

DIVERSIDAD GENÉTICA DE CULTIVARES DE AGUACATE (*Persea americana*) EN ANTIOQUIA, COLOMBIA¹

Gloria Patricia Cañas-Gutiérrez², Leonardo F. Galindo-López², Rafael Arango-Isaza³,
Clara I. Saldamando-Benjumea³

RESUMEN

Diversidad genética de cultivares de aguacate (*Persea americana* Mill) en Antioquia, Colombia. El objetivo del trabajo fue realizar la caracterización molecular y morfológica de 111 cultivares criollos y comerciales de aguacate (*Persea americana* Mill). El estudio se realizó entre los años 2009 y 2011 en el departamento de Antioquia, Colombia, Sur América. El análisis molecular se realizó con 38 AFLP (amplified fragment length polymorphism) obtenidos con los cebadores E-ACT/M-CTC y E-AAC/M-CAA, con los cuales se encontraron altos niveles de heterocigocidad esperada para los municipios de Valparaíso, Santa Bárbara y la Ceja. Los cultivares criollos de estas localidades compartieron un 100% de bandas con la variedad Hass. Se encontraron 23 loci de AFLP compartidos entre todos los cultivares criollos y las variedades Hass, Fuerte y Reed de Antioquia. Un dendrograma obtenido con los AFLP, el algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) y la distancia genética de Nei, produjo tres agrupaciones genéticas que incluyeron individuos que se encontraban con gran cercanía geográfica y similares condiciones climáticas. Un análisis de componentes principales (ACP) basado en los caracteres morfológicos, produjo tres agrupaciones concordantes con lo encontrado en el dendrograma. El Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) estimó un valor significativo pero bajo de PhiPT (análogo del Fst), por lo que existe diferenciación genética del aguacate en Antioquia. Los resultados obtenidos identificaron las zonas de Antioquia con cultivares criollos que pueden ser potencialmente utilizados como porta injertos para la variedad Hass, como primer paso para la certificación de material vegetal de aguacate en Colombia.

Palabras clave: genética de poblaciones, identificación molecular, caracterización morfológica.

ABSTRACT

Genetic diversity of avocado (*Persea americana* Mill) cultivars in Antioquia, Colombia. The aim of this work was to characterize 111 native avocado (*Persea americana* Mill) cultivars with molecular and morphological markers. This study was carried out from 2009 to 2011 at Antioquia Department, Colombia, South America. The molecular analysis was performed with 38 AFLP (amplified fragment length polymorphism) and the primers E-ACT/M-CTC and E-AAC/M-CAA, that produced high levels of expected heterozygosity for avocado from the municipalities of Valparaíso, Santa Bárbara and La Ceja. The native cultivars obtained from these places showed 100% genetic similarity with Hass. Twenty three shared AFLP loci were observed among all native genetic material and Hass, Fuerte and Reed from Antioquia. A UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) dendrogram constructed with the AFLPs and Nei genetic distance produced three clusters that grouped individuals that are geographically close and in places climatically similar. In addition, a principal components analysis (PCA) based on morphological traits produced three groups that are coincident with the dendrogram. The AMOVA (Analysis of Molecular Variance) estimated a significant but low PhiPT (Fst analogous) value, indicating genetic differentiation among the Antioquia avocados. The results obtained in this work identified zones of Antioquia with native material that could potentially be used as inplantation for the Hass variety, as a first step towards certification of avocado vegetative material in Colombia.

Keywords: population genetics, molecular identification, morphological characterization.

¹ Recibido: 21 de noviembre, 2013. Aceptado: 16 de setiembre, 2014. Este trabajo es producto de un proyecto de investigación financiado con recursos del Ministerio de Agricultura de Colombia, Colombia.

² Corporación para Investigaciones Biológicas, Unidad de Biotecnología Vegetal, Carrera 72 A, 78B-141, Medellín, Colombia. patricia_cg@hotmail.com, lgalindo@cib.org.co

³ Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Escuela de Biociencias, Calle 59 A # 63-20, Autopista Norte, Medellín, Colombia. rearango@unal.edu.co, cisaldam@unal.edu.co (Autor para correspondencia).



INTRODUCCIÓN

Actualmente el aguacate (*Persea americana* Mill) se produce en casi todos los países de clima cálido y templado, aunque la mayor parte de sus cultivos se encuentran en los países latinoamericanos, esto debido a que esta especie es originaria de América. La distribución natural de este cultivo es desde México hasta Chile, pasando por Centroamérica, Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú (Bernal y Díaz, 2005; Gutiérrez-Díez et al., 2009). Múltiples hibridaciones ocurridas en diferentes ambientes ecológicos de México y Centroamérica dieron origen al aguacate comestible que se consume hoy en día, en las regiones americanas en donde este se cultiva desde tiempos precolombinos. La producción proviene de fuentes distintas de árboles nativos o criollos y cultivares selectos reproducidos asexualmente, en los cuales el sabor y los valores nutritivos varían según el tipo ecológico (Mijares y López-López, 1998).

No se puede asegurar que las antiguas civilizaciones o grupos étnicos que participaron en el proceso de domesticación del aguacate, hayan contribuido de alguna manera a la diferenciación de *P.americana* en subespecies, pero es evidente que se dieron tipos divergentes que se desarrollaron en zonas geográficamente aisladas que finalmente dieron lugar a variedades botánicas distintas con diferencias marcadas en la adaptación climática (Storey et al., 1986; Bergh, 1992). Estas variedades son conocidas ampliamente a nivel mundial como razas ecológicas o razas hortícolas del aguacate y son: *P. americana* var. *drymifolia* conocida como raza mexicana, *P. nubigena* var. *guatemalensis* conocida como raza guatemalteca y *P. americana* var. *americana* conocida como raza antillana (Storey et al., 1986; Campos-Rojas et al., 2007).

En Colombia, se producen aguacates desde el nivel del mar, hasta los 2200 m de altura, principalmente para el mercado local, pero con gran potencial exportador, tanto como fruta fresca, como procesada puesto que las características de las variedades cultivadas y las condiciones agroclimáticas de las regiones productoras son ideales para este cultivo (Ríos-Castaño, 2003). En el departamento de Antioquia, el aguacate se ha identificado como un cultivo de grandes oportunidades comerciales, ya que cuenta con adaptación a diversidad en suelos y climas, que sumada a la experiencia demostrada en el cultivo, le proporciona ventajas,

competitivas y comparativas frente a otras regiones productivas del país. Sin embargo, y pese a estas grandes ventajas el cultivo de aguacate en Antioquia, y en general en Colombia, presenta varios problemas entre los que se cuenta, la falta de certificación en cuanto a su identidad genética (Ríos-Castaño, 2003).

Uno de los aspectos fundamentales para el éxito de un cultivo comercial de aguacate, radica en la selección adecuada de las variedades a sembrar, dado que con ello se consigue, entre otras ventajas, garantizar la continuidad en la producción, alargamiento de los periodos de cosecha, mayores volúmenes de producción, disminución en el riesgo de problemas ocasionados por plagas y enfermedades, mejor desarrollo del cultivo y mayor calidad de la fruta (Ríos-Castaño, 2003). La mejor alternativa para el éxito de un cultivo comercial es la injertación de variedades comerciales de aceptación en el mercado, que sean seleccionadas del mismo huerto, zona o región, sobre patrones locales o criollos, ya que de esta manera se garantiza una alta adaptabilidad al pertenecer a un mismo ecosistema. La importancia de los materiales criollos se basa no solamente en su desempeño (desarrollo y productividad) en estos ecosistemas, sino también en que constituyen una fuente importante de variabilidad genética, cuya composición se hace necesaria conocer mediante su caracterización molecular.

Hoy en día los marcadores moleculares se han convertido en una herramienta para la investigación agropecuaria en el mejoramiento genético de plantas, debido a que permiten identificar, clasificar y analizar la variabilidad genética de un material vegetal para así aprovechar la diversidad existente en los genomas de las plantas (Gutiérrez-Díez et al., 2009). Según Gutiérrez-Díez et al. (2009), la generación de marcadores moleculares en este cultivo ha sido lenta con respecto a otras especies vegetales. En un principio, varios estudios se enfocaron en desarrollar marcadores como las isoenzimas (Torres y Bergh, 1980), los RFLP (Davis et al., 1998), los SSR (Ashworth y Clegg, 2003; Ashworth et al., 2004; Cuiris-Pérez et al., 2009), los VNTR (Mhameed et al. 1997) y los RAPD (Fiedler et al., 1998; Sharon et al., 1998; Kobayashi et al., 2000); y algunos de estos trabajos se concentraron caracterizar la diversidad genética de la especie (Davis et al., 1998; Fiedler et al., 1998; Ashworth y Clegg, 2003; Schnell et al., 2003) con el fin de determinar su potencial

biológico. Una de las investigaciones más recientes sobre la caracterización molecular de cultivares de aguacate, fue realizada por Cuiris-Pérez et al. (2009) en México con el uso de microsátélites. Estos autores encontraron que estos marcadores permitieron separar poblaciones de este cultivo en dos grupos principales, uno compuesto por Atlixco, Puebla, y el otro por las poblaciones de aguacate de Uruapan y Michoacán.

El objetivo de este trabajo fue realizar la caracterización molecular y morfológica de 111 cultivares criollos y comerciales de aguacate (*Persea americana* Mill). El estudio se realizó entre los años 2009 y 2011 en el departamento de Antioquia, Colombia, Sur América.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de árboles y recolección de muestras

Se realizó una expedición por tres diferentes zonas agroecológicas del Departamento de Antioquia en búsqueda de materiales criollos de aguacate que presentaran buenas características de adaptación a la zona, dada la calidad de su follaje y buena producción de frutos y buen estado fitosanitario por la ausencia de síntomas de enfermedades y daños ocasionados por plagas, haciendo una selección no aleatoria

de materiales criollos y variedades comerciales predominantes en las zonas visitadas.

Las zonas agroecológicas fueron subdivididas en tres localidades de acuerdo con la división de zonas de Holdridge (1967) (Cuadro 1). Cada uno de los árboles seleccionados fueron georeferenciados con la ayuda de un GPS Global Positioning System (Garmin, Olathe, Kansas, USA) (Figura 1). Para el caso de las variedades comerciales se seleccionaron diez árboles de la variedad Hass y cinco de la variedad Reed en representación de la raza Guatemalteca y tres de la variedad Fuerte como híbrido entre las razas mexicana y guatemalteca. Con el fin de ser utilizados como punto de referencia para la caracterización molecular de materiales criollos.

De cada uno de los materiales criollos y variedades comerciales seleccionadas se tomaron cinco hojas jóvenes ubicadas en las puntas de las ramas, las cuales fueron depositadas en bolsas plásticas previamente rotuladas con su respectivo código y transportadas en frío hasta el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Corporación para Investigaciones Biológicas, ubicado en la Ciudad de Medellín, Colombia; posteriormente, las muestras colectadas fueron conservadas a -70°C , hasta el momento de la extracción del ADN foliar. Esta colecta se realizó en 452 árboles de aguacate así: 396 materiales criollos y 56 variedades comerciales (32 Hass, 7 Reed, 10 fuerte, 2 CV, 3 Gwen, 1 Boot

Cuadro 1. Zonas agroecológicas del Departamento de Antioquia visitadas para la recolección de materiales criollos de aguacate. Colombia. 2009-2011.

Zonas agroecológicas	Municipios	Latitud	Altitud	Temperatura promedio ($^{\circ}\text{C}$)
Oriente antioqueño	Sonsón	$5^{\circ} 42' 34'' \text{ N}, 75^{\circ} 18' 38'' \text{ W}$	2475	17
subregión páramo	Abejorral	$5^{\circ} 47' 26'' \text{ N}, 75^{\circ} 25' 37'' \text{ W}$	2275	16
Oriente antioqueño	El Retiro	$6^{\circ} 3' 35'' \text{ N}, 75^{\circ} 30' 14'' \text{ W}$	2150	17
subregión altiplano	Marinilla	$6^{\circ} 10' 28'' \text{ N}, 75^{\circ} 20' 20'' \text{ W}$	2120	18
	Río Negro	$6^{\circ} 09' 12'' \text{ N}, 75^{\circ} 22' 27'' \text{ W}$	2080	18,5
	La Ceja	$6^{\circ} 1' 40'' \text{ N}, 75^{\circ} 25' 52'' \text{ W}$	2200	17,5
	San Vicente	$6^{\circ} 16' 55'' \text{ N}, 75^{\circ} 19' 56'' \text{ W}$	2150	17
	Angelópolis	$6^{\circ} 06' 42'' \text{ N}, 75^{\circ} 42' 36'' \text{ W}$	1950	20,1
	Carmen de Viboral	$6^{\circ} 04' 55'' \text{ N}, 75^{\circ} 20' 3'' \text{ W}$	2150	20,5
Suroeste antioqueño	Caramanta	$5^{\circ} 32' 48'' \text{ N}, 75^{\circ} 38' 39'' \text{ W}$	2050	17
	Valparaíso	$5^{\circ} 36' 52'' \text{ N}, 75^{\circ} 37' 32'' \text{ W}$	1375	23
	Santa Bárbara	$5^{\circ} 52' 29'' \text{ N}, 75^{\circ} 33' 58'' \text{ W}$	1800	21



Figura 1. Mapa del departamento de Antioquia (Colombia), periodo 2009 a 2011, con los municipios en los que se muestrearon los cultivares de aguacate. 1 = Angelópolis, 2= Valparaíso, 3 = Caramanta, 4= San Vicente, 5= Marinilla, 6 = Río Negro, 7 = El Retiro, 8 = La Ceja, 9 = Carmen de Viboral, 10 = Santa Bárbara, 11 Abejorral, 12 = Sonsón.

y 1 posible Lorena). Estas muestras se obtuvieron en los siguientes municipios de Antioquia (Colombia): El Retiro, Santa Bárbara, La Ceja, Carmen del Viboral, Sonsón, San Vicente, Marinilla, Río Negro, Caramanta y Angelópolis. La distribución de muestras colectadas por municipios fue la siguiente: El Retiro (26), Santa Bárbara (30), La Ceja (32), Carmen del Viboral (23), Sonsón (80), Marinilla (36), San Vicente (35), Río Negro (40), Caramanta-Valparaíso (53), Abejorral (40), Montebello (50) y Angelópolis (7). El número de muestras analizadas en este trabajo varió por localidad y por el tipo de material, sea criollo o comercial dada la disponibilidad del mismo en el campo, el permiso obtenido por parte de los agricultores y la facilidad de su acceso.

Extracciones de ADN genómico y cuantificación

Para la extracción del ADN genómico total a partir de las hojas colectadas, se utilizó el método basado en el buffer CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) (Weising et al., 1991) con algunas modificaciones. Se tomaron aproximadamente 0,5 g de tejido, se maceraron y resuspendieron en 1 ml de buffer CTAB 2X (0.1M Tris-HCl, 1,4 M NaCl, 0,02 M EDTA, 2% CTAB) más 10 µl de β- mercaptoetanol en tubos Eppendorf de 1,5 ml e incubados a 65 °C durante 45 minutos. Posteriormente, los tubos fueron centrifugados a 12 000 rpm durante 30 min a 4 °C. Se tomó el sobrenadante y se adicionaron 700 µl de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se centrifugó a 12 000 rpm durante 20 min a 4 °C. Se tomó el sobrenadante y se adicionaron 700 µl

de cloroformo, se centrifugó a 12 000 rpm durante 20 min a 4 °C. Nuevamente se tomó el sobrenadante y se adicionaron 700 µl de cloroformo: octanol (24:1), seguidamente se centrifugó a 12 000 rpm durante 20 min a 4 °C. Se tomó el sobrenadante y se adicionó un volumen de isopropanol; los tubos fueron incubados a -20 °C durante una hora para la precipitación del ADN. El pellet fue colectado por centrifugación a 12 000 rpm durante 30 min y lavado dos veces con etanol al 70% y posteriormente al 90%, luego el pellet fue secado a temperatura ambiente y resuspendido en 60 µl de buffer TE (0,01 M Tris-HCl, 0.001M EDTA) y tratado con RNAsa A (10 mg/ml) (Fermentas, Vilnius, Lithuania). El ADN extraído de las muestras fue observado en geles de agarosa (0,8%) teñidos con bromuro de etidio (EtBr) en un transiluminador de luz U.V. La cantidad y calidad fue determinada mediante el uso de un nanodrop (ThermoScientific, USA).

Caracterización molecular con marcadores AFLP (polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados)

Los AFLP se realizaron con el kit de reactivos AFLP Analysis system I y AFLP Starter Primer Kit (Invitrogen, USA). Del ADN previamente cuantificado, se tomaron aproximadamente 1µg. En tubos de 0,2 ml se realizó la mezcla para la reacción de digestión simultánea con las endonucleasas de restricción *EcoRI* y *MseI*: se incubaron por dos horas a 37 °C y posteriormente se inactivaron las enzimas a 70 °C por 15 min, inmediatamente se llevó a cabo la reacción de ligación. La ligación de los adaptadores a los fragmentos digeridos se hizo mediante la enzima T4 ligasa siguiendo las indicaciones del kit, la mezcla fue incubada a 20 °C por dos horas. Una vez terminada la incubación de la reacción de ligación, esta fue diluida en buffer TE, en una proporción 2:10. La amplificación se efectuó en dos pasos consecutivos, uno de preamplificación, donde el ADN genómico es amplificado por cebadores con un nucleótido selectivo, y el segundo de amplificación selectiva donde se usan dos cebadores que contienen cada uno tres nucleótidos selectivos. Se utilizaron las combinaciones E-ACT/M-CTC y E-AAC/M-CAA.

La separación de los productos de amplificación se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 6% en condiciones denaturalizantes

a 90W constantes en buffer TBE 1X durante dos horas a una temperatura de 55 °C en cámara Sequi-Gen GT (BioRad, USA). Como indicadores de peso molecular se utilizaron los marcadores de 100 pb y 50 pb (Fermentas, Vilnius, Lithuania). Las bandas fueron visualizadas mediante tinción con plata. Los perfiles electroforéticos obtenidos para cada gel fueron almacenados en una matriz binaria de presencia (1)/ausencia (0) en el programa Excel. El análisis de las relaciones genéticas de las plantas estudiadas se realizó mediante dendogramas con el algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean, método no ponderado de apareamiento por grupos con media aritmética) (Sneath y Sokal, 1973) teniendo en cuenta las distancias genéticas de Dice ($D_{Dice} = 1 - S_{ij}$) $S_{ij} = 2a/(2a+b+c)$; siendo S_{ij} = similitud entre los individuos i y j ; a = número de loci compartidos por i y j ; b = número de loci presentes en i pero ausentes en j , y c = número de loci presentes en j pero ausentes en i (Dice, 1945). Estas distancias se estimaron con el uso del paquete estadístico Past 1.34 (Hammer et al., 2001). La obtención de este algoritmo y la producción del dendrograma UPGMA se generaron con el programa Mega 4.0. (Tamura et al., 2007). Posteriormente, un análisis de varianza molecular (AMOVA) fue estimado con el programa GenAlEx 6.4.1 (Peakall y Smouse, 2006) realizando 99 999 permutaciones para evaluar la variación genética existente entre individuos pertenecientes a las localidades de Antioquia en las que se realizaron las colectas.

Caracterización morfológica

En cultivares criollos de aguacate seleccionados de los diferentes municipios se evaluaron los siguientes descriptores morfológicos para plantas de aguacate del International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, 1995): altura del árbol, ancho copa, forma del árbol, superficie del tronco, circunferencia del tronco (cm), patrón de ramificación, distribución de las ramas, ángulo inserción ramas, color rama joven, longitud entrenudos vástagos (cm), diámetro vástagos (cm), color haz hojas maduras, color envés hojas maduras, margen hojas, textura hojas, superficie rama joven, forma hoja, longitud hoja (cm), ancho hoja máximo (cm), pubescencia haz, pubescencia envés, ángulo inserción peciolo foliar, número venas

primarias (pares), divergencia venas secundarias, relieve nervadura en el haz, forma ápice hoja y forma base hoja; en el caso de los caracteres cualitativos, estos fueron categorizados para facilitar su análisis.

Los datos morfológicos fueron utilizados para realizar un análisis de componentes principales mediante el uso del programa Past 1.34 (Hammer et al., 2001). Este análisis se utilizó para observar la dispersión, en un espacio bi o tridimensional. Con este análisis se representó en forma gráfica la variación existente entre los diferentes individuos en X dimensiones (X=variables evaluadas), reduciendo la dimensionalidad al agrupar todas las variables en dos o tres combinaciones lineales (componentes principales CP).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización molecular de cultivares criollos de aguacate

En este trabajo se logró la caracterización molecular de 111 materiales de aguacate entre criollos y variedades comerciales con la combinación de cebadores E-ACT/M-CTC; los productos de amplificación seleccionados para esta combinación estuvieron en un rango entre 200 y 1000 pb (pares de bases), para un total de 29 AFLP estudiados; de los cuales solo 9 loci presentaron frecuencias por encima del 50%, y los demás loci restantes presentaron frecuencias por debajo del 40%. Por otro lado, con la combinación E-AAC/M-CAA se logró la caracterización de 132 materiales y los productos de amplificación estuvieron en un rango entre 400 a 700 pb (pares de bases), para un total de 9 AFLP analizados, los cuales en su mayoría presentaron frecuencias por encima del 50%. Estos resultados muestran que los AFLP son unos marcadores genéticos ideales para analizar el grado de variabilidad y polimorfismo genético de los aguacates analizados. Sin embargo, dado que su patrón de variación es muy alto, la identificación de loci comunes entre diferentes individuos es compleja, por ello el análisis de las huellas genéticas (fingerprinting) compartidas entre materiales criollos y comerciales, se basó en un número bajo de AFLP compartidos entre las variedades comerciales y criollas de Antioquia, puesto que de 29 loci amplificados con la primera combinación de cebadores de AFLP se encontraron 6 loci informativos para la variedad

Hass, los cuales presentaron un porcentaje de bandas compartidas de un 80% con los materiales criollos de aguacate, además se encontraron 7 AFLP informativos para la variedad Fuerte, con un porcentaje de bandas compartidas de un 100% con los materiales criollos y 10 AFLP informativos para la variedad Reed con un porcentaje de loci compartidos de un 100%. Por otro lado, los marcadores AFLP corroboran el origen híbrido de los materiales criollos de aguacate del departamento de Antioquia, puesto que la gran mayoría de árboles caracterizados genéticamente presentaron un 33% de similitud genética con cada una de las tres variedades y esta hibridación ha ocurrido en todas las zonas agroecológicas de este departamento colombiano. Por lo anterior, el proceso de injertación de cualquiera de estas tres variedades presentaría una compatibilidad genética muy similar, ya que todos los criollos presentan loci de las tres variedades, con algunas excepciones de unos árboles que presentaron un 100% de similitud genética con alguna variedad comercial o un 50% de similitud con dos variedades comerciales.

La caracterización molecular del presente estudio mostró que de los doce municipios de Antioquia, cuyo material vegetal de aguacate fue caracterizado, solo el material vegetal proveniente de Corpoica y Carmen de Viboral, presentó valores bajos de polimorfismos y de heterocigosidad esperada. Esto significa que estas dos localidades presentan cultivares con una baja variabilidad genética, probablemente debido a que por un lado, Corpoica es un centro de investigación agrícola que almacena mucho cultivar de origen comercial y también debido a que solo se analizó un árbol colectado en Carmen de Viboral, por lo que el bajo número de muestras en este municipio reflejó la baja variabilidad genética observada. Los demás municipios evaluados presentaron altos valores de heterocigosidad, especialmente los municipios de Caramanta, La Ceja y Sonsón. Esto podría indicar que en estas localidades, existe un alto porcentaje de cultivares criollos de aguacate (Cuadro 2).

Adicionalmente, la identificación de huella genética existente entre los cultivares criollos y comerciales fue evaluado como el porcentaje de bandas electroforéticas de AFLP (loci) comunes entre las variedades Hass, Fuerte y Reed con 88 árboles de aguacates criollos del departamento de Antioquia, teniendo en cuenta los loci de AFLP producidos por la primera combinación de cebadores E-ACT/M-

Cuadro 2. Número de bandas polimórficas y heterocigosidad esperada obtenida de los cultivares de aguacate colectados en los doce municipios de Antioquia, Colombia (Ang = Angelópolis, Caram = Caramanta, Ceja = La Ceja, Corpo = Corpoica, Marin = Marinilla, Ret = El Retiro, R. Negro = Río Negro, S. Vic = San Vicente, S. Barb. = Santa Bárbara, Sonsón = Sonsón, Valp = Valparaiso) durante el periodo 2009 a 2011.

Población	Ang	Caram	Car-men	Ceja	Corpo	Marin	Ret	R. Negro	S. Vic	S. Barb.	Son-són	Valp.
No. bandas	17	27	25	29	14	25	25	26	25	27	29	20
No. bandas Freq. $\geq 5\%$	17	27	25	29	14	25	25	26	25	27	29	20
No. bandas privadas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No. bandas comunes ($\leq 25\%$)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
No. bandas comunes ($\leq 50\%$)	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	1	0
Media He	0,189	0,309	0,000	0,353	0,100	0,279	0,255	0,265	0,230	0,258	0,345	0,238
SE de la Media He	0,033	0,032	0,000	0,026	0,033	0,032	0,038	0,031	0,038	0,028	0,025	0,035
Media UHe	0,216	0,327	0,000	0,369	0,133	0,288	0,306	0,283	0,251	0,263	0,358	0,254
SE de la Media UHe	0,038	0,034	0,000	0,028	0,045	0,033	0,045	0,033	0,042	0,028	0,026	0,037

Freq= frecuencia, He= heterocigosidad esperada, SE= error estándar, UHE= heterocigosidad esperada inesgada.

CTC. Esto se realizó porque dicha combinación produjo el mayor número de loci polimórficos en la especie. Además, se tomó en cuenta un número de loci compartido entre los aguacates criollos y los comerciales que varió entre el 80 y 100% de bandas comunes entre ellos. Los resultados de la huella genética mostraron que 6 AFLP se comparten entre los aguacates criollos y la variedad Hass, estos son los loci: 9, 11, 12, 23, 27 y 29, siendo los AFLP 9 y 23 exclusivos para esta variedad (Cuadro 3), siete AFLP se comparten entre los aguacates criollos y la variedad Fuerte, los cuales incluyen los AFLP 7, 11, 12, 22, 24, 27 y 29, dentro de los cuales los AFLP 7 y 22 son exclusivos para esta variedad (Cuadro 4) y diez AFLP se comparten entre la variedad Reed y los aguacates criollos que son: 1, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 27 y 29, de los cuales los AFLP 1, 8 y 18 son exclusivos con esta variedad (Cuadro 5).

Análisis de relaciones genéticas

En este análisis se tuvo en cuenta los veintinueve loci polimórficos amplificados con la primera combinación de cebadores E-ACT/M-CTC, puesto que

representa la combinación con mayor número de loci amplificados en esta especie. Con esta combinación se encontraron distancias de Nei con valores por debajo de uno, indicando un alto grado de similitud entre los cultivares analizados por localidades (municipios). La mayor similitud genética se presentó para los cultivares de los municipios de Valparaiso y Angelópolis ($D_{Nei}=0,037$), seguido de Santa Bárbara y Sonsón ($D_{Nei}=0,043$), Marinilla y Río Negro ($D_{Nei}=0,047$), Santa Bárbara y Marinilla ($D_{Nei}=0,052$) (Cuadro 6).

El dendograma obtenido por el algoritmo UPGMA y la distancia de Nei evidencian para la combinación E-ACT/M-CTC la formación de tres grupos genéticamente diferenciados (Figura 2), uno conformado por los cultivares pertenecientes a los municipios de Santa Bárbara, Sonsón, La Ceja, El Retiro, San Vicente y las muestras suministradas por el Centro de Investigación de Corpoica; el otro grupo está conformado por los cultivares de los municipios de Caramanta, Angelópolis, Valparaiso, Marinilla y Río Negro, y como un grupo aparte se encuentra el municipio de Carmen del Viboral, la formación de este grupo puede deberse a que solo se logró caracterizar un solo cultivar en esta localidad.

Cuadro 3. Huella genética compartida entre cultivares criollos y la variedad Hass en el departamento de Antioquia, Colombia. Periodo 2009 a 2011.

ID	Localidad	AFLP 9	AFLP 11	AFLP 12	AFLP 23	AFLP 27	AFLP 29	Total
3, 4, 4, 6, 8	Santa Bárbara	1	1	1	1	1	1	6
16	Carmen	1	1	1	1	1	1	6
17, 18, 20, 23, 24,32,33	Sonsón	1	1	1	1	1	1	6
22	Sonsón	1	1	1	1	0	1	5
25,26	Sonsón	1	1	1	1	0	0	4
37,40,41	San Vicente	1	1	1	1	1	1	6
44,54,55,56	Marinilla	1	1	1	1	1	1	6
59	Marinilla	1	0	1	1	1	1	5
73,74,75,76,77,80,83,85, 86,88,91,92,94,95	Santa Bárbara	0	1	1	1	1	1	5
90,93	Santa Bárbara	1	1	0	1	1	0	4
87	Santa Bárbara	0	1	1	1	0	0	3
97,99,100	Valparaíso	1	1	1	1	1	0	5
98	Valparaíso	1	1	0	1	1	0	4
107,108,120,134,135	Caramanta	1	1	1	1	1	1	6
119	Caramanta	1	1	1	1	1	0	5
113,314	Caramanta	1	0	1	1	1	0	4
136	San Vicente	0	1	1	1	0	1	4
159,164	Ceja	1	1	1	1	1	1	6
167	Ceja	1	1	1	1	1	0	5
433	Río Negro	1	1	1	1	1	1	6
432	Río Negro	1	1	1	0	1	1	5
174	Río Negro	1	1	1	1	0	0	4
171	Río Negro	1	0	1	0	0	0	2
182	El Retiro	1	1	1	1	1	0	5
Proporción		0,81	0,95	0,97	0,95	0,87	0,68	
Total individuos	62	50	59	60	59	54	42	

AFLP 9= 780 bp, AFLP 11= 700 pb, AFLP 12 = 680 bp, AFLP 23 = 450 pb, AFLP 27 = 300 pb, AFLP 29 = 200 pb.

Diferenciación genética de cultivares de aguacate entre poblaciones

El análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró diferenciación genética relativamente baja en las poblaciones debido a que el valor PhiPT obtenido fue de 0,040; sin embargo, dicha diferenciación es significativa ya que fue de $P=0,010$ (Cuadro 7). El

porcentaje de variación dentro de las poblaciones fue mayor (96%) que entre las poblaciones (4%).

Caracterización morfológica de cultivares criollos

El análisis de agrupamiento se efectuó con variables de tipo cuantitativo en 93 cultivares criollos seleccionados de los diferentes municipios

Cuadro 4. Huella genética compartida entre cultivares criollos y la variedad Fuerte en el departamento de Antioquia, Colombia. Periodo 2009 a 2011.

ID	Localidad	AFLP 7	AFLP 11	AFLP 12	AFLP 22	AFLP 24	AFLP 27	AFLP 29	Total
1	El Retiro	1	1	1	1	1	0	0	5
3,4,5	Santa Bárbara	1	1	1	1	1	1	1	7
6,8	Santa Bárbara	0	1	1	0	0	1	1	4
16	Carmen	1	1	1	1	1	1	1	7
17, 20	Sonsón	1	1	1	1	1	1	1	7
18, 23,24	Sonsón	1	1	1	0	1	1	1	6
22	Sonsón	1	1	1	0	1	0	1	5
32, 33	Sonsón	0	1	1	0	0	1	1	4
37	San Vicente	1	1	1	0	0	1	1	5
40, 41, 44	San Vicente	0	1	1	0	0	1	1	4
55	Marinilla	1	1	1	1	0	1	1	6
54, 56	Marinilla	1	1	1	0	0	1	1	5
66,67	Angelópolis	0	0	1	1	1	1	1	5
76, 77	Santa Bárbara	1	1	1	0	0	1	1	5
91	Santa Bárbara	1	1	1	1	1	1	0	6
94,95,97,99, 100	Santa Bárbara	1	1	1	0	1	1	0	5
72, 73, 74, 75, 79, 80, 83, 85,86,88	Santa Bárbara	1	0	0	0	1	1	1	4
107, 120	Caramanta	1	1	1	1	1	1	1	7
108,119	Caramanta	1	1	1	0	1	1	1	6
314	Caramanta	1	1	1	0	1	1	0	5
112, 113	Caramanta	1	0	1	0	1	1	0	4
134	San Vicente	1	1	1	1	1	1	1	7
135	San Vicente	1	1	1	0	1	1	1	6
136	San Vicente	1	1	1	0	1	0	1	5
164	Ceja	1	1	1	1	1	1	1	7
167	Ceja	1	1	1	1	1	1	0	6
159	Ceja	0	1	1	0	1	1	1	5
182	El Retiro	0	1	1	0	1	1	0	4
432, 433	Río Negro	1	1	1	0	1	1	1	6
Proporción		0,64	0,93	0,97	0,32	0,59	0,95	0,76	
Total individuos	59	38	55	57	19	35	56	45	

AFLP 7= 800 pb, AFLP 11= 700 pb, AFLP 12 = 680 bp, AFLP 22= 500 pb, AFLP 24= 400 pb, AFLP 27= 300 pb, AFLP 29= 200 pb.

Cuadro 5. Huella genética compartida entre cultivares criollos y la variedad Reed en el departamento de Antioquia, Colombia. Periodo 2009 a 2011.

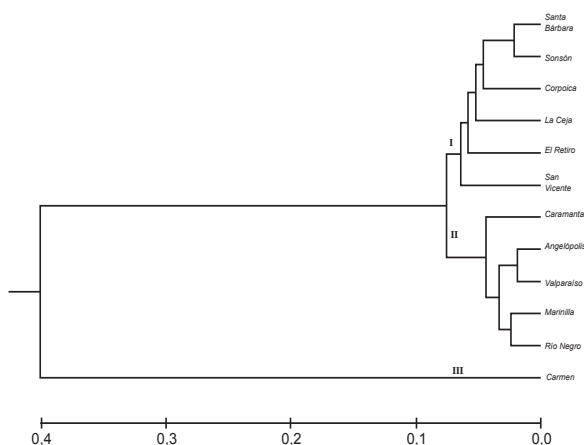
ID	Localidad	AFLP 1	AFLP 8	AFLP 9	AFLP 10	AFLP 11	AFLP 12	AFLP 18	AFLP 24	AFLP 27	AFLP 29	Total
1	El Retiro	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	6
3, 4, 5	Santa Bárbara	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	9
6, 8, 32	Santa Bárbara	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	8
16	Carmen	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
17, 18, 20, 23, 24	Sonsón	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	9
22	Sonsón	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	8
33	Sonsón	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	7
25	Sonsón	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	6
26	Sonsón	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	5
37, 40, 41	San Vicente	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	7
44, 54, 55, 56	Marinilla	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	8
59	Marinilla	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	7
66, 67	Angelópolis	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	5
91, 92, 94, 95	Santa Bárbara	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	7
76, 80, 83, 85, 86, 88, 93	Santa Bárbara	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1	6
73, 74, 75, 90	Santa Bárbara	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	5
100	Valparaíso	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	8
99	Valparaíso	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	7
97	Valparaíso	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	6
98	Valparaíso	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	5
108	Caramanta	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	9
107, 119, 120	Caramanta	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	8
113	Caramanta	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	6
112	Caramanta	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	5
135	San Vicente	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	9
134	San Vicente	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	8
136	San Vicente	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	6
159	Ceja	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	9
164	Ceja	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	8
167	Ceja	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	7
182	El Retiro	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	8
178	El Retiro	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0	5
314	Caramanta	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	6
432, 433	Rionegro	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
Proporción		0,96	0,83	0,72	0,09	0,9	0,94	0,42	0,55	0,87	0,68	
Total individuos												69

AFLP 1 = 1000 pb, AFLP 8 = 790 pb, AFLP 9 = 780 pb, AFLP 10 = 750 pb, AFLP 11 = 700 pb, AFLP 12 = 680 pb, AFLP 18 = 580 pb, AFLP 24 = 400 pb, AFLP 27 = 300 pb, AFLP 29 = 200 pb.

Cuadro 6. Distancias genéticas de Nei obtenidas para los cultivares de aguacate en el departamento de Antioquia, Colombia, con la combinación de cebadores de AFLP: E-ACT/M-CTC. Periodo 2009 a 2011.

	Angel	Caram	Carmen	Ceja	Corpo	Marin	Retiro	Río Negro	S. Vic	S. Bárb.	Sonsón	Valp
Angelópolis	0,000											
Caramanta	0,131	0,000										
Carmen	1,331	0,773	0,000									
Ceja	0,204	0,119	0,440	0,000								
Corpoica	0,209	0,236	0,746	0,127	0,000							
Marinilla	0,063	0,080	0,861	0,107	0,096	0,000						
El Retiro	0,254	0,164	0,603	0,121	0,125	0,162	0,000					
Río Negro	0,059	0,076	0,910	0,096	0,135	0,047	0,153	0,000				
San Vicente	0,270	0,134	0,612	0,115	0,171	0,141	0,145	0,170	0,000			
Santa Bárbara	0,090	0,103	0,776	0,116	0,089	0,052	0,125	0,079	0,101	0,000		
Sonsón	0,138	0,118	0,535	0,071	0,095	0,076	0,094	0,084	0,106	0,043	0,000	
Valparaíso	0,037	0,064	1,225	0,206	0,243	0,078	0,207	0,067	0,242	0,097	0,134	0,000

Angel= Angelópolis; Caram = Caramanta; Ceja = La Ceja; Corpo = Corpoica; Marin = Marinilla; Retiro = El Retiro; S. Vic = San Vicente; S. Bárb. = Santa Bárbara; Sonsón = Sonsón; Valp = Valparaíso.

**Figura 2.** Dendrograma obtenido con el algoritmo UPGMA y las distancias de Nei de los cultivares de aguacate estudiados en el departamento de Antioquia, Colombia, con la combinación de cebadores de AFLP: E-ACT/ M-CTC. Periodo 2009 a 2011.

pertenecientes a las tres zonas agroecológicas estudiadas, los cultivares seleccionados para esta caracterización se observan en el Cuadro 8.

El análisis de componentes principales (CP) (Figura 3) arrojó un valor propio de 58951,6 y el CP1 representó el 96% de la varianza absoluta: valores mayores al rango de 60-70% explican un porcentaje razonable de la variabilidad total de las muestras. Este análisis muestra además la formación de tres grupos morfológicamente diferenciados. El primer grupo está compuesto por el menor número de individuos, los cuales se ubican de una manera muy dispersa entre sí. Estos árboles pertenecen a los municipios: El Retiro, Abejorral, Santa Bárbara, Sonsón, Caramanta y Montebello. Localidades que se encuentran muy lejanas geográficamente en el departamento de Antioquia. Este grupo probablemente se conformó por las similitudes fenotípicas compartidas entre los árboles más que por su ubicación dentro de este departamento de Colombia. El segundo grupo presentó un mayor número de individuos, los cuales se encontraron en un número más frecuente por municipio, por lo que en este caso estos árboles muy probablemente fueron agrupados en base a su origen geográfico. Los municipios que hacen parte de esta agrupación son Sonsón, San Vicente, Marinilla y en un mayor número La Ceja y Río Negro. De la misma manera el tercer

Cuadro 7. Análisis de varianza molecular (AMOVA) realizado con las combinaciones de cebadores de AFLP: E-ACT/M-CTC en los cultivares de aguacate en el departamento de Antioquia, Colombia. Periodo 2009 a 2011.

Fuente	df	SS	MS	Est. Var.	%	Phi PT	P
Entre poblaciones	10	120,356	12,036	0,772	14%	0,137	0,010
Dentro poblaciones	96	467,663	4,871	4,871	86%		
Total	106	588,019		5,644	100%		

df: grados de libertad, SS: fuente de variación, MS: cuadrado medio, Est. Var.= variación estándar, Phi PT: análogo al FST (estimador de la diferenciación genética promedio), P: probabilidad..

Cuadro 8. Cultivares de aguacate del departamento de Antioquia, Colombia, seleccionados para el análisis morfológico. Periodo 2009 a 2011.

Cultivar	Municipio	Nombre local
1,2	El Retiro	Aguacate nativo
4,5	Santa Bárbara	Nativo Santa Bárbara
17,24,25,27,33	Sonsón	Aguacate criollo
35, 37, 38, 39, 40, 41	San Vicente	Aguacate nativo
44, 45, 46, 47, 48, 62, 64	Marinilla	Aguacate nativo
99, 100, 101	Valparaíso	Aguacate criollo
107, 109, 117, 118, 119	Caramanta	Aguacate criollo
145, 147, 150, 152, 156, 157	La Ceja	Aguacate nativo
170, 171, 175, 176, 179, 193, 194, 201, 202, 203, 204	Río Negro	Aguacate nativo
256, 257, 258, 263, 265, 266, 273, 276, 277, 280	Montebello	Aguacate criollo
293, 294, 295, 297, 298	Caramanta	Aguacate criollo
312, 314, 315	Caramanta	Aguacate criollo
316, 317, 320, 322	Sonsón	Aguacate criollo
329, 330, 331	Sonsón	Aguacate campesino-criollo
354, 355, 356, 360, 362, 374	Sonsón	Aguacate criollo
388, 390, 399, 400, 404, 411, 412, 413, 417	Abejorral	Aguacate criollo

grupo presentó el mayor número de árboles agrupados y en este caso la mayoría de individuos se colectaron en Río Negro, Montebello y Abejorral, y en una menoría individuos de Sonsón, Marinilla y Caramanta, aquí de nuevo las agrupaciones pudieron deberse al origen geográfico de las muestras.

El análisis de componentes principales corrobora lo encontrado por el dendrograma y el análisis de varianza molecular, ya que establecen que existen tres

agrupaciones de materiales en Antioquia, las cuales están compuestas por localidades que se encuentran relativamente cercanas entre sí, en las que se destaca el grupo 3, en este se encuentran la mayor cantidad de árboles analizados y agrupa varios individuos de Río Negro, Montebello y Abejorral, mientras que las agrupaciones 1 y 2 poseen en su mayoría individuos pertenecientes a Sonsón, San Vicente, Marinilla, La Ceja y El Retiro, generando agrupaciones similares

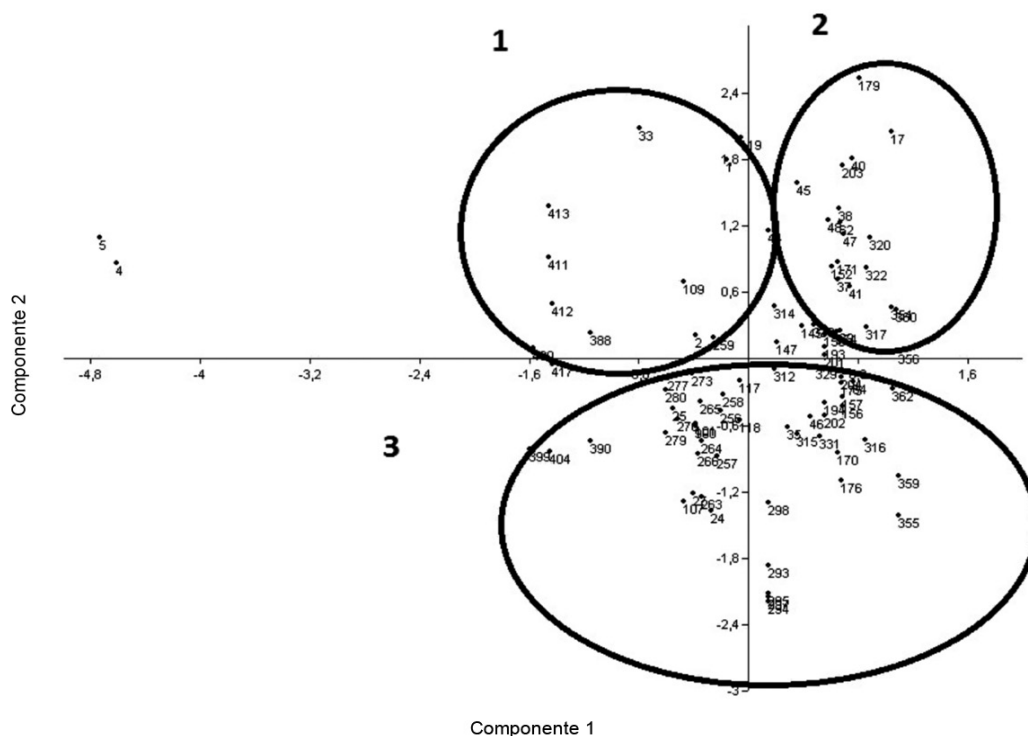


Figura 3. Análisis de componentes principales para los caracteres cuantitativos evaluados en 93 árboles de aguacate del departamento de Antioquia, Colombia. Periodo 2009 a 2011.

a las encontradas por los dendrogramas obtenidos con el algoritmo UPGMA. Estos resultados sugieren que el material biológico que hace parte de estas agrupaciones, tiene un mismo origen genético ya que su material biológico puede que haya sido trasladado entre ellos.

Uno de los marcadores más utilizados recientemente son los AFLP dada su alta variabilidad genética y su fácil estandarización en el sentido que no requieren conocimiento previo de la genética del organismo que se desea analizar para ser estandarizados en este (Vos et al., 1995), por ello Gutiérrez-Díez et al. (2009), utilizaron estos marcadores en la región de Nuevo León (México) con el fin de caracterizar molecularmente sus poblaciones, puesto que este lugar representa un centro de origen de esta especie y a su vez realizaron una caracterización morfológica de dichos árboles para comparar sus resultados. Estos autores analizaron 42 árboles de aguacate criollos con el uso de quince combinaciones de cebadores, a diferencia de

este trabajo en el que se analizaron 111 árboles con dos combinaciones de cebadores. Ellos encontraron que un dendrograma UPGMA separó las muestras en grupos genéticamente diferenciados en las que las variedades comerciales y silvestres se agruparon entre sí, por lo que estas tienen un origen genético común. Por otro lado, también encontraron que estos 42 árboles se diferenciaron en once variedades genéticas dentro de la misma raza mexicana de aguacate, demostrando que a pesar de que es una raza mejorada, todavía presenta alta variabilidad genética. Al igual que en el presente estudio, el llevado a cabo por Gutiérrez-Díez et al. (2009), se encontraron agrupamientos genéticos de los cultivares un poco diferentes a los agrupamientos obtenidos con un análisis de componente principal de datos morfológicos. No obstante, tanto en este estudio como en el de Gutiérrez-Díez et al. (2009), ambos tipos de agrupamientos de los cultivares de aguacate, se generaron por similitudes genéticas y fenotípicas entre los árboles y por su ubicación geográfica,

demostrando el potencial que tienen los AFLP y los datos morfológicos en agrupar poblaciones de aguacate dado su origen geográfico.

Por otro lado, un trabajo sobre la caracterización molecular de aguacate de California (Estados Unidos) con el uso de RAPDs permitió determinar el grado de entrecruzamiento genético entre los cultivares Hass, Fuerte, Bacon y Zutano, demostrándose que la fertilización cruzada es muy común en este cultivo (Fiedler et al., 1998). Sin embargo, los procesos de entrecruzamiento entre diferentes cultivares de aguacate también ocurre en esta especie, ya que la polinización entre distintos cultivares genera variabilidad genética en ella. Estos autores determinaron que la polinización del cultivar Fuerte hacia el cultivar Hass, fue la más frecuentemente encontrada, sugiriendo que ellos presentan una buena compatibilidad genética. Este trabajo al igual que el presente estudio, demostró mayor similitud genética entre las poblaciones más cercanas geográficamente argumentando que la tasa de entrecruzamiento entre plantas depende de la posibilidad de eventos de polinización por insectos y a su vez que la variabilidad genética encontrada en cada localidad, puede ser debida a fenómenos de adaptación al hábitat en el que se encuentra el cultivar, particularmente por el clima de cada uno de ellos.

LITERATURA CITADA

- Ashworth, V.E.T. M., y M.T. Clegg. 2003. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): Genealogical relationships among cultivated avocado genotypes. *J. Hered.* 94:407-41.
- Ashworth, V.E.T.M., M.C. Kobayashi, M. de la Cruz, y M.T. Clegg. 2004. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): development of dinucleotide and trinucleotide markers. *Sci. Hort.* 10:255-267.
- Bergh, B. 1992. The origin, nature and genetic improvement of the avocado. *Calif. Avocado Soc. Yearb.* 76:61-75.
- Bernal, E.J.A., y C. A. Díaz, compiladores. 2005. Tecnología para el cultivo del aguacate. Manual técnico 5. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Centro de Investigación La Selva, Rionegro, Antioquia, Colombia.
- Campos-Rojas, E., T. Terrazas, y L. López-Mata. 2007. *Persea* (avocados) phylogenetic analysis based on morphological characters: hypothesis of species relationships. *Genet. Resour Crop Evol.* 54: 249-258
- Cuiris-Pérez, H., H. Guillén-Andrade, M.E. Pedraza-Santos, J. López-Medina, y I. Vidales-Fernández. 2009. Genetic variability within mexican race avocado (*Persea americana* Mill) germplasm collections determined by ISSR. *Rev. Chapingo. Serie Hort.* 15:169-175.
- Davis, J.D., H.M. Kobayashi, M.T. Clegg, y M.T. Clegg. 1998. Genealogical relationships among cultivated avocado as revealed through RFLP analyses. *J. Hered.* 89:319-323.
- Dice, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26:297-302.
- Fielder, J., G. Buffer, y F. Bangerth. 1998. Genetic relations of avocado (*Persea americana* Mill.) using RAPD markers. *Euphytica* 101:249-255.
- Gutiérrez-Díez, A., J. Martínez de la Cerda, E.A. García-Zambrano, L. Iracheta-Donjuan, J.D. Ocampo-Morales, y I.M. Cerda-Hurtado. 2009. Estudio de la diversidad genética del aguacate nativo en Nuevo León, México. *Rev. Fitotec. Mex.* 32:9-18.
- Hammer, O.D., A.T. Harper, y P.D. Ryan. 2001. PAST: Palaeontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Elect.* 4:1-9.
- Holdridge, L.R. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center, San José, Costa Rica.
- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute). 1995. Descriptors for avocado (*Persea* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 58 p.
- Kobayashi, M., J.-Z. Lin, J. Davis, L. Francis, y M.T. Clegg. 2000. Quantitative analysis of avocado outcrossing and yield in California using RAPD markers. *Scientia Hort.* 86:135-149.
- Mhameed, S., D. Sharon, D. Kaufman, E. Lahav, J. Hillel, C. Degani, y U. Lavi. 1997. Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill.) cultivars and between *Persea* species. *Theor. Appl. Genet.* 94:279-286.
- Mijares, P., y L. López. 1998. Variedades de aguacate y su producción en México. Memoria Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S.C., México.
- Peakall, R., y P.E. Smouse. 2006. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6:288-295.
- Ríos-Castaño, D. 2003. Variedades de aguacate para el trópico: caso Colombia. En: Actas V Congreso Mundial del Aguacate. 19-24 octubre 2003. Málaga España. Vol II. p. 143-147.
- Sharon, D., J. Hillel, S. Mhameed, T.B. Cregan, E. Lahav, Y U. Lavi. 1998. Association between DNA markers and

- loci controlling avocado traits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123:1016-1022.
- Schnell, R.J., J.S. Brown, C.T. Olano, E.J. Power, y C.A. Krol. 2003. Evaluation of avocado germplasm using microsatellite markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128: 881-889.
- Sneath, P.H., y R.R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy. Editorial Freeman, San Francisco, CA, USA.
- Storey, W.B., B. Bergh, y G.A. Zentmyer. 1986. The origin, indigenous range and dissemination of the avocado. *Calif. Avocado Soc. Yearb.* 70:127-143.
- Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, y S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24:1596-1599.
- Torres, A.M., y B.O. Bergh. 1980. Fruit and leaf isoenzymes as genetic markers in avocado. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116:1078-1081.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijmans, T. Van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper, y M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23:4407-4414.
- Weising, K., B. Betermann, J. Ramser, y G. Kahl. 1991. Plant DNA fingerprinting with radioactive and digoxigenated oligonucleotide probes complementary to simple VI-45 repetitive DNA sequences. *Electrophoresis* 12:159-169.

