

DIVERSIDAD GENÉTICA DE AGUACATE CRIOLLO DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN ESTIMADA POR MARCADORES MOLECULARES

Ana Paulina Rodríguez-Vera

INIFAP Campo Experimental Bajío
Guanajuato, México

Gonzalo Hernández-García

INIFAP Campo Experimental Edzná
Campeche, México

Raúl Díaz-Plaza

INIFAP Campo Experimental Mocochoá
Yucatán, México

Roberto Canales-Cruz

Campo Experimental Edzná
Campeche, México

Raymundo Javier Nava-Padilla

Campo Experimental Chetumal
Quintana Roo, México

Victor Montero-Tavera

INIFAP Campo Experimental Bajío
Guanajuato, México

All content in this magazine is licensed under a Creative Commons Attribution License. Attribution-Non-Commercial-Non-Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).



Resumen: El aguacate (*Persea americana*) es muy importante en México, ya que es el principal productor y exportador de este fruto, con plantaciones en casi todos los estados. El mercado está dominado solo por la variedad Hass y se ha descuidado el estudio de sus recursos genéticos, los cuales incluyen variedades locales, criollos y silvestres que representan un amplio potencial para su uso y conservación. El objetivo fue determinar la diversidad genética de aguacate criollo de la península de Yucatán mediante Intersecuencias Simples Repetidas de ADN. Se estudiaron individuos de los estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán suponiendo que las tres poblaciones están aisladas geográficamente. La mayor diversidad genética se encontró en Yucatán con una Heterocigosidad (Hj) de 0.32, seguido de Campeche y Quintana Roo con valores de 0.30 y 0.26, respectivamente. El Porcentaje de Alelos Polimórficos tuvo una distribución similar con valores de 93.3, 90.9 y 88.2, en el mismo orden. El Porcentaje de Fragmentos Segregantes fue mayor a 98% en los tres estados. El marcador ISSR que estimó la mayor Heterocigosidad fue (CT)₇RC con 0.369 y el de estimación más baja fue (GACA)₄ con 0.227. Aunque en Yucatán se cultiva una superficie pequeña de aguacate, los rendimientos son los más altos del país, por lo tanto, se debe estudiar con mayor profundidad el papel de su amplia diversidad genética en la producción de frutos y su correlación con factores climáticos y geográficos.

Palabras-clave: diversidad genética, heterocigosidad, marcadores ISSR, *Persea americana*, polimorfismo

INTRODUCCIÓN

La sociedad mexicana tiene una amplia cultura en el cultivo de aguacate por el mercado internacional que representa, además de ser el primer consumidor con 10.7 kg *per capita* en 2023 (SIAP, 2023). México se encuentra entre los 15 países mayores productores con 252 mil hectáreas en 28 estados y producción anual de 2.5 millones de toneladas. Con exportaciones de 1.03 millones de toneladas y rendimiento promedio de 10.8 t ha⁻¹ (SIAP, 2024).

Se reportan plantaciones comerciales en casi todas las entidades del país. Actualmente el fruto de aguacate se utiliza para la fabricación de aceite por contener alto contenido de grasas; en la industria de los cosméticos y productos farmacéuticos ha alcanzado un alto nivel de popularidad y es un mercado que está creciendo en comparación con el aceite de oliva.

Los recursos genéticos del aguacate son una fuente única de genes que pueden utilizarse para el mejoramiento genético de cultivares, portainjertos e interinjertos. Estos recursos han estado desapareciendo muy rápido durante las últimas dos o tres décadas (Ben-Yáacov *et al.*, 1992) debido a factores como conversión de tierras forestales en zonas de agricultura y ganadería, aprovechamientos forestales sin control, enfermedades fitopatógenas, sequías e incendios, crecimiento poblacional, desarrollo urbano, desplazamiento de variedades con mejores perspectivas de mercado, transformación y variación.

La región peninsular se encuentra dentro de las 23 regiones con potencial para el cultivo de aguacate, sin embargo, la comercialización depende solo de la variedad Hass. Aunque la superficie dedicada al aguacate es reducida (84.5 ha en Campeche y 602.4 ha en Yucatán), el consumo y comercialización de aguacate de cultivares criollos es fuerte, además Yucatán reporta el mayor rendimiento a nivel nacional (24.6 t ha⁻¹), el cual es alto considerando el rendimiento promedio de Michoacán (11.0 t

ha⁻¹), que es el estado con mayor producción nacional (SIAP, 2024).

La producción del aguacate en la Península de Yucatán, carece de orden y organización, su producción se encuentra dispersa en pequeñas superficies en huertos de los traspacios de los productores sin que exista una representación para su comercialización. También existe un desconocimiento de sus características morfológicas y taxonómicas por la gran variedad de cultivares que existen en esta región. Sin embargo, a nivel regional, nacional e internacional ha habido una constante pérdida de especies silvestres y criollas por el desplazamiento a que se han visto sometidas por variedades mejoradas con mayor potencial comercial como el Hass.

En esta región existe confusión de la ubicación taxonómica y diversidad genética de especies, razas y variedades de aguacate, debido al alto grado de hibridación que se ha dado entre cultivares. Su descripción se ha basado en caracteres morfológicos, sin embargo, esta forma de clasificación es limitada porque esas características dependen ampliamente de factores ambientales. El uso de marcadores moleculares de ADN permite una descripción más precisa y confiable, entre ellos algunos de los más confiables son las Intersecuencias Simples Repetidas o ISSR.

Las ISSR son marcadores de ADN que se derivan de los Microsatélites usándolos como iniciadores y con la adición de uno a tres nucleótidos, que pueden ser degenerados o no, como ancla. Estas secuencias son abundantes en el genoma de las plantas y su frecuencia varía entre especies e individuos. Son marcadores moleculares de preferencia sobre otros marcadores genéticos como los AFLPs, RAPDs, y RFLPs, debido a su alto grado de polimorfismo. Son específicos para ciertos grupos de especies, por lo que permite hacer estudios comparativos entre especies o géneros de un mismo grupo.

El objetivo fue determinar por medio de marcadores moleculares la diversidad genética de colectas representativas de aguacates criollos de los estados de Campeche, Quintana Roo y Yucatán. Los resultados permitirán reproducir en vivero plantas vía sexual por semilla con caracteres genéticos similares y conocimiento de origen, con las cuales es posible establecer bancos de conservación de germoplasma de las diferentes variedades regionales, que se podrán usar como patrones y para selección clonal de varetas para injertos demandados por los productores.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL

Se colectaron hojas de diversos cultivares, incluyendo especies, razas, variedades y tipos criollos con características deseables para la producción y comercialización de Persea en los siguientes estados, localidades y número de árboles: Campeche 22 localidades: Castamay (5), Cayal (8), Escdivn (2), Xcapeo (3), Armolollita (22), Cakxp (11), Canln (2), Canma (5), Cansam (2), Scha(1), Schr (1), Scsm (1), Can mh (3), Car 18m (3), Car mt (5), Can sr (2), Can rs (1), Can ln 01 2°R (2), Can nr (1), car mp 02 (1), esc tor 02 (1) y car np 01 (1); Quintana Roo 18 localidades: San Felipe Bacalar (9), Reforma (2), Chunchuhub (1), Kancabchen (2), Cafetal grande (1), Cafetalito (4), Benito Juárez (1), José María Morelos (1), Xul-Ha (4), Juan Sarabia (2), Chetumal (5), Tulum (10), Playa Leona Vicario (2), Playa Agua Azul (1), Playa Tres Marías (1), Playa San Lorenzo (1), Playa Delirios (1), Playa Kilómetro 102 (1); Yucatán se colectó por variedades considerando 19 representativas.

EXTRACCIÓN DE ADN

El ADN genómico se aisló con el método de Doyle y Doyle (1990), las muestras de tejido foliar se molieron en un mortero de porcelana con ayuda de nitrógeno líquido. El tejido ya molido se depositó en un tubo eppendorf de 1.5 mL al cual se le agregaron 600 μ L de amortiguador de extracción CTAB, posteriormente se siguió el procedimiento recomendado por el autor de la técnica. La concentración de ADN se cuantificó en un espectrofotómetro Nanodrop 8000[®] y se estandarizó a 30 ng μ L⁻¹. La calidad del ADN se verificó por la relación espectrofotométrica 260/280, por electroforesis en gel de agarosa al 1% y por amplificación del gen ribosómico 26S de acuerdo con Montero-Tavera *et al.* (2017). Los fragmentos amplificados se visualizaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% teñidos con Gel Red 1X.

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA POR MARCADORES MOLECULARES ISSR

El ADN obtenido de la manera descrita se usó como templado para las reacciones de PCR usando los siguientes iniciadores: ISSR1 = HVH(CA)₇T, ISSR2 = (CT)₇RC, ISSR3 = (AG)₈G, ISSR4 = (CA)₈A, ISSR5 = (GA)₈C, ISSR8 = (AG)₈YC, ISSR9 = (AC)₈YC, ISSR10 = (GACA)₄, ISSR11 = (GA)₈YC. Como control de la amplificabilidad del ADN se usaron los iniciadores 26SF GCTCACGTTCCCTATTGGTG y 26SR CGTGGCCTATCGATCCTTTA que amplifican un fragmento del gen ribosómico constitutivo 26S. La amplificación de ADN de todos los materiales con los diez marcadores moleculares se realizó mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en volumen de 20 μ L. Las reacciones de PCR incluyeron amortiguador 10X, (2.0 μ L), MgCl₂ 50X (1.0 μ L), dNTP's 2.5Mm (2.0 μ L), iniciador 5 μ m (4 μ L), Taq polimerasa 1 U (0.2 μ L), ADN 90 ng/ μ l (3.0 μ L) y agua desionizada (7.8 μ L).

El programa de amplificación se aplicó de la siguiente manera: desnaturalización inicial de 94°C por 3 min; 18 ciclos a 94°C por 20 seg, touchdown de 0.5°C comenzando en 50°C y 72°C por 50 seg; seguido de 20 ciclos a 94°C por 20 seg, alineamiento a 60°C por 50 seg y 72°C por 50 seg; finalmente una extensión a 72°C por 7 min.

Los fragmentos amplificados se separaron por electroforesis en geles de acrilamida al 8% con amortiguador TBE 1X (EDTA 1 mM pH 8, ácido bórico 40 mM y Tris 40 mM) aplicando un campo eléctrico de 250 V. Las bandas resultantes se visualizaron con luz ultravioleta en el transiluminador UPC[®] y se documentaron fotográficamente con el equipo Gel Logic 112 y el software Molecular Imaging v5 (Carestream, WoodBridge, CT, USA). La identificación de cada fragmento se hizo basándose en su tamaño estimado en pares de bases con el marcador de referencia 1kb Plus.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los productos amplificados se consideraron como alelos y con ellos se construyó una matriz binaria de presencia/ausencia de fragmentos identificados. Con estas bandas se procedió al cálculo de la distancia genética entre variedades mediante el coeficiente de Nei y Li (1979). Con los resultados de distancias genéticas entre cada par de genotipos se obtuvo una matriz triangular de distancias, la cual se utilizó como entrada para llevar a cabo el análisis de agrupamiento aplicando el algoritmo SAHN (Sequential agglomerative hierarchical non-overlapping), el método de agrupamiento fue UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean). Este análisis permitió obtener un dendrograma para mostrar gráficamente las relaciones genéticas de acuerdo a los grupos de similitud empleando el paquete estadístico NTSYS (Numerical Taxonomy System for personal Computer, versión 2.02 PC, Rohlf

(2000)). Además, se determinó el Contenido de Información Polimórfica (PIC) para identificar los SSRs que mejor representan cada población y genotipo. Los principales parámetros de diversidad genética con un nivel de confianza de 95% se estimaron con el programa AFLP_surv (Vekemans, X. (2002) y fueron el porcentaje de loci polimórficos (PLP), la Heterocigosidad insesgada (Hj), porcentaje de fragmentos segregantes (PFS), número de loci polimórficos (NLP), error estándar (ES) y componentes de varianza entre loci y entre individuos. El método de cálculo de las frecuencias alélicas fue Bayesiano con distribución previa no uniforme, con valor predefinido de F_{IS} (0.0 asumiendo un equilibrio de Hardy-Weinberg) igual a 0.000. Para el cálculo de las distancias genéticas se emplearon 500 ciclos de bootstrap.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

EXTRACCIÓN DE ADN Y AMPLIFICACIÓN DE MARCADORES ISSR

La extracción del ADN genómico a partir de tejido foliar de aguacate deshidratado con silica gel dio como resultado un ADN de alta calidad (Figura 1a) con una banda de alto peso molecular, no degradado y con pureza de 1.6 a 1.8 de acuerdo con la relación de absorción 260nm/280nm. La amplificabilidad de las muestras se demostró por la amplificación de un fragmento de aproximadamente 200 pares de bases del gen ribosómico constitutivo 26S (Figura 1b), La Figura 1c, 1d y 1e muestran ejemplos típicos de productos de amplificación, uno por cada estado. En las fotografías de la Figura 1 donde no se observan fragmentos de ADN, así como en todos los casos durante el desarrollo de esta investigación, el proceso se repitió (extracción de ADN o amplificación, según el caso) hasta optimizar la calidad, concentración y amplificabilidad del ADN.

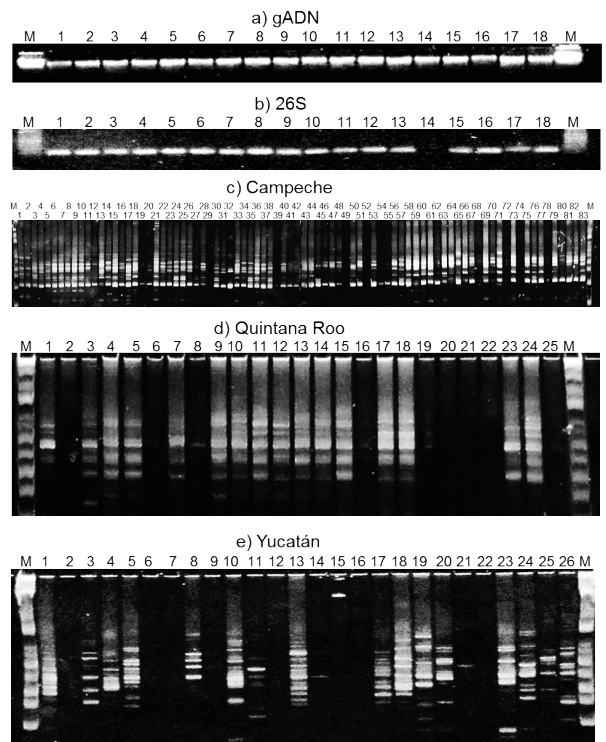


Figura 1. a) fotografía representativa de la calidad del ADN genómico. b) Amplificación del gen constitutivo ribosómico 26S como prueba de la amplificabilidad del ADN. Fotografías representativas de fragmentos de amplificación de los individuos de c) Campeche, d) Quintana Roo y e) Yucatán.

PARÁMETROS DE DIVERSIDAD GENÉTICA

En el Cuadro 1 se muestran los principales parámetros asociados con la diversidad genética de las colectas de aguacate de los tres estados peninsulares.

MEDIAS	Campech	Q. Roo	Yucatán
NI	77	33	21
# loci/issr	18.3	29.3	23.6
NLP	16.3	25.8	21.5
NFI	6.3	8.9	8.5
NFS	18.3	28.8	23.3
PFS	100	98.6	98.6
PLP	90.9	88.2	93.3
Hj	0.30	0.26	0.32
SE(Hj)	0.030	0.026	0.027
Var(Hj)	0.00090	0.00070	0.00077
VarI(Hj)	0.00015	0.00011	0.00017
VarI%	18.5	17.9	24.4
VarL(Hj)	0.000757	0.000595	0.000600
VarL%	81.5	82.1	75.6
PIC	0.34	0.284	0.470

Cuadro 1. Parámetros de diversidad genética poblacional por estado.

NI = número de individuos, #loci/issr = número de loci promedio por marcador issr, NLP = número de loci polimórficos, NFI = media de fragmentos por individuo, NFS = número de fragmentos segregantes, PFS = porcentaje de fragmentos segregantes, PLP = porcentaje de loci polimórficos, Hj = Heterocigosidad, SE(Hj) = error estándar de Hj, Var(Hj) = varianza de Hj, VarI(Hj) = varianza de Hj debida al muestreo de individuos, VarI% = porcentaje de la varianza debida a los individuos, VarL(Hj) = varianza debida a los loci, VarL% = porcentaje de la varianza debida a los loci, PIC = Índice de Contenido Polimórfico.

El principal parámetro es el de la Heterocigosidad de Nei (Hj) y demuestra que existe una mayor diversidad del aguacate criollo en Yucatán (Hj=0.32376375), seguido de Campeche (Hj=0.292563333) y de Quintana Roo (Hj=0.259378889). El valor mayor de Heterocigosidad se encontró en la población de Yucatán y se definió por el marcador ISSR3. Los mayores valores medios de PIC también se encontraron en la población de Yucatán y tuvieron una variación amplia de 0.284 (Quintana Roo) a 0.470. En general la Heterocigosidad esperada reportada en otras investigaciones ha sido alta, lo cual se explica por el hábito reproductivo del aguacate que

exhibe una dicogamia protoginia, donde una flor abre una mañana como hembra y a la mañana siguiente como macho, lo que favorece en gran medida la reproducción cruzada (Wu *et al.*, 2013). Así, Alvarez *et al.* (2018) reportan diversidad de 84% en poblaciones de Nuevo León, las cuales se agruparon por origen geográfico. Campos *et al.* 2023 reportaron diversidad de 78%, aunque solo estudiaron 12 árboles.

El NLP también fue alto con valores medios por individuo de 16.3, 25.8 y 21.5, respectivamente. Además, la varianza de la Heterocigosidad observada (Hj) es muy pequeña con apenas un 17.9 a 24.4 explicada por desviaciones en el muestreo de individuos y 75.6 a 81.5% explicada por la variación genética en los loci, lo que demuestra la robustez de los datos obtenidos. Guzmán *et al.* (2017) realizaron la mayor investigación con respecto a la diversidad genética del aguacate en México hasta el momento, en el cual estudiaron 318 accesiones que incluyeron las tres razas conocidas (Mexicana, Guatemalteca y West Indian), así como 31 híbridos diversos. Ellos reportaron Heterocigosidad observada de 0.59 y esperada de 0.75. López *et al.*, (2021) analizaron 43 árboles de 5 municipios de Nayarit y reportaron diversidad genética de 64% y agrupación por origen geográfico. Sandoval *et al.* (2021) estudiaron 45 árboles de Sinaloa y reportaron Heterocigosidad observada de 0.58 y esperada de 0.79. Es importante considerar que todas estas investigaciones, a diferencia de la actual, se diseñaron para detectar la mayor diversidad posible, ya que seleccionaron árboles de diferentes razas, orígenes geográficos o diversos en características morfológicas, lo cual origina alta variación genética. En esta investigación la diversidad no fue tan alta como en reportes previos debido a que la selección de los individuos fue completamente al azar y se hizo el estudio de poblaciones separadas

considerándolas aisladas geográficamente, por lo que el análisis de diversidad genética no consideró la componente interpoblacional.

En el Cuadro 2 se muestran los parámetros de diversidad genética sobre el conjunto de las poblaciones definidos por cada uno de los iniciadores. Se observa que el número de loci amplificados fue amplio y varía de 17.5 (ISSR2) a 37 (ISSR10) con media de 26; de estos fueron polimórficos de 14.5 (ISSR2) a 32 (ISSR10) con media de 23. Sin embargo, los valores de PLP y H_j fueron mayores con el ISSR3 (94.8% y 0.369, respectivamente), lo que demuestra que es el marcador que más diversidad detecta.

Por el contrario, el marcador que menos diversidad detecta es ISSR10 (H_j = 0.227), aunque el menor valor de PLP se encuentra con el ISSR11. Solo se han realizado en México dos investigaciones que emplearon marcadores ISSR como herramienta de escrutinio de la diversidad genética y que reportaron la Heterocigosidad (Campos *et al.*, 2023; López *et al.*, 2021), en ambos trabajos los valores reportados fueron similares al que aquí se presenta: 0.27, 0.33 y 0.29 en promedio, respectivamente; lo anterior podría indicar que el poder de resolución entre tipos de marcadores moleculares podría ser diferente, aunque es necesario investigar cuáles presentan mayor exactitud y utilidad para clasificar individuos y poblaciones.

ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO

Los resultados de los análisis de agrupamiento, junto con la caracterización morfoagronómica de frutos y árboles, permite seleccionar los individuos que mejor representan la diversidad genética del aguacate criollo de cada uno de los estados y, de esta manera, plantear acciones de conservación eficientes. En la Figura 2 se observa el resultado del análisis de agrupamiento de cada uno de los estados por medio de un dendrograma,

en cada caso se observan 3 grupos bien definidos. En la población de Campeche (Figura 2a) se observan dos grandes grupos, el grupo 2 está formado por dos subgrupos; en general se observa una estructura poblacional bien definida, aunque no es muy claro si la distribución es en base a la localidad de colecta o algún atributo no considerado en este estudio. En la población de Quintana Roo (Figura 2b) el grupo 1 es el que contiene más individuos con una estructura compleja, aunque parece haber, al igual que los grupos 2 y 3, preponderancia de la formación de grupos de acuerdo con la localidad de colecta. En la población de Yucatán (Figura 2c), al igual que en la de Campeche, no queda claro el atributo que define los grupos. Este resultado es una constante, ya que solamente Talavera *et al.* (2019) con el empleo de Estudios Amplios de Asociación del Genoma (GWAS) y caracterización genómica con SNPs (Polimorfismo de un Solo. Nucleótido, por sus siglas en inglés) lograron obtener 3 grupos inequívocamente bien definidos con base en la raza y un grupo adicional de híbridos de raza Guatemala/Mexicana, aunque la Heterocigosidad que detectaron fue de solo 0.19.

CONCLUSIONES

La diversidad genética de las poblaciones de aguacate de cada uno de los estados de la Península de Yucatán, determinada por marcadores moleculares y estimada principalmente por parámetros como la Heterocigosidad, es alta, lo que representa un amplio acervo genético del cual es posible seleccionar genotipos con características de calidad y tolerancia a factores bióticos y abióticos relevantes para los agricultores y los mercados peninsulares. El análisis de distancias genéticas y de agrupamiento permiten a los fitomejoradores seleccionar individuos con características específicas,

MEDIAS	ISSR1	ISSR2	ISSR3	ISSR4	ISSR5	ISSR8	ISSR9	ISSR10	ISSR11
NL	19	17.5	21	20.5	27.5	32.5	27.5	37	31.5
NLP	18.3	14.5	19.3	18	24.5	28.5	26	32	26.5
NFI	7.6	5.0	9.4	6.75	8.45	9.95	9.45	9.05	9.3
NFS	19.0	17.5	20.0	20.5	27.5	32.5	26.5	36	31.5
PFS	100.0	100.0	96.9	100	100	100	95.85	97.3	100
PLP	97.53	86.35	94.8	87.5	92.5	87.55	93.75	86.55	83.75
Hj	0.326	0.241	0.369	0.268	0.303	0.268	0.291	0.227	0.259
SE(Hj)	0.031	0.030	0.027	0.035	0.028	0.025	0.024	0.017	0.026
	0.0009	0.0009	0.0007	0.0012	0.0007	0.0006	0.0006	0.0002	0.0006
Var(Hj)	3	2	4	1	9	1	0	8	9
	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
VarI(Hj)	5	5	7	6	5	1	4	1	0
VarI%	16.1	19.2	23.0	14.4	18.4	18.7	23.2	37.9	15.3
	0.0007	0.0007	0.0005	0.0010	0.0006	0.0005	0.0004	0.0001	0.0005
VarL(Hj)	8	7	7	5	4	0	6	8	9
VarL%	83.9	80.8	77.0	85.6	81.6	81.3	76.8	62.1	84.7
PIC	0.469	0.243	0.609	0.351	0.380	0.294	0.337	0.175	0.274

Cuadro 2. Parámetros de diversidad global definidos por los valores medios de cada iniciador.

NL = número de loci, NLP = número de loci polimórficos, NFI = media de fragmentos por individuo, NFS = número de fragmentos segregantes, PFS = porcentaje de fragmentos segregantes, PLP = porcentaje de loci polimórficos, Hj = Heterocigosidad, SE(Hj) = error estándar de Hj, Var(Hj) = varianza de Hj, VarI(Hj) = varianza de Hj debida al muestreo de individuos, VarI% = porcentaje de la varianza debida a los individuos, VarL(Hj) = varianza debida a los loci, VarL% = porcentaje de la varianza debida a los loci, PIC = Índice de Contenido Polimórfico.

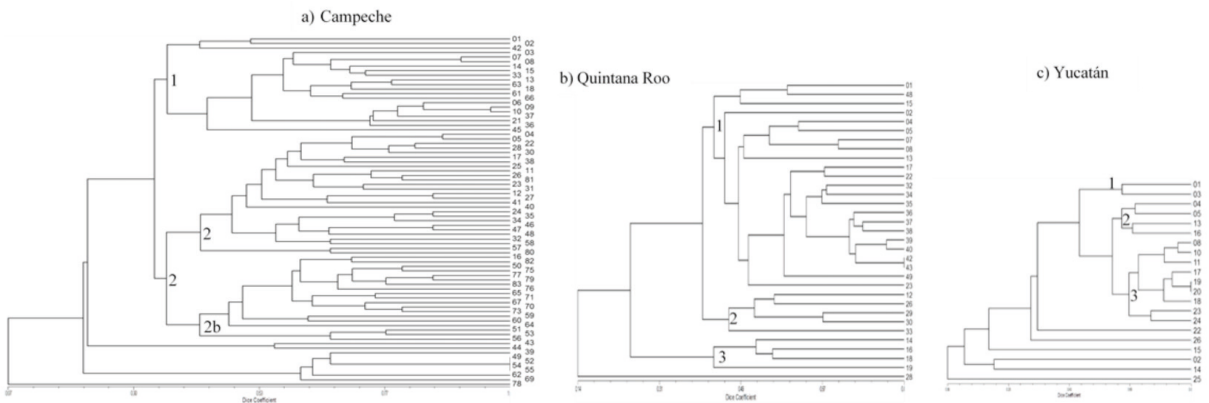


Figura 2. Dendrogramas que muestran las relaciones de similitud genética entre los individuos que componen las poblaciones de cada uno de los estados de la Península de Yucatán. En cada uno se observan 3 grupos importantes; en a) se presenta un grupo con dos subgrupos bien definidos, en b) se observa un grupo mayoritario con estructura un tanto compleja y en c) se observan tres grupos, relativamente pequeños, pero bien diferenciados y aprox. un tercio de los individuos con estructura poblacional poco definida.

pero sin perder la representatividad de los diversos tipos de aguacate de la Península, para establecer un sólido programa de mejoramiento genético.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento del INIFAP al proyecto número 11384435107 a través de recursos fiscales.

REFERENCIAS

- Alvarez, O. M. G.; Pecina, Q. V.; Acosta, D. E.; Almeyda, L. I. H. (2018). **Evaluación molecular del aguacate criollo (*Persea americana* Mill) en Nuevo León, México.** *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(2), 38-46.
- Ben-Yaacov, A.; Bufler, G.; Barrientos-Priego, A. F.; De La Cruz-Torres, E.; López-López, L. (1992). **A study of avocado germplasm resources, 1988-1990. I. General description of the international project and its findings.** In Proceedings of the second World Avocado congress (Vol. 2, pp. 535-541).
- Campos-Muzquiz, L. G.; García, P. G. D. L.; Flores-Gallegos, A. C.; Castillo-Godina, R. G.; Herrera, R. R. (2023). **Caracterización morfológica y determinación de la diversidad genética de aguacate criollo *Persea americana* Mill de Parras, Coahuila: Aguacate criollo *Persea americana* Mill.** *Biotecnia*, 25(3), 48-54.
- Doyle, J.J.; J.L. Doyle. 1987. **A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue.** *Phytochemical Bulletin*. 19(1):11-15.
- Guzmán, L. F.; Machida-Hirano, R.; Borrayo, E.; Cortés-Cruz, M.; Espíndola-Barquera, M. D. C.; Heredia Garcia, E. (2017). **Genetic structure and selection of a core collection for long term conservation of avocado in Mexico.** *Frontiers in Plant Science*, 8, 243.
- López-Guzmán, G. G.; Palomino-Hermosillo, Y. A.; Balois-Morales, R.; Bautista-Rosales, P. U.; Jiménez-Zurita, J. O. (2021). **Genetic diversity of native avocado in Nayarit, Mexico, determined by ISSRs.** *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 22(1).
- Montero-Tavera, V.; Escobedo-Landín, M. A.; Acosta-Gallegos, J. A.; Anaya-Lopez, J. L.; Ruiz-Nieto, J. E. (2017). **26S: Novel reference gene from leaves and roots of common bean for biotic stress expression studies based on PCR.** *Legume Research-An International Journal*, 40(3), 429-433.
- Nei, M.; Li, W.H.1979. **Mathematical model for studying genetic variation in terms of restricción endonucleasa.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(10), p. 5269-5273.
- Rohlf, F. J. 2000. **NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system**, ver. 2.10e. Exeter Ltd., Setauket.
- Sandoval-Castro, E.; Peraza-Magallanes, A. Y.; Dodd, R. S.; Ashworth, V. E.; Cruz-Mendivil, A.; Calderón-Vázquez, C. L. (2021). **Exploring genetic diversity of lowland avocado (*Persea americana* Mill.) as a genetic reservoir for breeding.** *Genetic Resources and Crop Evolution*, 68(7), 2757-2766.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2023. **Panorama Agroalimentario 2023.** Agricultura, SIAP. Ed. 2023. 215 pp. México, Ciudad de México.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2024). **Avance de siembras y cosechas.** <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>. Consultado el 02/02/2024
- Talavera, A.; Soorni, A.; Bombarely, A.; Matas, A. J.; Hormaza, J. I. (2019). **Genome-Wide SNP discovery and genomic characterization in avocado (*Persea americana* Mill.).** *Scientific Reports*, 9(1), 20137.
- Vekemans, X. (2002) **Aflp-Surv Version 1.0.** Distributed by the Author. Laboratoire De Génétique Et Ecologie Végétale, Université Libre De Bruxelles, Belgium. <http://www.ulb.ac.be/sciences/lagev>
- Wu, J.; Gu, C.; Khan, A.; Wu, J.; Gao, Y.; Wang, C.; Korban, S.; Zhang, S. (2013). **Molecular determinants and mechanisms of gametophytic self-incompatibility in fruit trees of Rosaceae.** *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32(1), p. 54- 63.