







# Descripción morfológica y molecular de un nuevo híbrido de *Persea americana* (Lauraceae) del sur del Estado de México

## Morphological and molecular description of a new hybrid of *Persea americana* (Lauraceae) from the south of the State of Mexico

Juan Carlos Reyes-Alemán<sup>1,2</sup> , Juan Carlos Jaime-Dávila<sup>1</sup>, Jaime Mejía-Carranza<sup>1</sup> , Justino Gerardo González-Díaz<sup>1</sup>   
Luis Miguel Vázquez-García<sup>1</sup>, Elizabeth Urbina-Sánchez<sup>1</sup> 

### Resumen:

**Antecedentes y Objetivos:** El género *Persea*, que pertenece a la familia Lauraceae, comprende los subgéneros *Persea* y *Eriodaphne*, ambos con amplia variabilidad y distribución en América. En México, en ambiente de selva baja caducifolia del sur del Estado de México, se encontró un nuevo tipo de aguacate. Sobresale por su exocarpio grueso de fruto, abundante pubescencia en hoja y crecimiento vigoroso. Es morfológicamente distinto a especies o razas descritas de *Persea*, semejante en algunas características morfológicas a *P. floccosa* y *P. tolimanensis*, y en grosor de exocarpio a esta última. Comparte hábitat con *P. americana* var. *drymifolia*, pero su parentesco es ambiguo. El objetivo del estudio consistió en describir morfológica y molecularmente dos poblaciones del nuevo aguacate y compararlas con *P. floccosa*, *P. tolimanensis* y *P. americana* var. *drymifolia*.

**Métodos:** Se colectaron 13 muestras del nuevo genotipo en Ixtapan del Oro y Zumpahuacán, México. Sesenta y cuatro características basadas en directrices morfológicas IPGRI y UPOV fueron analizadas por métodos discriminante y conglomerados. Molecularmente se utilizaron ocho iniciadores RAPD y seis ISSR. Mediante distancia de similitud Jaccard y métodos de agrupamiento Neighbor-Joining y UPGMA se construyeron dendogramas. El contenido de información polimórfica (PIC), poder de resolución (RP) e índice del marcador (IM) fueron generados.

**Resultados clave:** La pubescencia, ondulación y forma de hoja agrupó individuos, mientras que pubescencia y anchura de sépalo, olor a anís y grosor de exocarpio los separó. RAPD generaron 1417 bandas de 250 a 900 pb, e ISSR 917 bandas de 200 a 1000 pb. El PIC y RP fue de 0.45 y 0.49, y 8.8 y 5.81, respectivamente. Los dendogramas distinguieron al híbrido de las especies de referencia.

**Conclusiones:** El nuevo genotipo proviene de hibridación natural de *P. americana* var. *drymifolia*, se confirma su carácter polimórfico y podría considerarse una variedad botánica nueva.

**Palabras clave:** aguacate, caracterización de planta, diversidad genética, hibridación natural, polimorfismo.

### Abstract

**Background and Aims:** The genus *Persea*, of the family Lauraceae, includes the subgenera *Persea* and *Eriodaphne*, both with great variability and distribution in America. In Mexico, in a low deciduous forest environment in the south of the State of Mexico, a new type of avocado was found. It stands out for its thick fruit exocarp, abundant leaf pubescence and vigorous growth. It is morphologically distinct from described species or races of *Persea*, similar in some morphological characteristics to *P. floccosa* and *P. tolimanensis*, and in exocarp thickness to the latter. It shares habitat with *P. americana* var. *drymifolia*, but its parentage is ambiguous. The objective of the study was to describe morphologically and molecularly two populations of the new type of avocado and compare it with *P. floccosa*, *P. tolimanensis* and *P. americana* var. *drymifolia*.

**Methods:** Thirteen samples of the new genotype were collected in Ixtapan del Oro and Zumpahuacán, Mexico. Sixty-four characteristics based on IPGRI and UPOV morphological guidelines were analyzed using discriminant and conglomerate methods. Molecularly eight RAPD and six ISSR primers were used. Using Jaccard similarity distance, as well as Neighbor-Joining and UPGMA clustering methods, dendrograms were constructed. Polymorphic information content (PIC), resolving power (RP) and marker index (MI) were generated.

**Key results:** Pubescence, undulation, and shape of leaves grouped individuals together, while sepal pubescence and width, anise odor, and fruit exocarp thickness separated them. RAPD generated 1417 bands from 250 to 900 bp, and ISSR 917 bands from 200 to 1000 bp. The PIC and RP were 0.45 and 0.49 and 8.8 and 5.81, respectively. The dendrograms allowed to distinguish the hybrid from the reference species.

**Conclusions:** The new genotype comes from natural hybridization of *P. americana* var. *drymifolia*, its polymorphic character is confirmed, and it could be considered a new botanical variety.

**Key words:** avocado, genetic diversity, natural hybridization, plant characterization, polymorphism.

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario UAEM Tenancingo, Carretera Tenancingo-Villa Guerrero km 1.5, Santa Ana Ixtlahuatzingo, 52400 Tenancingo, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Autor para la correspondencia: jcreyesa@uaemex.mx

Recibido: 26 de julio de 2023.

Revisado: 15 de diciembre de 2023.

Aceptado por Marie-Stéphanie Samain: 29 de febrero de 2024.

Publicado Primero en línea: 4 de julio de 2024.

Publicado: Acta Botanica Mexicana 131(2024).



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0

Atribución-No Comercial (CC BY-NC 4.0 Internacional).

Citar como: Reyes-Alemán, J. C., J. C. Jaime-Dávila, J. Mejía-Carranza, J. G. González-Díaz, L. M. Vázquez-García y E. Urbina-Sánchez. 2024. Descripción morfológica y molecular de un nuevo híbrido de *Persea americana* (Lauraceae) del sur del Estado de México. Acta Botanica Mexicana 131: e2239. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm131.2024.2239>

e-ISSN: 2448-7589

## Introducción

México cuenta con 20 especies del género *Persea* Mill., de las 85 reportadas en América (Barrientos-Priego et al., 2015). En el sur del Estado de México se distribuyen tres taxones de dos subgéneros: 1) subg. *Persea*: *Persea americana* Mill. var. *drymifolia* (Schltdl. & Cham.) S.F. Blakey, y 2) subg. *Eriodaphne* (Nees) Meisn.: *Persea cinerascens* S.F. Blake y *Persea hintonii* C.K. Allen, conocidos como aguacates y aguacatillos, respectivamente (Kopp, 1966). Durante su evolución, y mediante procesos de hibridación, el aguacate ha generado híbridos naturales que constituyen reservorio de genes hortícolas útiles (Chanderbali et al., 2008). El aguacate tiene su origen en Norteamérica (Gama-Campillo y Gómez-Pompa, 1992; Galindo-Tovar et al., 2007), pero fue domesticado por culturas prehispánicas en Mesoamérica, cuyos nuevos hábitats favorecieron la especiación (Scora et al., 2002), por lo que se han generado nuevos tipos de manera natural, desconocidos, pero con potencial de utilización agronómica.

El presente estudio describe un nuevo tipo de aguacate, localizado en ambiente cálido del Estado de México, México, y semejante, en pubescencia de hoja y tallo joven y grosor de exocarpio, a *Persea floccosa* Mez (Schroeder, 1951) y a *Persea tolimanensis* Zentmyer & Schieb. (Schieber y Zentmyer, 1972; 1981). Comparte hábitat con *P. americana* var. *drymifolia*, pero difiere de este por presentar hoja pubescente y de mayor tamaño y sin olor a anís, así como fruto de cáscara muy gruesa con lenticelas corchosas (Jaime-Dávila, 2020).

Como hipótesis, la caracterización tanto morfológica como molecular podría apoyar en la identificación del nuevo genotipo y su relación con otras especies, asumiendo que la descripción conjunta podría resultar más eficiente (Rentarías-Alcántara, 2007). Molecularmente se han distinguido híbridos y especies de *Persea* (Davis et al., 1998; Clegg et al., 1999; Ashworth y Clegg, 2003), y se reconocen RAPD e ISSR como dos marcadores moleculares tradicionales y útiles en la descripción de germoplasma (Fiedler et al., 1998; Reyes-Alemán et al., 2016; Arteaga-Ríos et al., 2020). Por lo tanto, el objetivo de este estudio consistió en describir morfológica y molecularmente dos

poblaciones del nuevo tipo de aguacate y compararlo con *P. floccosa*, *P. tolimanensis* y *P. americana* var. *drymifolia*.

## Materiales y Métodos

### Colecta de material vegetal

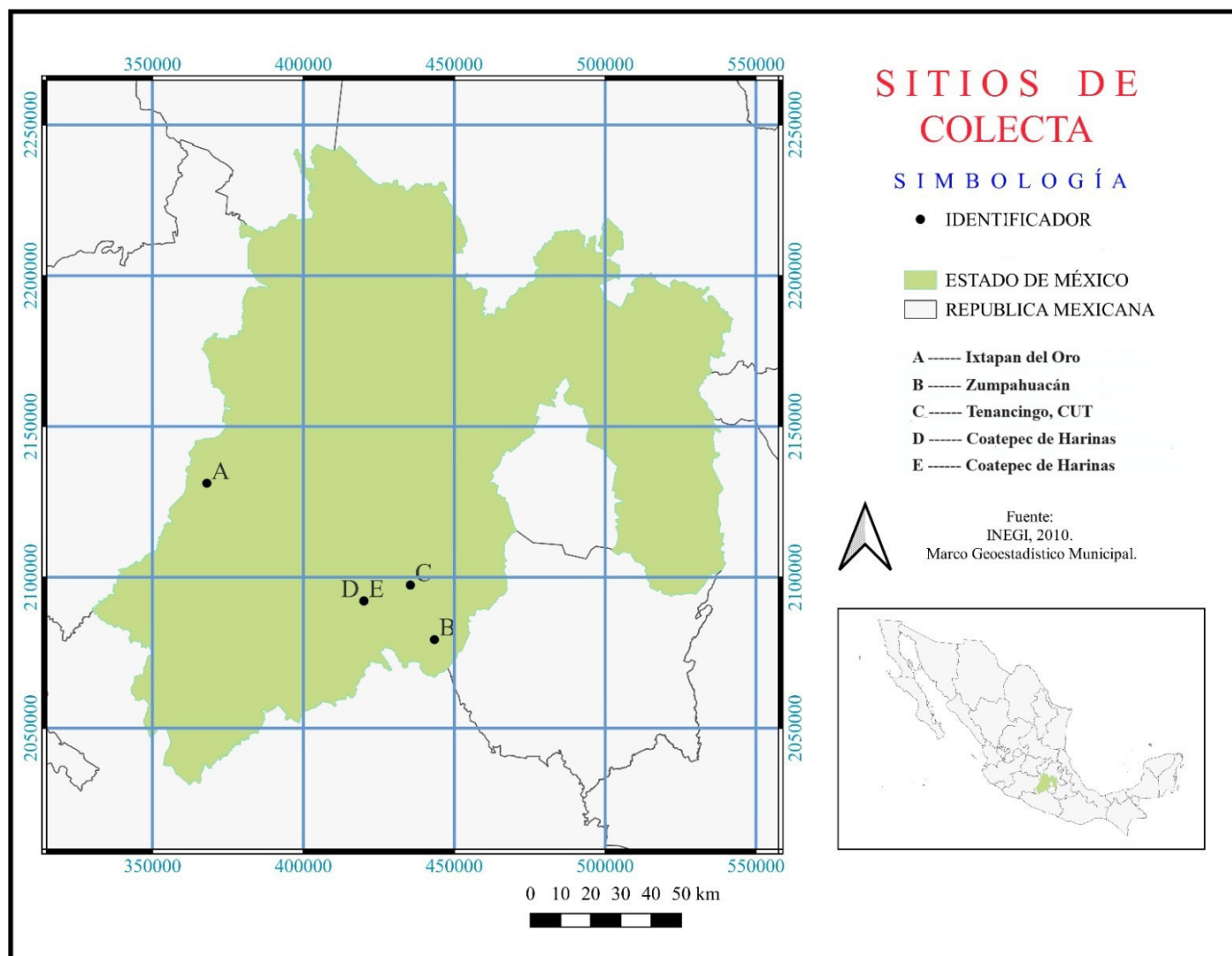
Se colectaron 19 muestras de material vegetal: las correspondientes a *Persea* sp. se colectaron en Zumpahuacán (6) e Ixtapan del Oro (7) y las de *P. americana* var. *drymifolia* en Tenancingo (Centro Universitario Tenancingo (CUT) de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM)) (6). Tres muestras de las especies de referencia *P. tolimanensis* (2) y *P. floccosa* (1) fueron tomadas del banco de germoplasma de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C. ubicado en Coatepec Harinas, México (Fig. 1, Cuadro 1).

El material vegetal se colectó en noviembre de 2018 y de enero a marzo de 2019, consistiendo en tallos jóvenes, hojas e inflorescencias de árboles *in situ* (Fig. 2). Cada colecta consistió en 10 ramificaciones vegetativas de 30 cm de longitud, 10 panículas florales y 10 frutos maduros por orientación cardinal del árbol. Las muestras se colocaron en bolsas plásticas y se trasladaron en una hielera de 54 qt capacidad (Coleman®, modelo 5295A780G, Wichita, EUA) al laboratorio del Centro Universitario Tenancingo (UAEM), se refrigeraron para su conservación y enseguida se realizaron las mediciones descritas. Los ejemplares fueron depositados en el herbario CODAGEM (Acrónimo según Thiers, 2024).

### Caracterización morfológica

Las mediciones morfológicas se hicieron con vernier digital Stainless Steel 2020® (Sunrom, Gujarat, India), regla de 30 cm y balanza granataria OHAUS 1650-W0® (Global Test Supply, North Carolina, EUA), de acuerdo con los siguientes descriptores: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI, 1995), International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV, 2006) y Barrientos-Priego et al. (2010). Estadísticamente la unidad experimental consistió en un árbol como ejemplar único por accesión (Cuadro 1). Se generaron 10 repeticiones por característica: de hoja, flor y fruto por lado cardinal del árbol. Sesenta y cuatro características morfológicas fueron consideradas: 19 cuantitativas y 45 cualitativas (Cuadro 2). Se integraron





**Figura 1:** Distribución de colectas, de A. *Persea* sp. Ixtapan del Oro; B. *Persea* sp. Zumpahuacán; C. *Persea americana* var. *drymifolia* (Schldl. & Cham.) S.F. Blakey; D. *Persea floccosa* Mez; E. *Persea tolimanensis* Zentmyer & Schieb. Mapa de INEGI (2010) modificado en el programa QGIS Development Team v. 3.22 (QGIS Development Team, 2023), por Kenya Ibeth Carreño González y María Eugenia Valdez Pérez.

tres matrices básicas de datos: hoja, flor y fruto (**Material suplementario 1, 2, 3**, respectivamente).

### Análisis estadísticos de datos morfológicos

Para diferenciar morfológicamente a los genotipos, se utilizaron la técnica de conglomerados, el método jerárquico, el criterio de clasificación Average Linkage, la distancia euclídea, estandarización de datos, y los caracteres morfológicos asociados a hoja, flor y fruto de los genotipos colectados (**Cuadros 1, 2**). Los caracteres fueron el criterio de número mínimo y con la distancia media, se

seleccionaron los conglomerados. El análisis de discriminantes lineal se usó para clasificar individuos en colectas e identificar variables asociadas a la clasificación (Johnson, 2000; Balzarini et al., 2008). Ambos procedimientos se realizaron con las rutinas de Info Stat v. 2017 (Di Rienzo et al., 2017).

### Caracterización molecular

El ADN genómico se extrajo de 100 mg de tejido fresco de hojas tiernas de tallos jóvenes de 5 a 10 cm colectadas por genotipo, distintas a las utilizadas para la descripción



**Cuadro 1:** Material vegetal colectado en el Estado de México, México. Colectas empleadas en el estudio morfológico (+), colectas empleadas en el estudio molecular (¶). Los ejemplares están depositados en el herbario CODAGEM (Acronimo según Thiers, 2024).

Clave de colecta	Sitio de colecta	Coordenadas altitud	Voucher	Atributos principales	Taxon/raza
CUT-M 1 <sup>†,¶</sup>	Tenancingo, Méx.	18°58'6.43"N 99°36'46.92"O 2067 m	F. Flores-Ayala y J.C. Reyes Alemán U1	Fruto pequeño, cáscara delgada	<i>Persea americana</i> Mill. var. <i>drymifolia</i> (Schltdl. & Cham.) S.F. Blakey
CUT-M 2 <sup>†,¶</sup>	Tenancingo, Méx.	18°58'5.89"N 99°36'45.12"O 2067 m	F. Flores-Ayala y J.C. Reyes Alemán U2	Semilla grande, escasa inflorescencia	<i>Persea americana</i> Mill. var. <i>drymifolia</i> (Schltdl. & Cham.) S.F. Blakey
CUT-M 3 <sup>†,¶</sup>	Tenancingo, Méx.	18°58'6.27"N 99°36'46.52"O 2066 m	F. Flores-Ayala y J.C. Reyes Alemán U3	Fruto mediano, semilla ovada	<i>Persea americana</i> Mill. var. <i>drymifolia</i> (Schltdl. & Cham.) S.F. Blakey
CUT-M 5 <sup>†,¶</sup>	Tenancingo, Méx.	18°58'6.44"N 99°36'47.02"O 2066 m	F. Flores-Ayala y J.C. Reyes Alemán U5	Fruto grande, pulpa cremosa	<i>Persea americana</i> Mill. var. <i>drymifolia</i> (Schltdl. & Cham.) S.F. Blakey
CUT-M 7 <sup>†,¶</sup>	Tenancingo, Méx.	18°58'6.44"N 99°36'46.45"O 2066 m	F. Flores-Ayala y J.C. Reyes Alemán U7	Fruto pequeño brillante	<i>Persea americana</i> Mill. var. <i>drymifolia</i> (Schltdl. & Cham.) S.F. Blakey
CUT-M 10 <sup>†</sup>	Tenancingo, Méx.	18°58'6.06"N 99°36'45.31"O 2066 m	F. Flores-Ayala y J.C. Reyes Alemán U10	Brote juvenil muy pubescente	<i>Persea americana</i> Mill. var. <i>drymifolia</i> (Schltdl. & Cham.) S.F. Blakey
PERLA-1 <sup>†,¶</sup>	Zumpahuacán, Méx.	18°48'25.66"N 99°33'14.05"O 1849 m	L.M. Vázquez-García et al. Z1	Hoja pubescencia intermedia	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
PERLA-2 <sup>†,¶</sup>	Zumpahuacán, Méx.	18°48'21.80"N 99°33'15.21"O 1833 m	L.M. Vázquez-García et al. Z2	Fruto pequeño, hoja pubescente	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
SANPEGU <sup>†,¶</sup>	Zumpahuacán, Méx.	18°49'16.36"N 99°32'19.01"O 1790 m	L.M. Vázquez-García et al. Z3	Hoja grande ligero olor a anís	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
SANPEGU-2 <sup>†,¶</sup>	Zumpahuacán, Méx.	18°49'16.16"N 99°32'18.52"O 1789 m	L.M. Vázquez-García et al. Z4	Hoja grande, ligero olor a anís	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
SANDESP <sup>†,¶</sup>	Zumpahuacán, Méx.	18°48'18.71"N 99°32'12.17"O 1836 m	L.M. Vázquez-García et al. Z5	Fruto cáscara gruesa, hojas grandes	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
ZUMP-IGLESIA <sup>†</sup>	Zumpahuacán, Méx.	18°49'24.05"N 99°32'14.39"O 1745 m	L.M. Vázquez-García et al. Z6	Hoja muy oscura, ligero olor a anís	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
BARR <sup>†,¶</sup>	Ixtapan del Oro, Méx.	19°16'12.35"N 100°15'21.47"O 1698 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán I1	Fruto cáscara gruesa, hojas grandes pubescentes	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
BARR-2 <sup>†,¶</sup>	Ixtapan del Oro, Méx.	19°16'3.11"N 100°15'17.68"O 1725 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán I2	Hojas muy grandes pubescentes	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
BARR-3 <sup>†</sup>	Ixtapan del Oro, Méx.	19°16'1.44"N 100°15'18.85"O 1722 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán I3	Hojas muy grandes, ligero olor a anís	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo



Cuadro 1: continuación.

Clave de colecta	Sitio de colecta	Coordenadas altitud	Voucher	Atributos principales	Taxon/raza
SANMAN <sup>†,¶</sup>	Ixtapan del Oro, Méx.	19°16'23.23"N 100°15'34.90"O 1759 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán I4	Fruto mediano de cáscara ligeramente delgada	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
CASV <sup>†,¶</sup>	Ixtapan del Oro, Méx.	19°16'20.10"N 100°15'21.10"O 1702 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán I5	Hojas grandes pubescentes	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
CASTI-1 <sup>†,¶</sup>	Ixtapan del Oro, Méx.	19°16'25.53"N 100°15'57.12"O 1810 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán I6	Hojas grandes ligeramente torcidas	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
CASTI-2 <sup>†</sup>	Ixtapan del Oro, Méx.	19°16'25.86"N 100°15'56.15"O 1815 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán I7	Hojas intermedias, ligero olor a anís	<i>Persea</i> sp. Híbrido nuevo
<i>Persea floccosa</i> <sup>†,¶</sup>	Coatepec Harinas, Méx.	18°55'12.23"N 99°45'33.45"O 2214 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán C1	Fruto mediano, cáscara delgada, hoja pequeña muy pubescente	<i>Persea floccosa</i> Mez
<i>Persea tolimanensis</i> -1 <sup>†,¶</sup>	Coatepec Harinas, Méx.	18°55'14.00"N 99°45'31.91"O 2206 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán C2	Fruto redondo, cáscara muy gruesa, sabor semi amargo	<i>Persea tolimanensis</i> Zentmyer & Schieb.
<i>Persea tolimanensis</i> -2 <sup>†,¶</sup>	Coatepec Harinas, Méx.	18°55'14.03"N 99°45'32.04"O 2206 m	J.C. Jaime-Dávila y J.C. Reyes Alemán C3	Fruto redondo, cáscara muy gruesa, sabor semi amargo	<i>Persea tolimanensis</i> Zentmyer & Schieb.

morfológica. Se colocaron en hielera y transportaron en cadena fría al laboratorio ya mencionado, para su proceso. Se utilizó el kit FAST ID Genomic DNA Extraction®. La concentración de ADN en las muestras se midió mediante espectrofotómetro ND-1000 Nano Drop (Thermo Fisher Scientific®, Waltham, EUA). El cociente de medición fotométrica, DO260/280, del ADN varió entre 1.9 y 6.2, que indica calidad aceptable de ADN genómico (Riepl et al., 2011). El rendimiento de ADN en 100 mg de tejido de hoja joven fue de 73.2 ng µl<sup>-1</sup>, en promedio.

La mezcla de PCR para los iniciadores RAPD contenía 2 µl de ADN (20 ng µl<sup>-1</sup>), 10 µl de MyTaq Mix, 2 µl de iniciador y 4 µl de H<sub>2</sub>O destilada-desionizada libre de nucleasas (SIGMA™), para un volumen final de 28 µl. Los mismos componentes se usaron para ISSR. La PCR se llevó a cabo en un termociclador GENE Amp PCR System 2700® (Applied Biosystems®, Foster City, EUA) con el siguiente programa: para RAPD: 1 min a 94 °C, seguido de 35 ciclos a 94 °C × 30 s, 40 °C × 30 s y 72 °C × 1.5 min, con una extensión final

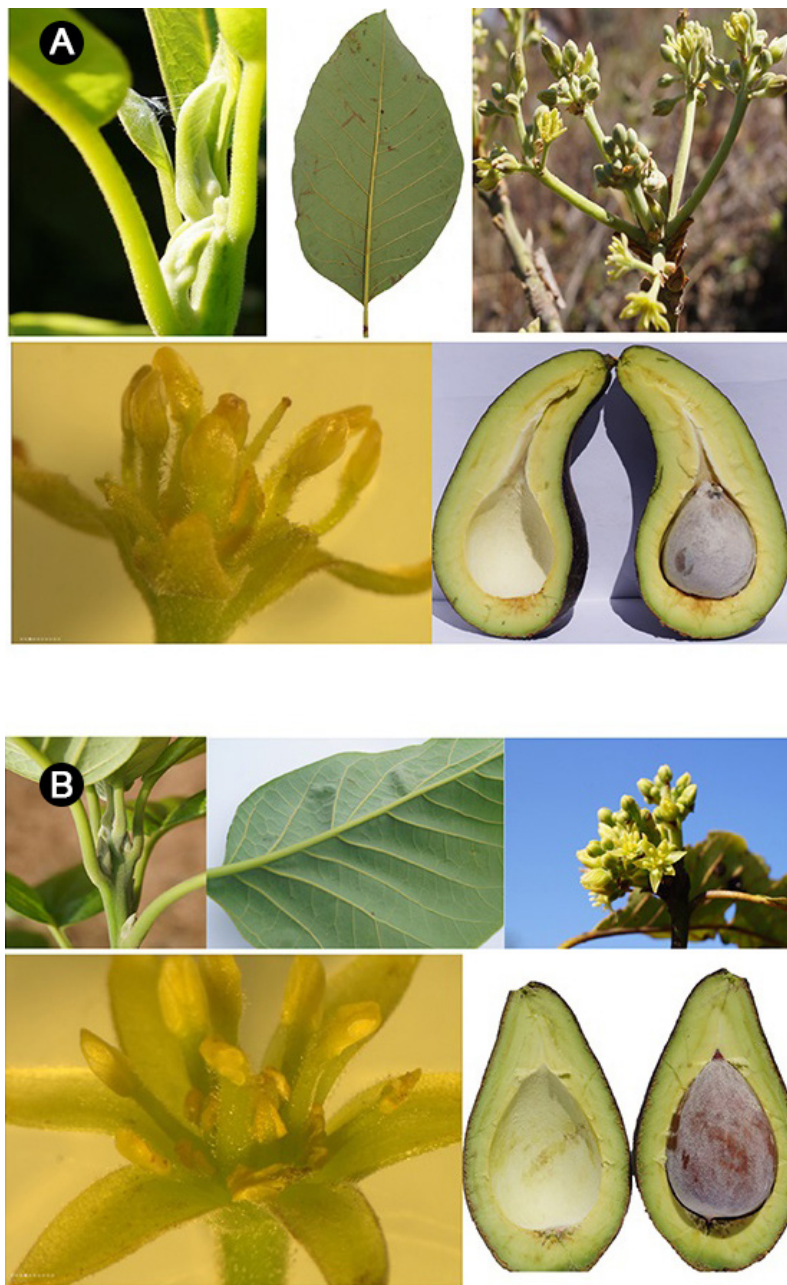
de 72 °C × 2.5 min. Para ISSR: 1 min a 94 °C, seguido de 38 ciclos a 94 °C × 30 s, 48 °C × 30 s y 72 °C × 2 min con una extensión final de 72 °C × 2.5 min.

Los iniciadores utilizados y los índices de eficiencia obtenidos se presentan en el Cuadro 3. Los productos de PCR se corrieron en electroforesis en una Celda MS CREEN Cleaver Scientific® (Warwick, UK) con geles de agarosa entre 0.9 y 1.2%, con una corriente de 90 a 120 V × 2 a 3 horas. La selección de oligonucleótidos informativos se basó en estudios previos con especies del género *Persea* (Reyes-Alemán et al., 2013; 2016).

### Análisis estadístico de datos moleculares

Con los productos amplificados se integró una matriz conjunta de caracteres binarios en donde las bandas polimórficas se codificaron con 1 y su ausencia con 0. La información se procesó mediante el software Free Tree v. 0.91.5 (Pavlíček et al., 1999) y se visualizó mediante el programa TreeView v. 1.6.6. (Page, 2001). Para RAPD se utilizó el





**Figura 2:** Aspecto del nuevo genotipo de *Persea americana* Mill.: A. genotipo SANDESP de Zumpahuacán, México; B. genotipo CASV de Ixtapan del Oro, México.

criterio de distancia de similitud de Jaccard (Jaccard, 1908) y el método de construcción del árbol Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987). Para ISSR se utilizó el mismo criterio de distancia de similitud anterior, pero se empleó el método de agrupamiento UPGMA por resultar más informativo (Sneath y Sokal, 1973). Se realizó un bootstrap de 1000 repeticiones en cada caso.

La eficiencia de los iniciadores se basó en el contenido de información polimórfica (PIC), poder de resolución (RP) e

índice del marcador (IM) (Cuadro 3). El PIC se determinó mediante la ecuación (1) descrita por Roldán-Ruiz et al. (2000):

$$(1) \quad PIC_i = 2fi(1-fi)$$

Donde PIC<sub>i</sub> es el contenido de información polimórfica, fi es la frecuencia de las bandas presentes y 1-fi, la frecuencia de las bandas ausentes.

La habilidad de los primers más informativos se basó en su poder de resolución (RP). Fue calculado mediante la

**Cuadro 2:** Características morfológicas utilizadas y su unidad de medición. †=con base en descriptores para aguacate (*Persea* spp.) (IPGRI, 1995). ¶=con apoyo en el manual gráfico para la descripción varietal de aguacate (Barrientos-Priego et al., 2010). §=con apoyo en “Guidelines for the conduct of test distinctness, uniformity and stability” (UPOV, 2006).

Características	Hoja	Flor	Fruto
Cuantitativas	1 Longitud de hoja (cm) <sup>†</sup>	1 Longitud de eje floral (cm) <sup>†</sup>	1 Longitud de fruto (cm) <sup>†</sup>
	2 Ancho de hoja (cm) <sup>¶,§</sup>	2 Número de ramificaciones por inflorescencia <sup>†</sup>	2 Diámetro de fruto (cm) <sup>†</sup>
	3 Relación longitud × ancho de hoja (cm) <sup>¶,§</sup>	3 Número de flores por inflorescencia <sup>†</sup>	3 Relación longitud/diámetro de fruto <sup>¶,§</sup>
	4 Longitud de peciolo (cm) <sup>¶</sup>	4 Longitud de pedicelo (cm) <sup>†</sup>	4 Diámetro de inserción de pedicelo (cm) <sup>¶,§</sup>
	5 Número de venas secundarias <sup>¶,§</sup>	5 Longitud de pétalos (cm) <sup>†</sup>	5 Longitud de pedicelo (cm) <sup>†</sup>
		6 Ancho de pétalos (cm)	6 Grosor de la cáscara (cm) <sup>†</sup>
		7 Longitud de sépalos (cm) <sup>†</sup>	
		8 Ancho de sépalos (cm)	
Cualitativas	6 Forma de la hoja <sup>†</sup> 1=ovado, 2=estrechamente obovado, 3=obovado, 4=oval, 5=casi redondo, 6=cordiforme, 7=lanceolado, 8=oblongo, 9=oblongo-lanceolado, 10=otro	9 Color de lenticelas <sup>¶,§</sup> 1=verde, 2=rojo	7 Forma del pedicelo <sup>†</sup> 1=cilíndrico, 2=cónico, 3=redondeado, 4=otro
	7 Forma del ápice <sup>†</sup> : 1=muy agudo, 3=agudo, 5=intermedio, 7=obtusos, 9=muy obtuso	10 Tipo de floración <sup>†</sup> 1=tipo A, 2=tipo B, 3=desconocido	8 Presencia de cuello <sup>¶,§,†</sup> 0=ausente, 1=presente
	8 Torcedura de la hoja <sup>¶,§,†</sup> 0=ausente, 1=presente	11 Tipo de nectario <sup>¶,§</sup> 1=sésil, 2=pedunculado	9 Depresión en el extremo peduncular <sup>¶,§,†</sup> 0=ausente, 1=presente
	9 Torcedura del ápice <sup>¶,§,†</sup> 0=ausente, 1=presente	12 Presencia de polen <sup>†,¶</sup> 0=ausente, 1=presente	10 Posición de pedicelo en fruto <sup>†</sup> 1=central, 2=asimétrico, 3=muy asimétrico, 4=extremadamente asimétrico
	10 Margen de la hoja (ondulación) <sup>†,¶</sup> 1=entera, 2=ondulada	13 Posición Estilo de flor <sup>†</sup> 1=derecho, 2=torcido, 3=otro	11 Forma del ápice del fruto <sup>†</sup> 1=profundamente deprimido, 2=ligeramente deprimido, 3=aplanado, 4=redondeado, 5=puntiagudo
	11 Relieve de las venas superiores <sup>†</sup> 3=hundido, 5=intermedio, 7=elevada	14 Pubescencia del sépalo interno <sup>¶,§,†</sup> 0=ausente, 1=presente	12 Conspicuidad de lenticelas <sup>¶,§</sup> 1=inconspicuo o débil, 2=medio, 3=fuerte
	12 Pubescencia en el envés <sup>†</sup> 34	15 Densidad de pubescencia del sépalo <sup>†,¶,§</sup>	13 Tamaño de lenticelas <sup>†</sup> 3=pequeño, 5=intermedio, 7=grande
	13 Olor a anís <sup>†</sup> 3=débil, 5=intermedio, 7=fuerte	16 Abundancia de la floración	14 Color de lenticelas <sup>¶,§,†</sup> 1=crema, 2=amarillo, 3=verde claro, 4=marrón
		17 Posición de la inflorescencia <sup>†</sup> 1=terminal, 2=subterminal, 3=axilar, 4=otra	15 Brillantes de fruto <sup>¶,§,†</sup> 1=ausente o débil, 2=medio, 3=fuerte
		18 Pubescencia del pétalo 0=ausente, 1=presente	16 Superficie de fruto <sup>†</sup> 3=suave, 5=intermedio, 7=áspero



Cuadro 2: Continuación.

Características	Hoja	Flor	Fruto
		<b>19 Densidad de pubescencia del pétalo<sup>†</sup></b> 3=escasa, 5=intermedia, 7=densa	<b>17 Persistencia de perianto<sup>†</sup></b> 0=ausente, 1=presente <b>18 Grosor del pedicelo en comparación con el pedúnculo<sup>¶,§,p</sup></b> 1=igual, 2=mayor <b>19 Forma de pedicelo<sup>†</sup></b> 1=cilíndrico, 2=cónico, 3=redondeado, 4=otro <b>20 Color de pedicelo<sup>†</sup></b> 1=amarillo, 2=verde, 3=naranja, 4=rojo, 5=café, 6=otro <b>21 Superficie de pedicelo<sup>¶,§,p</sup></b> 1=lisa, 2=rugosa <b>22 Color de fruto maduro<sup>†</sup></b> 1=ligeramente verde, 2=verde, 3=verde oscuro, 4=amarillo, 5=rojo, 6=morado, 7=negro, 8=moteado, 9=otro <b>23 Consistencia de la cáscara<sup>¶,§</sup></b> 1=membranosa, 2=coriácea, 3=corchosa <b>24 Adherencia de la cáscara a la pulpa<sup>†</sup></b> 3=leve, 5=intermedia, 7=fuerte <b>25 Color principal de la pulpa<sup>¶,§,p</sup></b> 1=blanquecino, 2=crema, 3=amarillo, 4=verde claro <b>26 Color junto a la cáscara<sup>¶,§,p</sup></b> 1=verde claro, 2=verde medio, 3=verde amarillo. <b>27 Ancho de la capa junto a la cáscara<sup>¶,p</sup></b> 3=estrecho, 5=medio, 7=ancho <b>28 Fibra en la pulpa<sup>†</sup></b> 3=bajo, 5=intermedio, 7=alto <b>29 Textura de la pulpa<sup>†</sup></b> 1=acuoso, 2=mantecoso, 3=pastosa, 4=granular, 5=otro <b>30 Aroma a anís de la pulpa<sup>¶,§,p</sup></b> 0=ausente, 1=presente <b>31 Relación longitud de fruto/ longitud de semilla<sup>¶,§,p</sup></b> 1=muy pequeña, 3=pequeña, 5=media, 7=grande, 9=muy grande <b>32 Pedicelo con cabeza de clavo<sup>†</sup></b> 0=ausente, 1=presente

Cualitativas





**Cuadro 3:** Tipo de marcador molecular utilizado, secuencia del iniciador, bandas de ADN × locus, número de amplicones, porcentaje de contribución y bandas polimórficas por iniciador, contenido de información polimórfica (PIC), poder de resolución (RP) e índice del marcador (IM) obtenidos. <sup>1</sup>Compañía Sigma-Aldrich, \*B=G, T, C; D=G, A, T; Y=C, T; R=A, G, iniciadores anclados, \*\*iniciador sin ancla.

Tipo de marcador	Iniciador	Secuencias (5'-3')	Locus × bandas DNA	Amplicones/ iniciador	% Contribución	Bandas polimórficas presentes/ esperadas	PIC	RP	IM
RAPD <sup>1</sup>	A 15	TTC CGA ACC C	17	83	5.4	83/83	0.36	1.33	29.9
	C 08	TGG ACC GGT G	13	244	15.8	208/244	0.43	14.08	89.4
	C 10	TGT CTG GGT G	7	157	10.17	139/157	0.44	4.08	61.1
	C 13	AAG CCT CGT C	10	189	12.25	189/189	0.50	8.33	94.5
	E 7	AGA TGC AGC C	10	207	13.4	189/207	0.48	8.33	90.7
	E 14	TGC GGC TGA G	5	190	12.3	100/190	0.47	2.08	47
	E 16	GGT GAC TGT G	14	268	17.4	268/268	0.49	16.33	131.3
	E 18	GGA CTG CAG A	11	205	13.3	205/205	0.50	10.08	102.5
		<b>Total</b>		87	1543	100	1381/1583	3.67	64.64
	<b>Promedio</b>		10.87	192.9	12.5	172.6/192.9	0.45	8.08	80.8
ISSR*	AC(GACA) <sub>4</sub>	ACGACAGACAGACAGACA	7	255	21.14	129/255	0.49	4.08	63.21
	DBDA(CA) <sub>7</sub>	DBDACACACACACACACA	6	115	9.54	115/115	0.50	3	57.5
	(AC) <sub>8</sub> YG	ACACACACACACACACYG	8	214	17.74	160/214	0.50	5.33	80
	(GA) <sub>8</sub> YC	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	6	141	11.7	123/141	0.50	3	61.5
	(TCC) <sub>5</sub> RY	TCCTCCTCCTCCTCRY	13	289	23.96	253/289	0.46	14.08	116.4
	(GACA) <sub>4</sub> **	GACAGACAGACAGACA	8	192	15.92	156/192	0.49	5.33	76.44
		<b>Total</b>		48	1206	100	936/1206	2.93	34.83
	<b>Promedio</b>		8	201	16.7	156/201	0.49	5.81	75.8

fórmula (2) descrita por **Prevost y Wilkinson (1999)**, que se refiere a la correlación entre oligonucleótidos con habilidad para distinguir entre especies:

(2)

$$RP = \sum lb$$

Donde lb representa la información de la banda calculado mediante la fórmula (3):

(3)

$$lb = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

Donde p corresponde a la proporción de todos los genotipos que contienen a la banda l.

El índice del marcador (MI) determina la utilidad total de un marcador molecular, mide el equilibrio entre el polimorfismo detectado y la medida de polimorfismos múltiples en un ensayo (**Varshney et al., 2007; Arteaga Rios, 2017**).

(4)

$$MI = PIC \times (\# \text{ de bandas polimórficas})$$

Donde PIC es el contenido de información polimórfica, y el número de bandas polimórficas, las contenidas en el sistema RAPD o ISSR respectivamente.

## Resultados

### Descripción morfológica del nuevo genotipo

TIPO: CASV: MÉXICO. Estado de México, Valle de Bravo, municipio Ixtapan del Oro, San Martín Ocochitepec, 1702 m, 19°16'20.10"N, 100°15'21.10"O, selva baja caducifolia barranca, 20.I.2019, *J. C. Reyes Alemán 5* (holotipo: CODA-GEM!, isotipo: por distribuirse).

Árbol de crecimiento ascendente, 12-20 m de altura, alternancia productiva, longevo, 80 años o más, brotes



nuevos de color verde claro; hojas maduras forma oval u obovoide, densamente pubescentes, 16-20 cm de largo, 10-14 cm de ancho, sin olor a anís al estrujarse; hábito floral tipo A, raquis floral joven con lenticelas verdes, pubescencia interna de tépalos moderada a abundante, estilo corto pubescente, nectario sésil; fruto con exocarpio grueso, coriácea, corchosa, 1.2-2 mm de grosor, forma aperada o piriforme, cuello 11-16 cm de largo × 7 cm de diámetro, color de maduración púrpura a negro de la parte estilar al ápice, pulpa amarillo verdoso, consistencia acuosa o aceitosa, fibras conspicuas; semilla con débil adherencia de pulpa a la semilla, ovada, grande con relación al fruto (Fig. 2A,B).

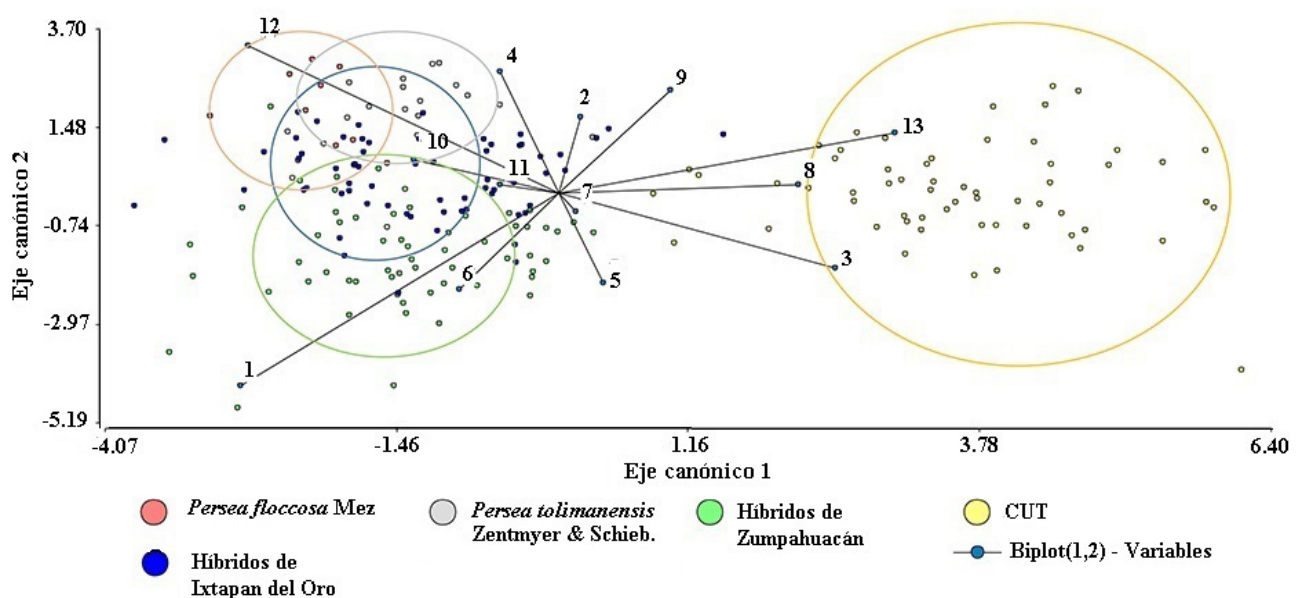
Fenología: florece en febrero y fructifica de marzo a abril, logra 11 a 12 meses de flor a fruto.

Distribución: se encuentra en zona de transición bosque mesófilo, bosque de *Pinus-Quercus*, selva baja caducifolia y pastizal, clima templado-semicálido, subhúmedo; 1700-2000 m.s.n.m., con topografía accidentada (Caballero-Martínez et al., 2009; Emeterio-Lara et al., 2016).

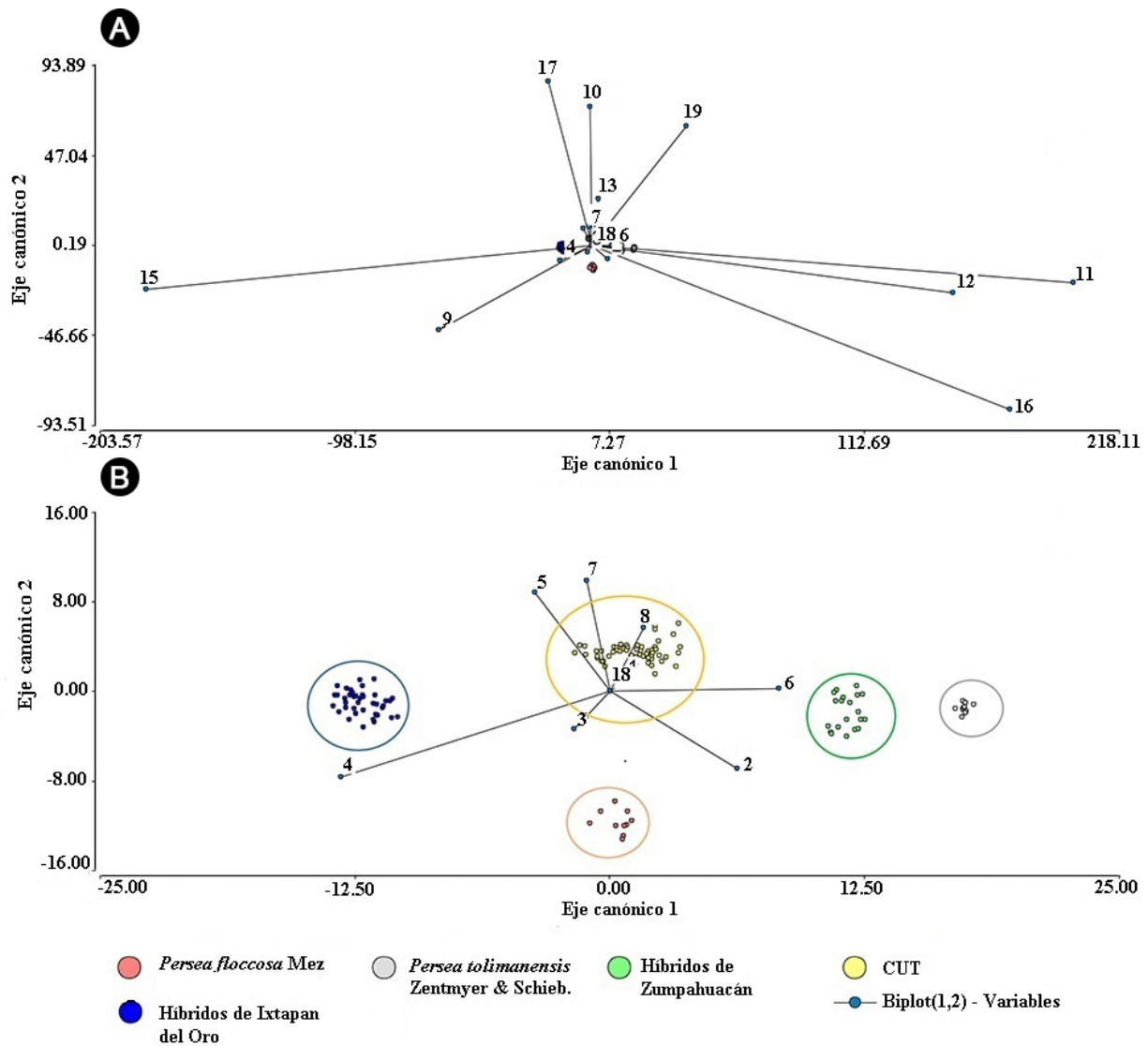
Vegetativamente las características discriminantes para la hoja del nuevo genotipo fueron mayor longitud,

forma ovada, borde ondulado, densidad de pubescencia en envés, semejante con *P. floccosa* y *P. tolimanensis*. Una mayor densidad de pubescencia distingue a *P. floccosa*, ondulación y relieve elevada de venas a *P. tolimanensis*. Por el contrario, *P. americana* var. *drymifolia* se distingue por su hoja angosta, lanceolada, glabra, con doblamiento del ápice y olor a anís (Fig. 3). El nuevo genotipo se distinguió por presentar el mayor tamaño de hoja, de 16 a 37.5 cm de longitud, con respecto a *P. americana* var. *drymifolia* (raza mexicana). También por presentar una densidad de tricomas (pubescencia) de media a densa y presencia de ondulación en el borde de la hoja, de débil a media, semejante a *P. tolimanensis* y *P. floccosa* (Fig. 3).

La variabilidad encontrada en la inflorescencia del nuevo genotipo destacó la presencia de pubescencia muy densa al interior del sépalo, pedicelo más largo, pétalo más ancho y mayor número de ramificaciones por inflorescencia (Fig. 4A, B). Por el contrario, en *P. americana* var. *drymifolia* predominó un menor número de flores por inflorescencia, pubescencia más escasa en pétalo y sépalo más angosto. Así mismo, la abundante floración del nuevo genotipo difiere de *P. floccosa* por presentar una mayor ramificación y número de flores y de *P. tolimanensis* por presentar un nectario más visible y mayor cantidad de polen.



**Figura 3:** Análisis discriminante de hoja de 22 genotipos con 13 variables y cinco agrupamientos, de acuerdo con las características previamente descritas en el Cuadro 2. CUT=Centro Universitario Tenancingo.



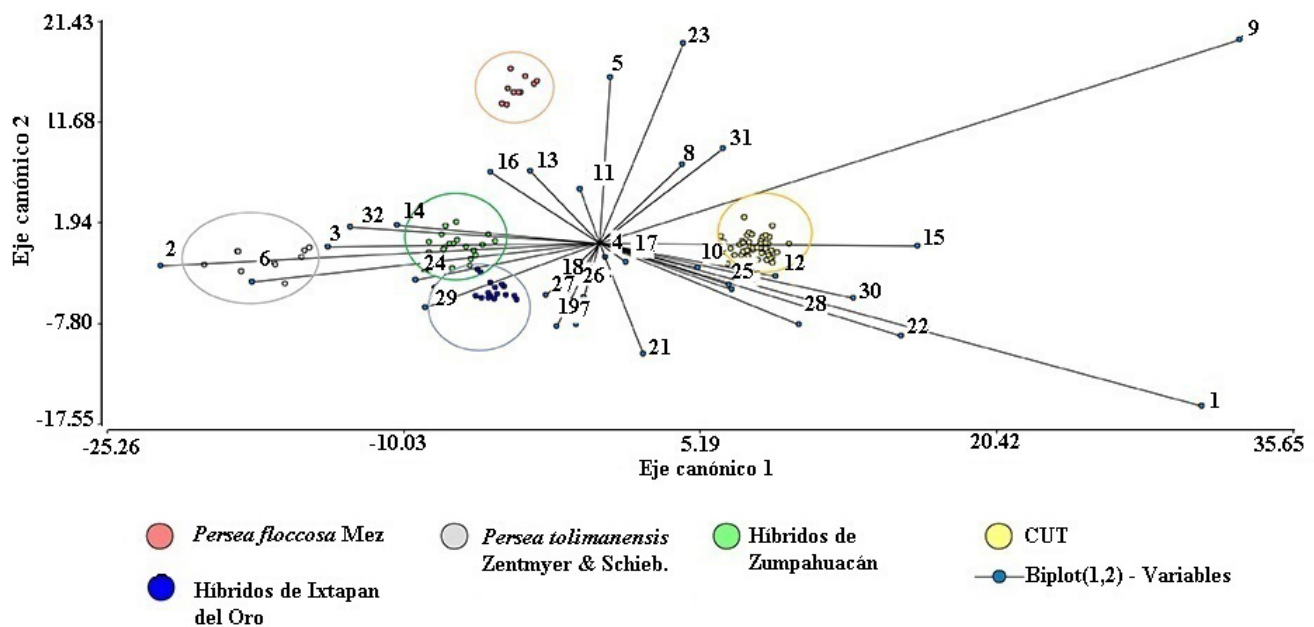
**Figura 4:** Análisis discriminante de inflorescencias de 14 genotipos con 19 variables y cinco agrupamientos de acuerdo con las características previamente descritas en el Cuadro 2. CUT=Centro Universitario Tenancingo.

En la localidad de Ixtapan del Oro la floración del nuevo genotipo presentó menos densidad de pubescencia de pétalo y una longitud de pedicelo más corta. En el caso de Zumpahuacán, el nuevo genotipo se caracterizó por mayor número de ramificaciones, pétalo más ancho y un nectario pedunculado. En todos los casos *P. americana* var. *drymifolia* se distinguió por tener menor número de flores por inflorescencia, sépalo más angosto y pubescencia del pétalo ausente (Fig. 4A). El nuevo genotipo de Zumpahuacán fue semejante con *P. tolimanensis*, en un estilo de flor más erecto, presencia de nectario, mucho más pubescencia y anchura de pétalo.

La distinción más importante del nuevo genotipo es su exocarpio de fruto grueso, de forma redonda a aplanada,

diámetro pronunciado, grandes lenticelas corchosas, pedicelo cabeza de clavo, pulpa pastosa adherida a la semilla y semilla grande (Fig. 5). *Persea tolimanensis* con la cual es semejante, se distingue por su fruto más redondo, achatado, exocarpio grueso, forma irregular, áspero, verde obscuro, de sabor amargo, exocarpio duro cuando madura, y su ramificación comienza en lo alto del tronco (Scora et al., 2002). En el caso del fruto de *Persea floccosa*, este es menos largo que ancho, lenticelas corchosas menos notorias, sus tallos tiernos y hojas son muy pubescentes y flocosas (Scora et al., 2002).

Los frutos del nuevo genotipo de Zumpahuacán fueron semejantes con *P. tolimanensis* en el grosor del exocarpio (0.9-2.2 mm) y diámetro del fruto (5.73 a 7.90 cm).



**Figura 5:** Análisis discriminante de fruto de 12 colectas con 32 variables y cinco agrupamientos de acuerdo con las características previamente descritas en el Cuadro 2. CUT=Centro Universitario Tenancingo.

Los de Ixtapan del Oro fueron distintos por la consistencia seca de su pulpa. En comparación, en *P. americana* var. *drymifolia* (CUT), en el que sobresale su longitud, posición central del pedicelo, depresión en su extremo peduncular, conspicuidad de lenticelas y fibras, brillantez, color de exocarpio negro a rojizo, delgado y pulpa con aroma a anís (Fig. 5).

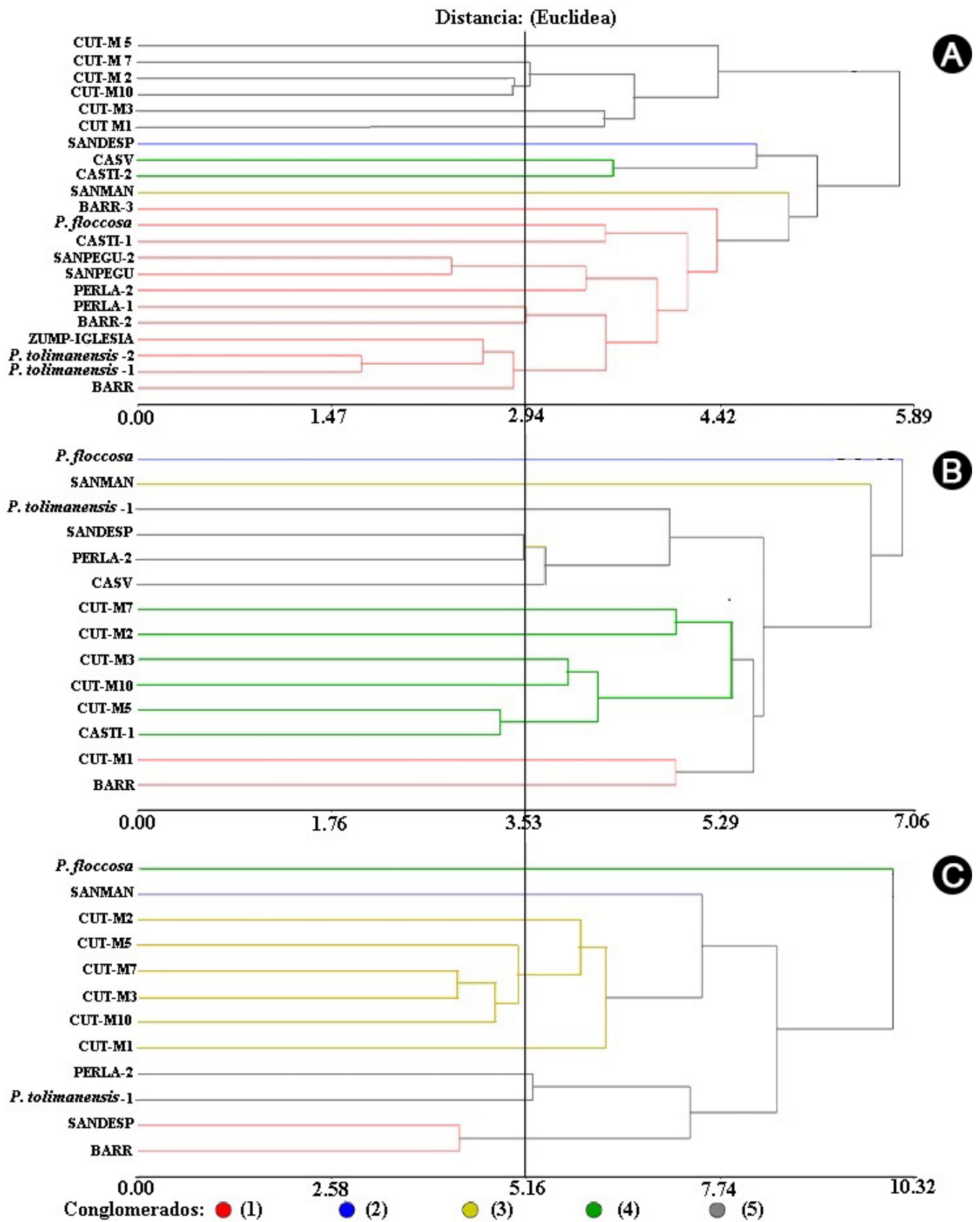
Con una distancia Euclídea de 2.92, 3.53 y 5.16 en hoja, flor y fruto, respectivamente (Fig. 6A), se distinguió que los genotipos de Zumpahuacán e Ixtapan del Oro tienen una hoja más grande, redonda y pubescente, excepto el genotipo SANMAN, en comparación con *P. americana* var. *drymifolia*. Este último se caracteriza por su típica hoja aguda, lanceolada y olor a anís. En floración, sobresale la mayor longitud de sépalos y pétalos en *P. tolimanensis* y *P. floccosa* que la raza mexicana. El genotipo de raza mexicana CUT-M1 sobresale en pubescencia de tépalos, al igual que BARR, SANMAN y *P. floccosa*. (Fig. 6B). En fruto, el genotipo SANMAN fue semejante, en forma aperada, lenticelas corchosas y cáscara verde en comparación con *P. floccosa*, siendo estas características típicas de este último. Los genotipos PERLA-2, SANDESP y BARR de Zumpahuacán son semejantes en grosor de exocarpio, redondez, lenticelas corchosas y consistencia de pulpa a *P. tolimanensis* (Fig. 6C).

### Caracterización molecular

El poder de resolución en RAPD fue de 64.64 y en ISSR de 34.83. Para el primero, cinco de ocho oligonucleótidos fueron los más informativos con 11.43 promedio individual, los tres menos informativos de 7.49 en conjunto, y la media colectiva fue de 8.08. En ISSR, tres de seis iniciadores sumaron 24.74 de RP, los menos informativos 10.08, y una media colectiva de 5.81. Solo la mitad fue contundentemente informativa. Lo anterior expresa un diagnóstico completo del perfil genético acorde con Gilbert et al. (1999).

El ADN utilizado tuvo un cociente fotométrico OD260/280, de 1.96 a 6.26 unidades, que es considerado de calidad de acuerdo con Riepl et al. (2011). Sus productos de PCR tuvieron un tamaño de 250 a 900 pb, 99% de polimorfismos y 1417 bandas en el sistema RAPD, y de 200 a 1000 pb con 917 bandas en ISSR. Los iniciadores que aportaron mejor Información Polimórfica (PIC) al sistema RAPD para la identificación molecular fueron A15, E18 y C13, con 0.36 a 0.50 de PIC. En tanto, (TCC)<sub>5</sub>RY y (AC)<sub>8</sub>YG, DBDA(CA)<sub>7</sub> y (GA)<sub>8</sub>YC lo hicieron en ISSR con 0.46 y 0.50, respectivamente. Mediante A15 y E16 de RAPD, se logró un poder de resolución (RP) de 64.64 puntos con variaciones de 1.33 a 16.33, respectivamente. En tanto con ISSR fue de 14.08 a 34.83 con (TCC)<sub>5</sub>RY, DBDA(CA)<sub>7</sub> y (GA)<sub>8</sub>YC, respectivamente.





**Figura 6:** Análisis de conglomerados delimitado por 5 agrupamientos: A. hoja; B. flor; C. Fruto, en 22, 14 y 12 colectas; basado en 13, 19 y 32 características, respectivamente descritas en el Cuadro 2. Acrónimos de acuerdo con el Cuadro 1.



## Relaciones genéticas y similitud entre colectas

Se generó un árbol filogenético mediante Jaccard (1908) y Neighbor-joining (Saitou y Nei, 1987) para RAPD. Se lograron cuatro agrupamientos del nuevo genotipo, distintos a *P. tolimanensis* y *P. floccosa*. Solo SANMAN, CASTI-1 y CASV fueron afines. Los grupos se relacionan con *P. americana* var. *drymifolia* (Fig. 7). Un segundo árbol mediante Jaccard (1908) y UPGMA (Sneath y Sokal, 1973) para ISSR confirmó separación entre el nuevo genotipo y *P. tolimanensis* y *P. floccosa* (Fig. 8).

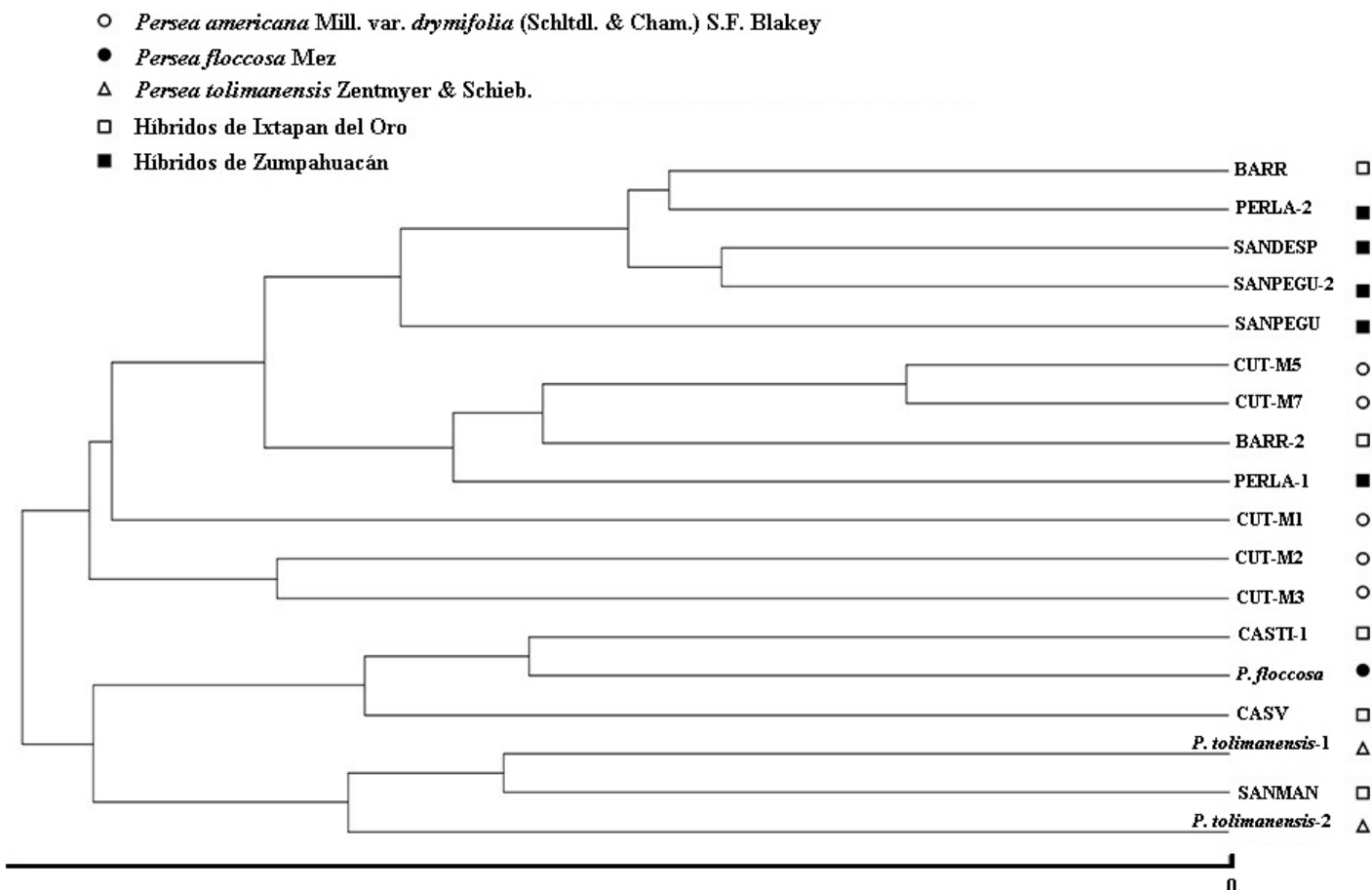
Con base en los marcadores utilizados, se sugiere hibridación del nuevo genotipo con *P. americana* var. *drymifolia*, y una relación directa con *P. tolimanensis* y *P. floccosa*, de seis individuos del nuevo genotipo: SANMAN, CASTI-1, CASV, BARR3, SANDESP y PERLA. RAPD, además de relacionar a *P. floccosa* y *P. tolimanensis* con seis individuos

del nuevo genotipo, sugiriendo hibridación de este con *P. americana* var. *drymifolia*.

ISSR separó a los nuevos genotipos y a tres ejemplares de *P. americana* var. *drymifolia*, de *P. floccosa* y de *P. tolimanensis*. (Fig. 8). La relación genética de CASTI-1, CASV, SANMAN, BARR3, SANDESP y PERLA con *P. floccosa* y *P. tolimanensis* mediante RAPD es coherente con la similitud morfológica.

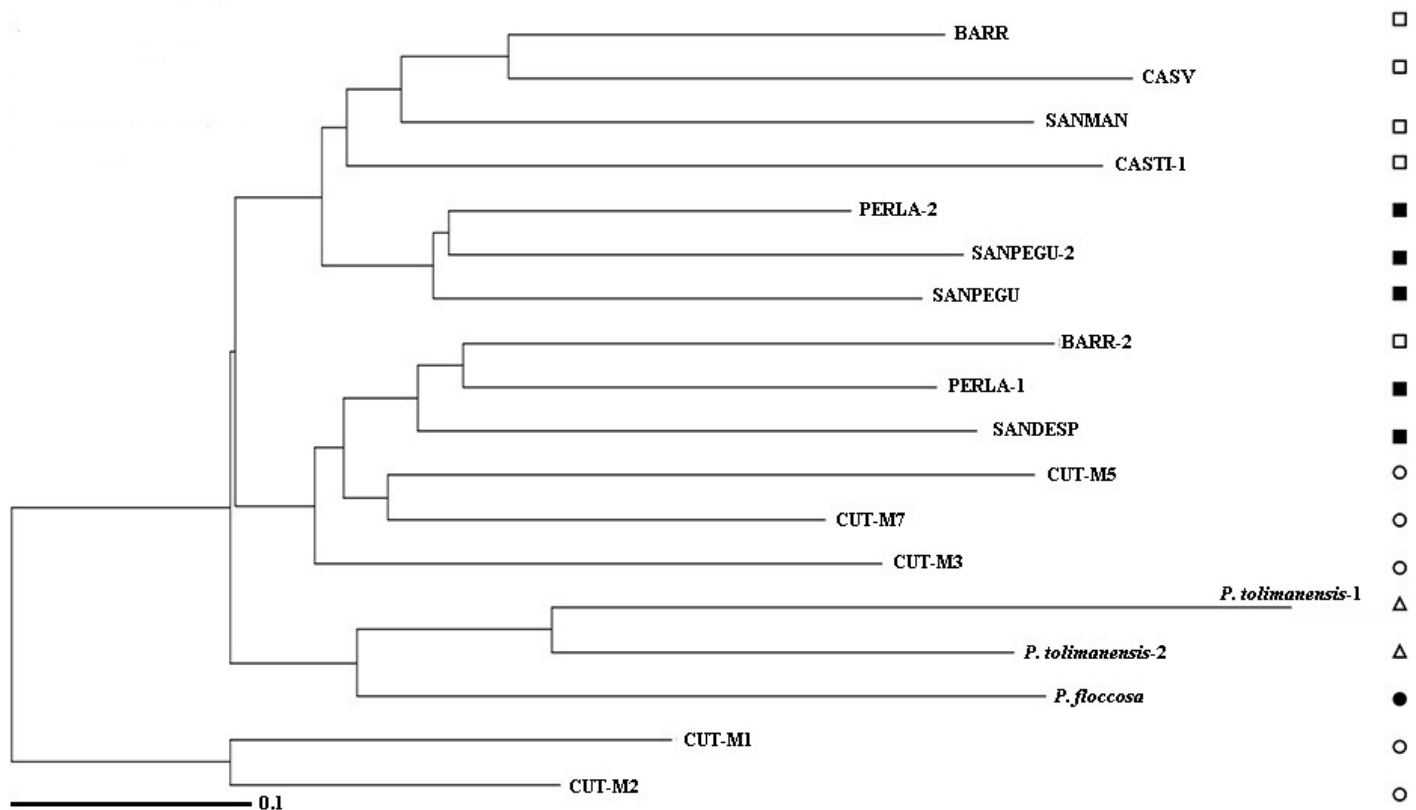
## Discusión

Vegetativamente los individuos del nuevo genotipo difieren de las especies de referencia. Sin embargo, sobresale en los individuos la densidad de pubescencia en envés de la hoja, tamaño mayor de hoja, ausencia de olor a anís con elevado relieve en venas, que son características semejantes a las presentes en *P. floccosa* y *P. tolimanensis*. El tipo y



**Figura 7:** Filograma de 18 colectas de *Persea* Mill. generado mediante ocho iniciadores RAPD: se utilizaron el índice Jaccard y el método Neighbor-joining con un bootstrap de 1000 repeticiones.

- *Persea americana* Mill. var. *drymifolia* (Schltdl. & Cham.) S.F. Blakey
- *Persea floccosa* Mez
- △ *Persea tolimanensis* Zentmyer & Schieb.
- Híbridos de Ixtapan del Oro
- Híbridos de Zumpahuacán



**Figura 8:** Filograma de 18 colectas de *Persea* Mill. generado mediante seis iniciadores ISSR: se utilizaron el índice Jaccard y el método UPGMA con un bootstrap de 1000 repeticiones.

densidad del indumento en hoja y estructuras reproductivas en Lauraceae delimita especies, siendo una característica constante, pero variable en *Persea*. Van der Werff (2002) cita ejemplos de especies variables en pubescencia: *Persea bullata* L.E. Kopp de Ecuador y *Persea boldufovia* Mez de Perú, con plantas glabras, moderadamente pubescentes y densamente pubescentes.

En floración los ejemplares del nuevo genotipo son variables, pero destaca su abundante floración, sépalo pubescente, pétalo ancho, mayor ramificación de inflorescencia y flores con pedicelo más largo, en comparación con *P. floccosa* y *P. tolimanensis*. Es distintivo que en *Persea* sus tépalos son iguales o desiguales, deciduos en fruto maduro, anteras cuadriloculares, glándula estipitada (nectario) en la base de los estambres de la tercera

hilera y pistilo pubescente (van der Werff, 2002). Sin embargo, su variación constituye criterio insuficiente para separar especies (van der Werff, 2002), por lo que este autor considera a las especies citadas solo formas botánicas de *P. americana*. El genotipo de estudio difiere de *P. americana* var. *drymifolia* tan solo por mayor pubescencia en pétalo, sépalo más ancho y más número de flores, carácter que limita sugerir una nueva especie.

En fruto se encontró variabilidad, pero sobre todo sobresale el exocarpo grueso, forma redonda a aplanada, lenticelas grandes, corchosas, semilla grande, pulpa con fibra y poca palatabilidad. Difiere de *P. tolimanensis* porque en este el fruto es más redondo, de sabor amargo, y de *P. floccosa*, debido a que en este su fruto es menos largo que ancho, lenticelas menos notorias con hojas más

pubescentes (Scora et al., 2002), pero semejantes en grosor de exocarpio. El grosor de exocarpio en *Persea* apoya la definición entre especies (Scora et al., 2002). *Persea floccosa* es considerado filogenéticamente afín a *P. americana*. var. *drymifolia* (Furnier et al., 1990), pero este último tiene exocarpio delgado de fruto, brillante, lenticelas conspicuas y pulpa de color verde con fibra, de acuerdo con el análisis discriminante (Fig. 5).

El nuevo genotipo presenta la siguiente combinación de caracteres: exocarpio grueso, hoja pubescente con olor a anís, algunos con fruto típico de raza mexicana y hoja ancha pubescente. Lo anterior intuye que solo hubo hibridación de *P. americana* var. *drymifolia*, como lo sugiere van der Werff (2002), y que sean solo variantes de *P. americana*.

La variabilidad de *P. americana* le confiere ser considerada especie polimórfica, afín con *Persea schiedeana* Nees, de pedicelos más cortos (8 mm de largo), hojas más angostas, brácteas de yemas, brotes y hojas uniformemente más pubescentes. *Persea americana* var. *drymifolia*, altamente distribuida en el centro de México (Damián-Nava et al., 2017), ha sido nombrada de distinta manera de acuerdo con van der Werff (2002) en su sinopsis de *Persea* (Lauraceae) en América central: *Persea americana* var. *angustifolia* Miranda, identificada en Puebla, México; *Persea drymifolia* Schltld. & Cham. 1, colectada en la cadena montañosa del centro y sur de México; *Persea gratissima* var. *drymifolia* (Schltld. & Cham.) Mez, identificada en Orizaba, Veracruz, México; *Persea edulis* Raf., relacionado con *Persea americana* Mill.; *Persea floccosa* Mez, identificada en México, Puebla; *Persea gigantea* L.O. Williams, identificada en Honduras; *Persea gratissima* C.F. Gaertn., relacionado con *Persea americana* Mill.; *Persea gratissima* var. *oblonga* Meisn., identificada en México, en Perú por Ruiz y Pavon, y en Brasil; *Persea gratissima* var. *praecox* Nees; *Persea gratissima* var. *macrophylla* Meisn.; *Persea leiogyne* Blake; *Persea nubigena* L.O. Williams; *Persea americana* var. *nubigena* (L.O. Williams) L.E. Kopp; *Persea paucitriplinervia* Lundell, y *Persea steyermarkii* C.K. Allen, como evidencia del polimorfismo de *P. americana*, y descrito a través del tiempo.

Algunos autores indican que *Persea* tienen poca combinación entre sus especies, no así al interior de cada una, y destaca el carácter monofilético del género como sugiere Rohwer et al. (2009), razón que justifica la hibridación observada dentro de *P. americana* var. *drymifolia* en el estudio. Por el contrario, basado en secuenciación de nucleótidos en *P. americana* var. *drymifolia*, reveló una baja recombinación genética de esta, pese a alogamia, pero exaltó a la mutación como una ruta para generar su diversidad (Chen et al., 2008). La var. *drymifolia* mostró desviación en el equilibrio Hardy-Weinberg y desequilibrio de ligamiento (Guzmán et al., 2017); es decir, la hibridación entre razas tiene dificultad, pero no así entre la misma raza, razón por la que la raza mexicana, o var. *drymifolia*, presenta gran variabilidad y fácilmente genera polimorfismos, como lo observamos en los genotipos de estudio.

Chen et al. (2008) analizaron genéticamente las variedades *drymifolia*, *guatemalensis* (*P. americana* var. *guatemalensis* (L.O. Williams) Scora) y *americana* (*P. americana* var. *americana*), conocidas como las razas mexicana, guatemalteca y antillana, respectivamente, y encontraron desequilibrio de ligamiento, contrario al analizarse por separado. Lo anterior apoya que la preservación genética y morfológica que el aguacate de estudio ha tenido, se debe a su confinamiento geográfico y a su poca atracción por parte del humano, lo que lo ha aislado por tiempo considerable y conducido a hibridación natural a partir de *P. americana*.

Con respecto a su semejanza con ciertas especies de *P. americana* y acorde con Ashworth y Clegg (2003), la hibridación del nuevo aguacate pudo haber iniciado muy recientemente, ya que tiene pocas diferencias genéticas y morfológicas. Por el contrario, la hibridación entre *P. americana* var. *drymifolia* y var. *guatemalensis* sucedió durante un periodo prolongado, según Williams (1977). Gama-Campillo y Gómez-Pompa (1992) definieron que *P. americana* aún es una especie semi-domesticada, en recombinación continua por intercambio constante de material genético, lo que sugiere que el nuevo aguacate es un híbrido de *Persea americana* var. *drymifolia* con *P. tolimanensis* o *P. floccosa*, aún sin evidencia de tratarse de una nueva especie.





El entrecruzamiento es común entre el género *Persea*, y ha sido fomentado por su hábito de reproducción cruzada conocida como dicogamia protogínica. Esta es responsable de la gran variabilidad y similitud entre especies que ha conducido a la hibridación natural del aguacate, ya que si bien las especies del género *Persea* poseen dificultades genéticas para cruzarse entre ellas, como se ha sustentado, no ha sido una limitante como se evidencia en este estudio. Las relaciones filogenéticas que guardan las especies del género *Persea* son evidentes, ya que en algún momento de su evolución se han relacionado, como argumenta [van der Werff \(2002\)](#), compartiendo un origen monofilético ([Rohwer et al., 2009](#)), solo se han separado y se han confinado debido a eventos climáticos, geográficos y/o evolutivos.

Un estudio reciente ha revelado que el germoplasma del aguacate colombiano no pertenece a ninguna de las tres razas clásicas de aguacate mesoamericano, si no a un nuevo acervo genético de *P. americana* exclusivo de la región andina y que no había sido reportado hasta la fecha. Este gran hallazgo fortalece la hipótesis de la hibridación natural. Los autores lo confirman como un nuevo linaje de aguacate que divergió a partir de la raza antillana durante el Pleistoceno, y refieren que está relacionado con dos antiguos grupos genéticos más antiguos que las clásicas razas reconocidas hasta el momento ([Berdugo-Cely et al., 2023](#)).

[Boza et al. \(2018\)](#) asumieron que existe una compleja mezcla interracial en el género *Persea*, de acuerdo con un estudio reciente de marcadores moleculares SSR realizado mediante 354 colectas de *P. americana*, *P. nubigena*, *P. krugii* Mez y *P. schiedeana*. Así mismo, el estudio reciente del genoma del aguacate mexicano (*Persea americana* var. *drymifolia*) ha revelado un ejemplo de profundas relaciones filogenéticas entre las angiospermas, y ha mostrado que existe una hibridación constante, así como la habilidad de adaptación del aguacate ante patógenos ([Rendón-Anaya et al., 2019](#)). Molecularmente se robusteció la descripción en *Persea*, como ha sido documentado por [Rodríguez-Medina et al. \(2009\)](#); [Rohwer et al. \(2009\)](#). Los marcadores RAPD e ISSR revelaron que existe gran variabilidad entre genotipos. Acorde con [Gilbert et al. \(1999\)](#), se infirieron relaciones genéticas importantes entre los genotipos de estudio, de

acuerdo con los filogramas obtenidos ([Figs. 7, 8](#)). Aunque también se sugiere que ha existido erosión genética entre los genotipos al haber generado pocos polimorfismos.

La caracterización molecular de los recursos genéticos del aguacate es tan importante, debido a que optimiza su utilización al identificar similitudes y variaciones desconocidas entre las colectas, que permite establecer colecciones de referencia y conduce a fomentar las tareas del mejoramiento genético del cultivo, como sugieren [Berdugo-Cely et al. \(2023\)](#). Si la tarea del mejoramiento pudiera ser llevada a cabo tomando como base genética a los genotipos nativos nuevos del centro de México, como los del presente estudio, eso sería el aporte de la presente investigación.

Los iniciadores utilizados reportaron arriba de 50% de polimorfismos obtenidos ([Cuadro 3](#)). En RAPD, E16 tuvo la contribución más alta al sistema (17.4%), y A15 la más baja (5.4%), siendo congruentes con el número de amplicones y bandas polimórficas obtenidas. El índice descriptivo PIC fue mayor de 0.25 en los ocho iniciadores. Esto indica que fueron altamente informativos, validando dicho sistema, donde C13, E18 y E16 tuvieron el contenido de información polimórfica más alto, aun cuando su porcentaje de contribución no fue el mayor. Por no detectar mayor número de bandas polimórficas, su valor discriminante fue alto y semejante a lo reportado por [Arteaga-Rios et al. \(2020\)](#).

En ISSR, la contribución mayor al sistema fue de (TCC)<sub>5</sub>RY (23.96%), y la más baja DBDA (CA)<sub>7</sub> (9.54%), siendo congruentes con su número de amplicones y polimorfismos reportados. El porcentaje de información polimórfica (PIC) en los seis iniciadores, al ser mayores de 0.25 y cercanos a 0.5, indican que fueron altamente informativos aun con un porcentaje de contribución menor, lo cual muestra que poseen un valor discriminante alto.

El poder de resolución (RP) en RAPD evidencia que los iniciadores E16, E18 y C08 lograron el valor más alto: 16.33, 10.08 y 14.08, respectivamente, congruente con el índice del marcador (IM) reportado: 131.3, 102.5 y 89.4 respectivamente. Sin embargo, debido a que RP se basa en el índice de información que ofrece cada una de las bandas (Ib) bajo una condición óptima hipotética (50% de los genotipos conteniendo una banda), e IM se basa en PIC, obtenido este de los valores reales. En ambos parámetros,



tanto en el poder de resolución (RP) como en el índice del marcador (IM), influye de forma directa el número de bandas polimórficas obtenidas. Por lo tanto, aunque el iniciador C13 obtuvo un PIC elevado, su RP e IM no fueron tan altos, comparado con E16 y E18. En ISSR se observó un comportamiento semejante, habiendo sido (TCC)<sub>5</sub>RY el iniciador que presentó el mayor número de polimorfismos obtenidos con un RP de 14.08, y un IM de 116.4. Los resultados fueron semejantes con lo reportado por Arteaga-Rios et al. (2020).

RAPD e ISSR separaron en dos grupos (Zumpahuacán e Ixtapan del Oro) a los ejemplares del nuevo tipo de aguacate; probablemente estos fueron desplazados durante el pasado, en el supuesto de la existencia de grupos geográficos, intactos, por altitud y latitud (Chen et al., 2009; Guzmán et al., 2017), o por afinidad filogenética con la especie que los originó, en este caso con *P. floccosa*, *P. tolimanensis* y *P. americana*. Se destaca la convivencia con el subgénero *Eriodaphne* acorde con Rohwer et al. (2009), puesto que convive con *P. cinerascens* y *P. hintonii* Allen. Se sugiere una composición genética afín entre colectas (Figs. 7, 8). En el supuesto de que una baja cantidad de individuos brinda un menor despliegue de bandas, hay más representatividad de los individuos contrastados, se representan todas las bandas posibles y se encuentran alelos poco frecuentes más fácilmente (Gilbert et al., 1999). Los ejemplares se separaron de las especies de referencia de forma congruente, por localidad (Figs. 7, 8).

Chanderbali et al. (2013) mencionaron que *P. americana*, distribuida en Mesoamérica, es una especie polimórfica con controversias taxonómicas, desde la clasificación de Kopp (1966). Popenoe (1935) indicó que todos los aguacates cultivados son formas hortícolas de *P. americana* y sus prototipos silvestres, formas geográficas, relacionados genéticamente (Fiedler et al., 1998). Mediante RFLP, Furnier et al. (1990) separaron a *P. nubigena*, *P. steyermarkii* y *P. floccosa* de *P. americana*, y concluyeron que son tan solo variantes. Ashworth y Clegg (2003) consideraron que las razas de *P. americana* se domesticaron por separado. Gama-Campillo y Gómez-Pompa (1992) mostraron evidencia de la introgresión racial desde culturas prehispánicas. El nuevo aguacate podría ser una forma silvestre con introgresión reciente de *P. americana*.

El aguacate fue domesticado por dos causas principales: la intervención humana y la hibridación natural (Gama-Campillo y Gómez-Pompa, 1992; Galindo-Tovar et al., 2007). En el primer caso se genera un cuello de botella donde solo las características de interés se seleccionan: tamaño de fruto, tiempo de maduración, sabor, etc. (Chen et al., 2008), excluyendo los caracteres poco atractivos. En el segundo caso se da paso al proceso de hibridación natural cuando el aguacate, como el de este estudio, es segregado al no ser atractivo.

## Conclusiones

El nuevo tipo de aguacate comparte hábitat con *Persea americana* var. *drymifolia* de quien procede, siendo un ejemplo de hibridación natural constante. Es relacionado morfológica y molecularmente con *P. tolimanensis* y *P. floccosa*, y podría considerarse variedad botánica nueva de *P. americana*, confirmando su carácter polimórfico.

## Contribución de autores

JCRA y JCJD concibieron y diseñaron el estudio, JGGD realizó los análisis; JMC, LMVG y EUS contribuyeron a la adquisición de datos y la interpretación, mientras que JCRA escribió el manuscrito con ayuda de JCJD. Todos los autores contribuyeron a la discusión, revisión y aprobación del manuscrito final.

## Financiamiento

Este estudio fue apoyado por el Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), a través de la beca al alumno de Maestría en Ciencias Juan Carlos Jaime Dávila con número de cuenta 1730687. Se tuvo el apoyo financiero de la Universidad Autónoma del Estado de México, a través de la Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados mediante el proyecto 4791/2019CIB “Selección y utilización de germoplasma de aguacate sobresaliente”.

## Agradecimientos

Se agradece a la Fundación Salvador Sánchez Colín-CIC-TAMEX S.C., por el material vegetal proporcionado para el presente estudio. Se agradece de manera particular el trabajo de corrección y sugerencias realizadas por el equipo editorial de la Revista Acta Botanica Mexicana.



## Literatura citada

- Arteaga-Rios, L. D., J. Mejía-Carranza, J. L. Piña-Escutia, J. G. González-Díaz y A. Rivera-Colín. 2020. Comparación molecular y morfológica entre ejemplares de *Magnolia mexicana* "Yoloxóchitl" (Magnoliaceae) del Estado de México y Veracruz. *Polibotánica* 49(25): 107-124. DOI: <https://doi.org/10.18387/polibotanica.49.7>
- Arteaga Rios, L. D. y J. C. Reyes Alemán. 2017. Análisis de cuatro marcadores RAPD en 41 accesiones de aguacate (*Persea* sp.). Repositorio institucional RI-Universidad Autónoma del Estado de México. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/68290> (consultado enero, 2024).
- Ashworth, V. E. T. M. y M. T. Clegg. 2003. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): genealogical relationships among cultivated avocado genotypes. *Journal of Heredity* 94(5): 407-415. DOI: <https://doi.org/10.1093/jhered/esg076>
- Balzarini, M. G., L. Gonzalez, M. Tablada, F. Casanoves, J. A. Di Rienzo y C. W. Robledo. 2008. Infostat: Manual del Usuario. Editorial Brujas. Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar> (consultado febrero, 2024).
- Barrientos-Priego, A. F., R. B. Muñoz-Pérez, J. C. Reyes-Alemán, M. W. Borys y M. T. Martínez-Damían. 2015. Taxonomía, cultivares y portainjertos. In: Téliz, D. y A. Mora (eds.). El aguacate y su manejo integrado. Editorial BBA. Cd. Mx., México. Pp. 29-60.
- Barrientos-Priego, A. F., J. C. Reyes-Alemán y J. J. Aguilar-Melchor. 2010. Manual gráfico para la descripción varietal de aguacate: Graphic handbook for the description of avocado varieties. Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas-Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Tlalnepantla, México. 136 pp. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/390817/MGDVAguate.pdf> (consultado febrero, 2024).
- Berdugo-Cely, J. A., A. J. Cortés, F. López-Hernández, P. Delgadillo-Durán, I. Cerón-Souza, P. H. Reyes-Herrera, A. Navas-Arboleda y R. Yockteng. 2023. Pleistocene-dated genomic divergence of avocado trees supports cryptic diversity in the Colombian germplasm. *Tree Genetics & Genomes* 19: 42. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-023-01616-8>
- Boza, E. J., C. L. Tondo, N. Ledesma, R. J. Campbell, J. Bost, R. J. Schnell y O. A. Gutiérrez. 2018. Genetic differentiation, races and interracial admixture in avocado (*Persea americana* Mill.), and *Persea* spp. evaluated using SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 65(4): 1195-1215. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-018-0608-7>
- Caballero-Martínez, L. A., I. V. Rivas-Manzano y L. I. Aguilera-Gómez. 2009. Hábitos alimentarios de *Anoura geoffroyi* (Chiroptera: Phyllostomidae) en Ixtapan del Oro, Estado de México, México. *Acta Zoológica Mexicana* 25(1): 161-175. DOI: <https://doi.org/10.21829/azm.2009.251609>
- Chanderbali, A. S., V. A. Albert, V. E. T. M. Ashworth, M. T. Clegg, R. E. Litz, D. E. Soltis y P. S. Soltis. 2008. *Persea americana* (avocado): bringing ancient flowers to fruit in the genomics era. *BioEssays* 30(4): 386-396. DOI: <https://doi.org/10.1002/bies.20721>
- Chanderbali, A. S., D. E. Soltis, P. S. Soltis y B. N. Wolstenholme. 2013. Taxonomy and botany. In: Schaffer, B., B. N. Wolstenholme y A. W. Whiley (eds.). The avocado: botany, production and uses. Editorial CAB International, 2th. ed. Wallingford, UK. Pp. 31-50. DOI: <https://dx.doi.org/10.1079/9781845937010.0031>
- Chen, H., P. L. Morrell, V. E. T. M. Ashworth, M. de la Cruz y M. T. Clegg. 2009. Tracing the geographic origins of major avocado cultivars. *Journal of Heredity* 100(1): 56-65. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jhered/esn068>
- Chen, H., P. L. Morrell, M. de la Cruz y M. T. Clegg. 2008. Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in wild avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Heredity* 99(4): 382-389. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jhered/esn016>
- Clegg, M. T., M. Kobayashi y J. Z. Lin. 1999. The use of molecular markers in the management of avocado (*Persea americana* Mill.). *Revista Chapingo, Serie Horticultura* 5: 227-231.
- Damián-Nava, A., F. Palemón-Alberto, J. Moreno-Juárez, E. Hernández-Castro, P. E. Damián-Díaz, D. Vargas-Álvarez, G. Díaz-Villaseñor, O. G. Villegas-Torres y G. Reyes-García. 2017. Characterization of creole avocado fruits harvested from both central and northern regions of Guerrero, Mexico. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 4(10): 151-159. DOI: <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.10.020>
- Davis, J., D. Henderson, M. Kobayashi y M. T. Clegg. 1998. Genealogical relationships among cultivated avocado as revealed through RFLP analyses. *Journal of Heredity* 89(4): 319-323. DOI: <https://doi.org/10.1093/jhered/89.4.319>



- Dí Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C. W. Robledo. 2017. InfoStat vers. 2017. Grupo InfoStat. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar> (consultado febrero, 2024).
- Emeterio-Lara, A., V. Palma-Linares, L. M. Vázquez-García y J. Mejía-Carranza. 2016. Usos y comercialización de orquídeas silvestres en la región sur del Estado de México. *Polibotánica* 42: 197-214. DOI: <http://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.42.10>
- Fiedler, J., G. Bufler y F. Bangerth. 1998. Genetic relationships of avocado (*Persea americana* Mill.) using RAPD markers. *Euphytica* 101(2): 249-255. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1018321928400>
- Furnier, G. R., M. P. Cummings y M. T. Clegg. 1990. Evolution of the avocados as revealed by DNA restriction fragment variation. *Journal of Heredity* 81(3): 183-188. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a110963>
- Galindo-Tovar, M. E., A. M. Arzate-Fernández, N. Ogata-Aguilar y I. Landero-Torres. 2007. The avocado (*Persea americana*, Lauraceae) crop in Mesoamerica: 10,000 years of history. *Harvard Papers in Botany* 12(2): 325-335. DOI: [https://doi.org/10.3100/1043-4534\(2007\)12\[325:TAPALC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.3100/1043-4534(2007)12[325:TAPALC]2.0.CO;2)
- Gama-Campillo, L. y A. Gómez-Pompa. 1992. An ethnoecological approach for the study of *Persea*: A case study in the Maya area. *Proceedings of Second World Avocado Congress II*, California, US. Pp. 11-17. [http://avocadosource.com/WAC2/WAC2\\_p011.pdf](http://avocadosource.com/WAC2/WAC2_p011.pdf) (consultado febrero, 2024).
- Gilbert, J. E., R. V. Lewis, M. J. Wilkinson y P. D. S. Caligari. 1999. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 1125-1131. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001220051176>
- Guzmán, L. F., R. Machida-Hirano, E. Borrayo, M. Cortés-Cruz, M. del C. Espíndola-Barquera y E. Heredia García. 2017. Genetic structure and selection of a core collection for long term conservation of avocado in Mexico. *Frontiers in Plant Science* 8(243): 1-10. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00243>
- INEGI. 2010. Marco Geo estadístico Municipal 2010. V. 5.0. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). <https://www.inegi.org.mx/app/mapas/> (consultado febrero, 2024).
- IPGRI. 1995. Descriptor for avocado (*Persea* spp.). International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). Italy, Rome. 52 pp. [http://avocadosource.com/papers/misc/ipgri\\_1995.pdf](http://avocadosource.com/papers/misc/ipgri_1995.pdf) (consultado febrero, 2024).
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles* 44(163): 223-270. DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-268384>
- Jaime-Dávila, J. C. 2020. Caracterización morfológica y molecular de poblaciones de aguacate cascarudo. Tesis de maestría en ciencias. Centro Universitario Tenancingo, Universidad Autónoma del Estado de México. Tenancingo, México. 124 pp. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/109345> (consultado febrero, 2024).
- Johnson, D. E. 2000. Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. Internacional Thomson Editores. Cd. Mx. México. 565 pp. [https://www.academia.edu/75272501/M%C3%A9todos\\_multivariados\\_aplicados\\_al\\_an%C3%A1lisis\\_de\\_datos](https://www.academia.edu/75272501/M%C3%A9todos_multivariados_aplicados_al_an%C3%A1lisis_de_datos) (consultado febrero, 2024).
- Kopp, L. E. 1966. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the western hemisphere (*Persea*-Lauraceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 14(1): 1-120.
- Page, R. D. M. 2001. TreeView ver. 1.6.6. Scotland, UK.
- Pavliček, A., Š. Hrdá y J. Flegr. 1999. FreeTree-freeware program for construction of phylogenetic trees on the bases of distance data and bootstrap Jackknife analysis of the tree robustness: Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. *Folia Biologica* 45: 97-99. <https://web.natur.cuni.cz/~flegr/pdf/FL14-freetree.pdf> (consultado febrero, 2024).
- Popenoe, W. 1935. Origin of the cultivated races of avocados. *California Avocado Association Yearbook* 20: 184-94.
- Prevost, A. y M. J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 98(1): 107-112. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001220051046>
- QGIS Development Team. 2023. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org> (consultado febrero, 2024).
- Rendón-Anaya, M., E. Ibarra-Laclette, A. Méndez-Bravo, T. Lan, C. Zhengf, L. Carretero-Paulet, C. A. Pérez-Torres, A. Chacón-López, G. Hernández-Guzmán, T. H. Chang, K. M. Farr, W. B. Barbazuk, S. Chamala, M. Mutwil, D. Shivhare, D. Álvarez-



- Ponce, N. Mitter, A. Hayward, S. Fletcher, J. Rozas, A. Sánchez-Gracia, D. Kuhn, A. F. Barrientos-Priego, J. Salojärvi, P. Librado, D. Sankoff, A. Herrera-Estrella, V. A. Albert y L. Herrera-Estrella. 2019. The avocado genome informs deep angiosperm phylogeny, highlights introgressive hybridization, and reveals pathogen-influenced gene space adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116(34): 17081-17089. DOI: <https://doi.org/10.1073/PNAS.1822129116>
- Rentaría-Alcántara, M. 2007. Breve revisión de los marcadores moleculares. In: Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre (comps.). *Ecología molecular*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), Instituto Nacional de Ecología (INE), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Cd. Mx., México. Pp. 541-566. <https://hopelchen.tecnm.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r119349.PDF> (consultado febrero, 2024).
- Reyes-Alemán, J. C., E. Valadez-Moctezuma y A. F. Barrientos-Priego. 2016. Assessment of genetic relationship in *Persea* spp. by traditional molecular markers. *Genetics and Molecular Research* 15(59): 1-11. DOI: <http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15027359>
- Reyes-Alemán, J. C., E. Valadez-Moctezuma, L. Simuta-Velázco, A. Barrientos-Priego y C. Gallegos-Vázquez. 2013. Distinción de especies del género *Persea* mediante RAPD e ISSR de ADN. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4(4): 503-516. DOI: <https://doi.org/10.29312/remexca.v4i4.1185>
- Riepl, M., H. Graehl, H. Funk, A. Gawanbacht, E. Klopockiy R. Kartha. 2011. The nanophotometer™ Pearl - Comparison of the performance characteristics of the New Nanophotometer™ Pearl and the nanodrop 2000c. Application note IMPLN 1-3. <http://ww1.prweb.com/prfiles/2011/02/21/569654/NanoPhotometerPearlNanoDrop.pdf> (consultado febrero, 2024).
- Rodríguez Medina, N. N., J. L. Fuentes-Lorenzo, O. Coto Arbelo, V. R. Fuentes Fiallo, I. M. Ramírez Pérez, D. Becker, I. Rodríguez García, C. González Arencibia, X. Xiqués Martín, M. I. Román Gutiérrez, B. Velázquez-Palenzuela y W. Rohde. 2009. Agro-morphologic traits, isoenzyme and DNA markers for estimating the polymorphism levels, discriminating capacity and informativeness in avocado. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 40(1): 63-74. <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181221574012.pdf> (consultado febrero, 2024).
- Rohwer, J. G., J. Li, Barbara Rudolph, S. A. Schmidt, H. van der Werff y H. W. Li. 2009. Is *Persea* (Lauraceae) monophyletic? Evidence from nuclear ribosomal ITS sequences. *Taxon* 58(4): 1153-1167. DOI: <https://doi.org/10.1002/tax.584009>
- Roldán-Ruiz, I., J. Dendauw, E. Van Bockstaele, A. Depicker y M. De Loose. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular Breeding* 6: 125-134. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1009680614564>
- Saitou, N. y M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4): 406-425. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Schieber, E. y G. A. Zentmyer. 1972. Exploring for *Persea* in Latin America. *Proceedings of 1st. International Tropical Fruit Short Course. The Avocado*. University of Florida. USA. Pp. 16-20. [http://209.143.153.251/CAS\\_Yearbooks/CAS\\_62\\_1978/CAS1978\\_PG\\_60-66.pdf](http://209.143.153.251/CAS_Yearbooks/CAS_62_1978/CAS1978_PG_60-66.pdf) (consultado febrero, 2024).
- Schieber, E. y G. A. Zentmyer. 1981. Exploring for the "Aguacate de Mico" in Central America. *California Avocado Society Yearbook* 65: 49-55. [http://www.avocadosource.com/cas\\_yearbooks/cas\\_65\\_1981/cas\\_1981\\_049.pdf](http://www.avocadosource.com/cas_yearbooks/cas_65_1981/cas_1981_049.pdf) (consultado febrero, 2024).
- Schroeder, C. A. 1951. Avocado material for horticultural research. *California Avocado Society Yearbook* 36: 107-112. [http://www.avocadosource.com/CAS\\_Yearbooks/CAS\\_36\\_1951/CAS\\_1951\\_PG\\_107-112.pdf](http://www.avocadosource.com/CAS_Yearbooks/CAS_36_1951/CAS_1951_PG_107-112.pdf) (consultado febrero, 2024).
- Scora, R. W., B. N. Wolstenholme y U. Lavi. 2002. Taxonomy and Botany. In: Whiley, A. W., B. Schaffer y B. N. Wolstenholme (eds.). *The Avocado: Botany, production and uses*. Editorial CAB International. Wallingford, UK. Pp. 15-37. DOI: <https://doi.org/10.1079/9780851993577.0015>
- Sneath, P. H. y R. R. Sokal. 1973. Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification. Editorial W. H. Freeman and Company. San Francisco, USA. 573 pp. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19730310919> (consultado febrero, 2024).
- Thiers, B. 2024. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. New York, USA. <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/> (consultado febrero, 2024).



- UPOV. 2006. DRAFT. Avocado (*Persea americana* Mill.) Guidelines for the conduct of test distinctness, uniformity and stability. International Union for the Protection of New Varieties of Plants, Enlarged Editorial Committee. Geneva, Switzerland. 34 pp. [https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/tc\\_edc/2006/tg\\_97\\_4\\_proj.5\\_e.pdf](https://www.upov.int/edocs/mdocs/upov/en/tc_edc/2006/tg_97_4_proj.5_e.pdf) (consultado febrero, 2024).
- van der Werff, H. 2002. A synopsis of *Persea* (Lauraceae) in Central America. *Novon* 12(4): 575-586. DOI: <https://doi.org/10.2307/3393142>
- Varshney, R. K., K. Chabane, P. S. Hendre, R. K. Aggarwal y A. Graner. 2007. Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Science* 173(6): 638-649. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.08.010>
- Williams, L. O. 1977. The avocados, a synopsis of the genus *Persea*, subgenus *Persea*. *Economic Botany* 31(3): 315-320. DOI: <https://www.jstor.org/stable/4253853> (consultado febrero, 2024).

## Material suplementario

**Material suplementario 1:** matriz básica de datos de hoja.

**Material suplementario 2:** matriz básica de datos de flor.

**Material suplementario 3:** matriz básica de datos de fruto.

