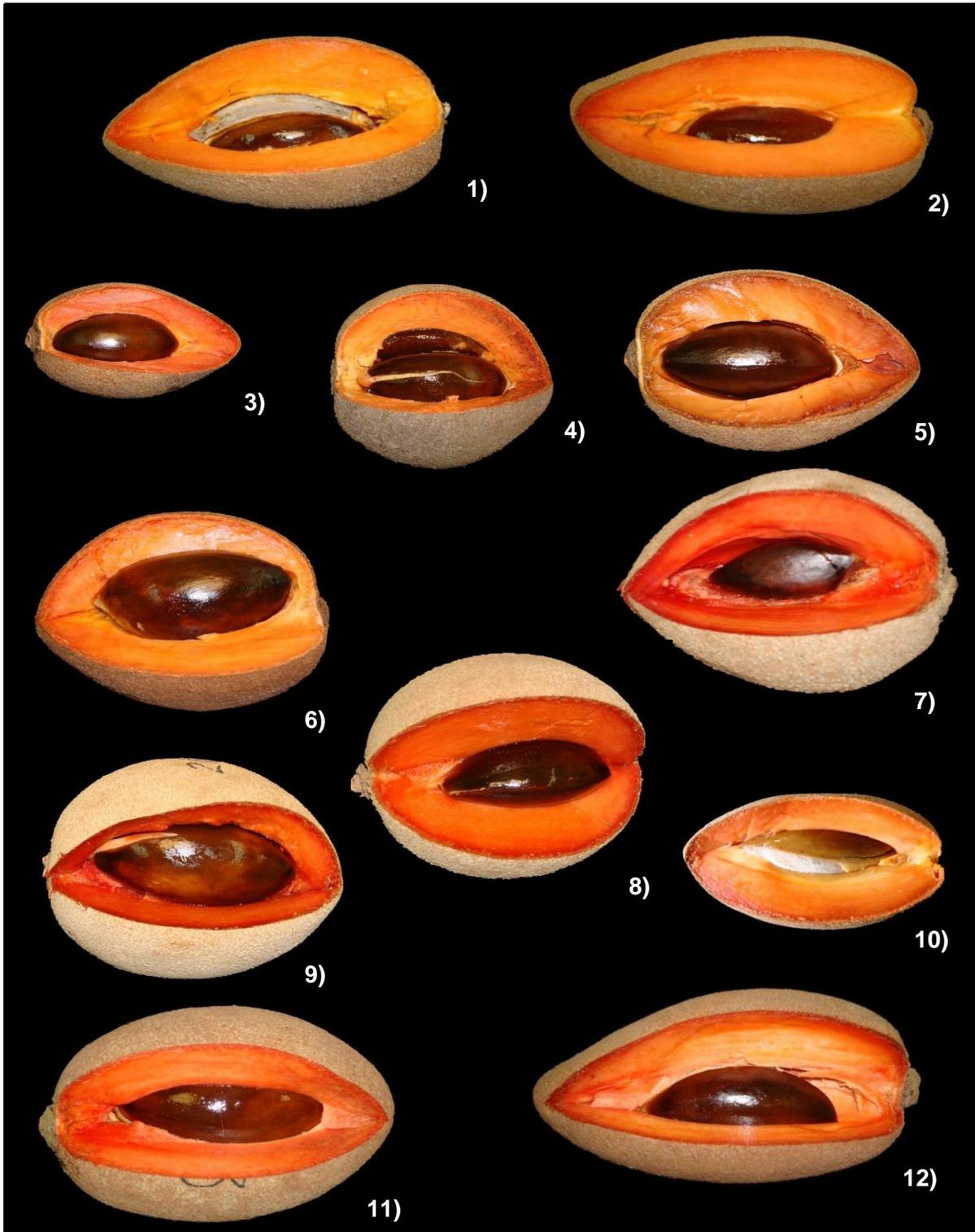


Figura A2. Semillas de la selecciones de zapote mamey (*Pouteria sapota* Jacq. H.E. Moore & Stearn) de Puebla, Veracruz y Yucatán México, 1) BONI1-P, 2) BERN-P, 3) BONI2-P, 4) ODI-P, 5) ROG-P, 6) HERM-P, 7) M1-Y, 8) M50-Y, 9) M51-Y, 10) CRUZB-V, 11) SANA-V, 12) RBB-V.

