

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS**

**DETERMINACIÓN DE LA TASA DE CRUZAMIENTO CON MARCADORES BIOQUÍMICOS
(ISOENZIMAS) EN UNA POBLACIÓN DE ZAPOTE (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearn) DE LA
PARTE BAJA DEL RÍO HATO, EN SAN AGUSTÍN ACASAGUASTLÁN, EL PROGRESO.**

TESIS

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

NESTOR GONZALO RODRIGUEZ COLINDRES

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRONOMO

EN

SISTEMAS DE PRODUCCION AGRICOLA

EN EL GRADO ACADEMICO DE

LICENCIADO

GUATEMALA, AGOSTO DE 1999

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**RECTOR
ING. AGR. EFRAIN MEDINA GUERRA**

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO:	Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera
VOCAL PRIMERO:	Ing. Agr. Walter Gacia Tello
VOCAL SEGUNDO:	Ing. Agr. William Roberto Escobar López
VOCAL TERCERO:	Ing. Agr. Alejandro Arnoldo Hernández Figueroa
VOCAL CUARTO:	Br. Oscar Javier Guevara Pineda
VOCAL QUINTO:	Br. José Domingo Mendoza Cipriano
SECRETARIO:	Ing. Agr. Rene Edil Rodríguez Quezada

Guatemala
Agosto de 1,999

Honorable Junta Directiva
Honorable Tribunal Examinador
Facultad de Agronomía
Universidad de San Carlos de Guatemala


Respetables señores:

De conformidad con las normas establecidas en la ley orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

DETERMINACION DE LA TASA DE CRUZZAMIENTO CON MARCADORES BIOQUIMICOS (ISOENZIMAS) EN UNA POBLACION DE ZAPOTE (Pouteria sapaota (Jacq. Moore Stearm) DE LA PARTE BAJA DEL RIO HATO, EN SAN AGUSTIN ACASAGUASTLAN, EL PROGRESO.

Trabajo que presento como requisito previo a optar el título de Ingeniero agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

A espera de una resolución favorable me despido de ustedes.



Nestor Gonzalo Rodríguez Colindres

DEDICATORIA

A DIOS:

Como ofrenda dedico este momento inolvidable, que lo llevare dentro de mi toda la vida.

A MADRE:

Nora Yolanda Colindres Montesflores vda. De Rodríguez

Por ser la mujer que con sus arrullos y cantos me vio crecer, y con esfuerzo y alegría me ve terminar lo que ella tanto anhelo, a ella después de días dedico este acto.

A MI PADRE:

Roderico Rodríguez Ramos (Q.E.P.D.)

No pudo ver mi triunfo, pero estoy seguro que estaría feliz de compartir este momento por el cual tanto luche, y sé papá, que a pesar de la distancia que nos separa siempre estas junto a mi, a su memoria dedico mi triunfo.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:

Alma mater forjadora de mi triunfo.

A LA ESCUELA NACIONAL CENTRAL DE AGRICULTURA, E.N.C.A.:

Por ser la formadora de mis principios y metas.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Como primicia, mi vida elevo a tu altar, y como ofrenda mi triunfo, Consúmelo pues para que tu gloria sea por los siglos de los siglos.

A MI MADRE:

Nora Yolanda Colindres Montesflores vda. De Rodríguez
He aquí el fruto de tu esfuerzo mujer elegida por dios para edificación de mi ser y compartimiento de mi triunfo.

A MI PADRE:

Roderico Rodríguez Ramos (Q.E.P.D)
Porque como ejemplo de hombre exitoso pude seguir.

A MIS ABUELOS:

Carmen Montesflores Guerra de Colindres
Gonzalo Colindres Sandoval (Q.E.P.D.)
Por ser los pilares fundamentales de mis metas y logros.

A MIS HERMANOS:

Ing. Marvin Rodríguez Colindres
Erick Rodríguez Colindres
Con eterno agradecimiento por ser amigos inseparables, y hermanos.

A MIS TIOS:

Romeo Colindres Montesflores
Soledad Colindres Montesflores
Consuelo Colindres Montesflores
Hilda Rodríguez Ramos
Gracias por su apoyo.

A MIS ASESORES DE TESIS:

Dr. Cesar Azurdia
Dr. Luis Mejia
Con gran agradecimiento por ser los responsables de culminar mi meta.

A LA EMPRESA HORTICOLA GUATEMALTECA S.A.

Ing. Agr. Braulio Aguilar	Gerente General
Agrónomo René Almazan	Gerente de producción Esquejes S.A.
Lic. Amilcar Garcia	Gerente Administrativo Esquejes S.A.

Con agradecimiento especial por toda la ayuda brindada, y por ser un escalón para alcanzar mis metas.

A MIS AMIGOS DE LA INFANCIA:

Enrique Oliva Rosil, Enrique Urrutia, Nery Portillo, Alex Noguera, Cristian Marín.
Por compartir los momentos más inolvidables de mi vida que me motivaron a seguir adelante.

INDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
3. MARCO TEÓRICO	3
3.1. Marco Conceptual	3
3.1.1. Generalidades	3
3.1.1.1. Electroforesis	3
3.1.1.2. Electroforesis de isoenzimas	5
3.1.2. El Zapote (<u>Pouteria sapota</u>(jacq)moore stearm)	8
3.1.2.1. Taxonomía	8
3.1.2.2. Descripción	9
3.1.2.3. Fenología	9
3.1.2.4. Etnobotánica	9
3.1.2.5. Distribución y variabilidad genética	10
3.1.2.6. Erosión genética	12
3.1.2.7. Cultivo, producción, comercialización	12
3.1.2.8. Información nutricional	14
3.1.2.9. Tipos de consumo	14
3.1.2.10. Comercialización y mercadeo	15
3.2. Marco Referencial	16
3.2.1. Región semiárida de Guatemala	16
3.2.2. Características generales del área	16
3.2.2.1. Ubicación y localización	16
3.2.2.2. Características climáticas	16
3.2.2.3. Zonas de vida	17
3.2.2.4. Hidrografía	17
3.2.2.5. Suelos	18
3.2.2.6. Flora	18
3.2.2.7. Aspectos Históricos del área	19
4. OBJETIVOS	20
5. HIPOTESIS	21
6. METODOLOGÍA	22
6.1. Antecedentes acerca del Material Vegctal	22
6.2. Caracterización in-situ	22
6.3. Colecta y Transporte de la muestra	24

6.4. Obtención del extracto vegetal	24
6.5. Preparación de las geles de poliacrilamida	24
6.6. Cargado de las muestras	24
6.7. Realización de la corrida electrofóretica	25
6.8. Tinción y revelación de enzimas	25
6.9. Sistemas enzimáticos que se evaluarán	25
6.10. Análisis de isoenzimas	25
6.11. Cálculos de los sistemas de apareamiento	25
6.12. Análisis de diversidad genética	25
7. RESULTADOS	26
7.1. Isoenzimas polimórficos	26
7.2. Tasas de autocruce	27
7.3. Estructura genética de la población	28
7.4. Relación genética de las poblaciones	29
7.5. Heterocigidad maternal y de la progenie	30
8. CONCLUSIONES	31
8.1. Recomendación	32
9. BIBLIOGRAFIA	33
10. APENDICE	36
10.1. Apendice 1: Soluciones madre para preparar geles	36
10.2. Apendice 2: Fórmulas para la preparación de geles	37

Indice de figuras

Figura 1: Hidrografía de la cuenca del río Iato San Agustín Acasaguastlán El Progreso	17
Figura 2: Mapa de localización de árboles de zapote (<u>Pouteria sapota</u>).	23
Figura 3: Isoenzimas polimórficos	26
Figura 4: Fenograma de la población de zapote (<u>Pouteria sapota</u>).	29

Indice de Cuadros

Cuadro 1: Cálculo de locus y multilocus en tasas de autocruces.	27
Cuadro 2: Tasas de cruzamiento y componentes de diversidad Genética.	28
Cuadro 3: Observación de heterocigotes, fijación de índices Maternal y progenie de zapote (<u>Pouteria sapota</u>).	30

**DETERMINACIÓN DE LA TASA DE CRUZAMIENTO CON MARCADORES
BIOQUÍMICOS (ISOENZIMAS) EN UNA POBLACIÓN DE ZAPOTE (Pouteria sapota (Jacq.)
Moore Stearm) DE LA PARTE BAJA DEL RÍO HATO, EN SAN AGUSTÍN ACASAGUASTLÁN, EL
PROGRESO.**

**DETERMINATION OF THE MIXING RATE WITH BIOCHEMICAL MARKERS
(ISOENZIMES) IN ZAPOTE (Pouteria sapota (Jacq.) Moore Stearm) POLUTION OF THE LOWER
PART OF HATO RIVER, IN SAN AGUSTIN ACASAGUASTLAN, THE PROGRESO**

RESUMEN

El zapote (Pouteria sapota (jacq) Moore Stearm), es una planta tropical con altura hasta de 30 metros y con diámetros de tronco que alcanzan un metro. El área con más densidad de esta fruta tropical se encuentra en la zona de vida de Monte espinoso sub-tropical (Me-s), con escasa precipitación pluvial y alta tasa de evapotranspiración. Para realizar la caracterización se seleccionaron 80 árboles, con distancias entre ellos de 300 metros aproximadamente. De estos fueron extraídos 20 frutos, estos fueron colocados en semilleros y luego trasplantados a bolsas de polietileno. El total de plantas fue de 750, del total de 38 entradas. De cada entrada se tomo 10 plántulas representativas para su estudio.

Dos enzimas fueron utilizadas SKDH y EST, en el caso de esterasa (EST) dos loci fueron expresados siendo una enzima polimorfica porque generó 9 bandas. SKDH, mostró tres bandas muy bien identificadas lo que indica la existencia de tres alelos para un gen.

Estos datos computados para establecer las distancias del par genético discreto, nos arroja un dendrograma que nos indica la relación existente entre las diferentes poblaciones de zapote (Pouteria sapota).

De acuerdo a estos resultados se obtuvo una tasa de cruzamiento de 86%, la cual nos indica que el zapote (Pouteria sapota) es una especie preferentemente alógama, dando apareamientos disociativos. Por lo cual se establece que existe diversidad genética alta entre la progenie de un mismo árbol (una población) y menor diversidad genética entre árboles.

De acuerdo a estos datos obtenidos se pudo establecer así una metodología de muestreo, la cual consiste en tomar el mayor número de frutos dentro de un árbol, debido al alto entrecruzamiento que existe; en lugar de muestrear más árboles.

I. INTRODUCCION

En la región tropical y subtropical de Guatemala se encuentran especies frutales de importancia económica, que no son aprovechadas comercialmente para exportación, aunque si son apreciados para consumo interno. Entre estas especies se encuentra el zapote (Pouteria sapota (Jacq) Moore Stearn), perteneciente a la familia de las sapotaceas, cuya importancia actual se basa en que es una fruta consumida y apreciada por los nativos de la región en donde se encuentra y cuya importancia radica en la posibilidad de exportación e incremento de divisas para el país.

Para obtener información acerca de los caracteres existen dos métodos: caracterización morfológica y caracterización bioquímica. La primera se basa en caracteres fenotípicos, los cuales son afectados por el ambiente, y la segunda se basa en los productos bioquímicos celulares, los cuales son constantes y particulares en cada individuo y no son afectados por factores ambientales. Entre los métodos de caracterización bioquímica se encuentra el de electroforesis por isoenzimas, basado en el genotipo de cada individuo y determinado a través de la tinción en forma de bandas de los alelos correspondientes a un gen específico identificado por una enzima determinada, con estos resultados se realizó la caracterización bioquímica. Entre estas enzimas se pueden mencionar: Peroxidasa (PRX), alcohol deshidrogenasa (ADH), ácido shikimico deshidrogenasa (SKDH) y esterasa (EST), las cuales funcionan como marcadores bioquímicos que revelan el comportamiento de los genes en forma inmediata.

El análisis de los resultados de electroforesis para determinar la frecuencia alélica mediante las bandas reveladas por las enzimas, sirvieron para obtener el cruzamiento multilocus el cual fué calculado utilizando el programa (MLT) (Ritland), basado en el modelo multilocus de Ritland y Jain (1981). El genotipo materno más probable fué definido por el método de Brown y Allard (1970), se usaron las estadísticas de diversidad genética de Nei's (1973) para medir el total de diversidad genética y fueron computadas para determinar las distancias del par genético discreto y constituir un diagrama usando el método de los grupos de pares descargados y así llegar a conocer los caracteres genotípicos de las plantas recolectadas en la parte baja de la cuenca del río Hato, del municipio de San Agustín Acasaguastlán el Progreso, Guatemala.

Los objetivos de esta investigación son determinar la estructura genética y sistemas reproductivos de las poblaciones de Pouteria sapota determinando la tasa de cruzamiento en la parte baja de la cuenca del río Hato, municipio de San Agustín Acasaguastlán, El Progreso. De la parte baja de la cuenca del río Hato se seleccionaron 40 árboles, de los cuales fueron colectados frutos y semillas y seleccionados 10 individuos por árbol. De estos individuos se realizaron corridas de electroforesis, para determinar las variaciones que se pueden dar entre los progenitores y la primera generación.

Entre los resultados obtenidos se dice que el zapote se comporta como una especie alogama, debido a que esta presenta una tasa de cruzamiento de 86%, existiendo alta diversidad genética entre la progenie de un mismo árbol y menor diversidad genética entre árboles.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la necesidad existente en nuestro país por conocer los recursos naturales, y la falta de información existente, es necesario realizar estudios científicos basados en caracteres constantes e invariables tales como las características genéticas, que nos alluden a determinar que la utilización de estos recursos son un avance potencial para el desarrollo social y económico, mediante estos estudios nos damos cuenta que existen especies frutales que poseen características muy peculiares, que son base de estudios muy detallados. Una de estas especies es el zapote (Pouteria sapota) que se encuentra en grandes cantidades en las áreas irrigadas por el río Hato, en San Agustín Acasaguastlán El Progreso, y que por desconocimiento no es utilizado para explotación agroindustrial. Esta especie frutal tiene flores hermafroditas y perfectas fructificando aisladamente, por lo que es necesario generar información que conlleve a conocer la diversidad existente mediante la medición de esta por métodos adecuados.

Para llegar a determinar una descripción genética detallada es necesario la utilización de enzimas, como marcadores bioquímicos. Para esto se han elaborado protocolos de isoenzimas para análisis genéticos, dando dichos análisis alta resolución y polimorfismos. Los geles de poliacrilamida fueron los más informativos produciendo más bandas y mejor resolución. Entre estas isoenzimas destacan, PRX, ADH, EST, PGD, SOD, 6PGDH. Con estas se pueden realizar estudios en Pouteria sapota, usando las enzimas polimórficas anteriormente mencionadas.

III. MARCO TEÓRICO

3.1.MARCO CONCEPTUAL

3.1.1. GENERALIDADES.

Azurdia (2) determino que el sistema de cruzamiento involucra los atributos de un organismo que gobierna el proceso mediante el cual los gametos se unen para formar cigotos. Por lo tanto, el sistema de cruzamientos determina el modo de transmisión de genes de una generación a la siguiente. Se han utilizado isoenzimas, debido a que ellas son expresadas codominantemente, y el polimorfismo es común y fácilmente detectable. Una descripción general del sistema de cruzamiento, subdivisión de las poblaciones, distancias génicas entre sus poblaciones y otros, son factores críticos para planificar estrategias de conservación genética.

Las relaciones evolutivas pueden ser estimadas mediante los estudios de las semejanzas y diferencias en la estructura molecular de los organismos, así como en los estudios de la estructura general. La secuencia de aminoácidos de las proteínas es muy parecida en los organismos que se consideran genéticamente emparentados. Puesto que el D N A codifica la síntesis de las proteínas, las semejanzas entre las proteínas son un buen indicador de similitudes genéticas. Las relaciones evolutivas deducidas a partir de los estudios bioquímicos concuerdan en gran medida con las relaciones basadas en los estudios anatómicos o morfológicos, aunque la concordancia no es perfecta, y en algunos casos, las disparidades son significativas.

Velle (24) con el método de electroforesis, en un aparato se aplica un frente potencial eléctrico a una placa de gel que contiene una proteína. Esta proteína migra a través del gel en respuesta ante el potencial eléctrico, pero su velocidad es función de su tamaño y carga. Al exponerlas a un reactivo adecuado, las proteínas se vuelven visibles y de este modo se comparan sus patrones de migración. Se supone que las proteínas similares indican la existencia de un parentesco evolutivo cercano entre los organismos que se están comparando.

3.1.1.1. Electroforesis.

Smithies (20) determino que la electroforesis de gel para proteínas se ha convertido en una herramienta de investigación estándar y poderosa en multitud de disciplinas de las ciencias biológicas. Una forma de electroforesis de proteínas –análisis de isoenzimas- es una metodología ampliamente utilizada en sistemática y biología evolutiva así como en agronomía. Las isoenzimas o las múltiples formas moleculares de las enzimas, son enzimas que comparten un sustrato común pero tienen diferente movilidad electroforética.

A) Concepto de Gel.

Se refiere a un material suave y elástico que contiene agua. Consiste en una estructura o armazón tridimensional. Un material estructural, frecuentemente polímeros con enlaces cruzados que imparten al gel estabilidad mecánica (o cuando menos una preferencia para cierta forma). Casi cualquier molécula que se eslabona entrecruzadamente con un entrecruzado adecuado puede ser inducida a formar gel en algún solvente adecuado.

Se puede distinguir dos grupos de geles desde el punto de vista de sus propiedades cromatográficas, así como de sus propiedades generales: las macrorreticulares y las microrreticulares.

Las macrorreticulares tienen propiedades que indican que la microestructura es fuertemente heterogénea con regiones en donde el material de la matriz está agregado y regiones en donde hay poca matriz. Permite la entrada de moléculas grandes. Las regiones de alta densidad forman un esqueleto que estabiliza el gel y le dan rigidez.

Los geles microrreticulares indican que la matriz del gel está distribuida en forma relativamente uniforme alrededor del gel, a través de todo el gel. Fraccionan en límites de pesos moleculares inferiores que los geles macrorreticulares y generalmente son más suaves. Los geles macrorreticulares generalmente son aerogeles y los microrreticulares generalmente parecen ser aerogeles.

Fischier (10) Determino que entre las propiedades importantes de los geles para la electroforesis están:

- a) La matriz del gel debe ser inerte (sin interacción química entre la matriz y los solutos).
- b) Debe ser químicamente estables (entre límites amplios de pH y temperaturas).
- c) Bajo contenido de grupos iónicos (evitar efectos de intercambios de iones).
- d) Una amplia gama de tipos de geles (con diferentes límites de fraccionamiento para facilitar la adaptación del método a diferentes problemas.)
- e) Tamaño de la partícula y distribución del tamaño de partícula. Los medios con tamaño pequeño de partículas dan buena resolución. Se debe tomar un tamaño medio de partículas con un máximo de resolución.
- f) Frigidez mecánica de los granos del gel debe ser tan altas como sea posible.

B) Geles de Poliacrilamida.

Son sintéticos (al contrario de los dextrana). La acrilamida, $H_2C=CH-CO-NH_2$, es un sólido soluble en agua e insoluble en solventes orgánicos no polares. Se le puede polimerizar en 3 formas distintas: mediante calor en que se obtiene un sólido insoluble en todos los disolventes comunes; por polimeros vinílicos de la acrilamida, de los que se obtiene un polímero lineal soluble en agua. Y por copolimerización con metilen-bis-acrilamida, $H_2C=CH-CO-NH-CH_2-NH-CO-CH=CH_2$, en donde se obtiene un material en el que las cadenas de poliacrilamida tienen enlaces cruzados. Los puntos débiles del material son los grupo amido que pueden ser hidrolizados a pH extremos, al hidrolizarse producen grupos carboxilo que le imparten al gel propiedad más o menos de intercambiador de iones.

Se han usado con buenos resultados en electroforesis el gel para remover los inhibidores o cofactores de las enzimas. Esta remoción es muy importante en los estudios cinéticos de las reacciones con enzimas. Sería sumamente difícil obtener esta remoción por otros métodos, particularmente con enzimas lábiles que se destruyen por precipitación o por diálisis prolongada. Además sirve para marcar y obtener a partir de ciertas enzimas específicas (21).

3.1.1.2 Electroforesis de Isoenzimas.

Las isoenzimas pueden observarse cuando extractos del tejido se someten a electroforesis en uno de los varios tipos de geles y posteriormente se sumergen en soluciones conteniendo colorantes específicos para cada enzima.

La separación electroforética complejas de proteínas se pueden llevar a cabo en ciertos tipos de medios de soporte, incluyendo geles de almidón, poliacrilamida, agarosa y membranas de acetato de celulosa. Estos dos últimos generalmente no se emplean para polimorfismo enzimático. Cuando se requiere del poder máximo de resolución con frecuencia se prefiere con geles de poliacrilamida. Otras de las ventajas de las geles de poliacrilamida es la uniformidad y la transparencia, facilitando la cuantificación densidométrica del producto. Permitiendo una amplia compatibilidad de ensayos, usualmente en tiempos rápidos de corrida.

Enzimas como la ribonucleasa, Piruvato decarboxidasa y amilasa, son analizadas con el método PAGE ya que los ensayos involucran la producción de precipitados blancos que son difíciles de observar en las geles de almidón.

Razones son muchas por las cuales los datos electroforéticos son populares, sin embargo, entre las más importantes están de que las isoenzimas proveen una serie de marcadores fácilmente leibles y porque son el producto de un solo gene (6).

Según Smithies (20) la electroforesis en geles de almidón, continúa siendo preferido para muchos estudios que involucran el análisis de un gran número de individuos de diferentes enzimas. Muchas son las razones: simplicidad en la preparación de la gel de almidón, no toxicidad en el material utilizado (la acrilamida monomera utilizada por el método PAGE es un neurotóxico), relativo bajo costo de equipo y facilidad de manejo de cargar las muestras dentro de la gel. Las muestras de gel de almidón son homogenizadas en crudo sin centrifugar, pero el método PAGE requiere de la clarificación de las muestras. Probablemente la mayor razón para la continuación de la popularidad del gel de almidón es la diferencia en la cantidad de datos generados por gel, ya que las geles de almidón pueden ser cortadas en forma horizontal, permitiendo la multiplicidad (hasta seis) de ensayos del sistema de enzimas por gel, mientras que las geles de poliacrilamida son usualmente reveladas por una sola enzima. White, Handler, Smith (26) determinaron estudios en donde 20 o más enzimas de un número de plantas, son ensayados, la eficiencia y el costo de las geles, es más recompensado por el relativo poder de la acrilamida.

A). Isoenzimas.

Azurdia, Frnaco, Mejia (6) determinaron que cuando las geles que han sido sometidas a electroforesis son sumergidas en una solución que tiñe determinada isoenzima, una o más regiones de actividad enzimática son reveladas. El patrón de bandas que se obtiene es el correspondiente fenotipo electroforético, el cual generalmente consiste de una o más bandas coloreadas por cada individuo analizado. Este fenotipo varía grandemente en su complejidad, dependiendo de numerosos factores, tales como organismo, tejido y enzima analizada, en algunos casos, este puede ser simple, consistiendo de una banda invariante en todas las muestras.

El análisis genético puede indicar que algunas de las variantes electroforéticas son codificadas por alelos alternos en un locus, en cuyo caso los productores alélicos se denominan "aloenzimas". Los datos que se obtienen de las geles consisten en un número de productos enzimáticos con relativa movilidad (banda), los que con análisis genéticos apropiados se transforman en genotipos con un locus o multilocus para cada individuo analizado

Varios factores son considerados como determinantes principales del número de bandas observadas en una gel:

- a) El número de genes que codifican la isoenzima
- b) Estado alélico (homocigótico o heterocigótico)
- c) Estructura cuaternaria de los productos de las proteínas
- d) Su localización subcelular (en plastidios o en el núcleo)

Debido a que las isoenzimas son usualmente heredadas en forma codominante, cruces entre individuos portadores de diferentes electromorfos producirán una progenie F1 que mostrará los electromorfos parentales. Adicionalmente, la F1 puede mostrar bandas híbridas no observadas en ninguno de los padres, la presencia y número de ellas depende del número de subunidades de polipéptidos en la enzima activa. Así, para una enzima dimérica, tres bandas son observadas, las dos homodiméricas parentales y un producto adicional de movilidad intermedia, o heterodímero, compuesto de un polipéptido codificado por cada uno de los dos alelos parentales. En el caso de que la enzima sea tetrámera, cinco bandas son visibles en individuos heterocigóticos, dos homotetrámeras (AAAA y BBBB) y tres heterotetrámeras (AAAB, AABB, ABBB). Según Smithies (20) es necesario mencionar que estos son los casos más fáciles de interpretar, sin embargo, cuando dos o más genes están presentes, la interpretación de las bandas electroforéticas se hace más complicada.

La identificación de marcadores bioquímicos en especies frutícolas del género Pouteria es el primer paso para desarrollar estudios genéticos como determinación de variación inter e intra específica, determinación de tasas de cruzamiento y estructura genética de poblaciones naturales, identificación de cultivares, distribución de la variación genética en el espacio, introgresión genética y mapeo cromosómico. Debe recordarse que las especies frutales por su condición biológica (larga juvenilidad) requieren otros caracteres más rápidos de obtener, precisos y no afectados por el ambiente para poder desarrollar un programa de mejoramiento a ejecutarse en un tiempo razonable.

El alto grado de polimorfismos observados en la especie de Pouteria muestra la alta diversidad genética presente en el germoplasma de dichas especies. Una posible razón, de este comportamiento es que las especies bajo estudio no han sido sometidas a un proceso intenso de domesticación siendo algunas de ellas de carácter silvestre, por lo tanto, la reducción genética que se observa en los materiales genéticos domesticados, aún no se ha llevado a cabo. Otra posible razón, es que mediante las observaciones realizadas a nivel de campo, estas especies posiblemente tiene una tasa de cruzamiento alta, lo cual, incrementa la variación intrapoblacional, no permitiendo la fijación de genes, dando como resultado mayor número de polimorfismos.

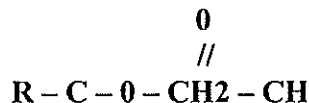
El desarrollo de materiales genéticos promisorios para la producción agrícola requiere en tiempos modernos de la identificación exacta del material genético que se está propagando y distribuyendo en los usuarios. En tal sentido, cada uno de los materiales genéticos estudiados presenta su propia identidad, representada por el conjunto de zimogramas establecidos para las diferentes isoenzimas polimórficas.

Isoenzimas polimórficas en el zapote (*Pouteria sapota*).

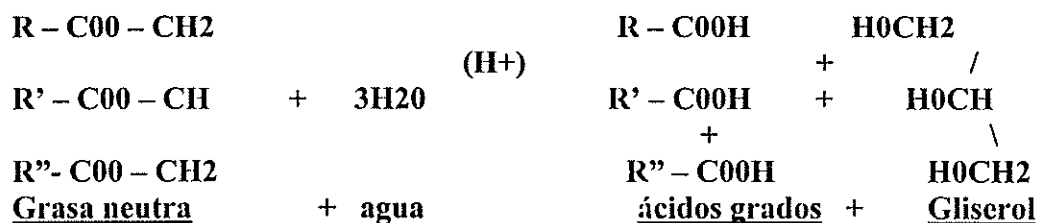
A.1.) Enzima Esterasa.

Esta enzima dá como resultado la revelación de 2 alelos (a,b), y dos genes, los cuales muestran el comportamiento genético de el individuo analizado.

Esta enzima forma intermediarios covalentes enzima-sustrato. La esterasa posee un grupo reactante serina cuya fórmula molecular es $\text{H}_0 - \text{CH}_2 - \text{CH}$, y su tipo de intermediario covalente es el Acil éster, de fórmula molecular:



Soltis, Soltis (21) establece que esterazas son enzimas que catalizan la hidrólisis de las grasas neutras, originando tres moléculas de ácido graso y una de griserol, en plantas o animales, también denominadas lipasas. La reacción es la siguiente:



A.2.) SKDH: Acido Shikimico Deshidrogenasa.

Enzima que revela tres alelos (a,b,c), mostrando características genéticas peculiares. Esta enzima interviene en el proceso de síntesis de la fenilalanina y la tirosina y del ácido antraniulico, precursor en la síntesis del triptófano (26).

Según Bidwell (7) la mayoría de los compuestos fenólicos se derivan de los intermediarios del metabolismo respiratorio a través del ácido shikimico. Ciertos aminoácidos del grupo prostético de ciertas enzimas y la sustancia estructural lignina son compuestos fenólicos. El primer intermediario estable de importancia que tiene un anillo bencénico es el ácido shikimico, que da su nombre a esta vía de transformaciones.

Según Soltis, Soltis (21) la vía del ácido shikímico sigue los siguientes caminos:

- a) por medio de la neutralización de un ATP a ADP y PEP, se convierte en ácido corísmico que se transforma en un proceso específico en TRIPTÓFANO (aminoácido).
- b) El ácido corísmico puede transformarse en ácido prefénico y convertirse en TIROSINA.
- c) El ácido prefénico también puede transformarse en FENILALANINA.

3.1.2. EL ZAPOTE (Pouteria sapota (Jacq.) Moore Stearm).

3.1.2.1. Taxonomía del Zapote

REINO.....Plantae
 PHYLUM.....Tracheophyta
 SUBPHYLUM.....Pteropsida
 DIVISION.....Magnoliophyta
 CLASE.....Magnolipsida
 SUBCLASE.....Dilleniidae
 ORDEN.....Ebenales
 FAMILIA.....Sapotaceae
 GENERO.....Pouteria
 ESPECIE.....(Pouteria sapota(Jacq.) Moore Stearm)

Según Gola et al (11) la familia de las sapotáceas reúnen hasta 600 especies de leñosas con hojas esparcidas y bordes enteros. Numerosas células corticales secretoras, flores hermafroditas y fruto en baya. Standley (22) establece que en Guatemala la familia de las sapotáceas está compuesta por ocho géneros, con cincuenta (50) especies o más, principalmente americanas y con representantes asiáticos y africanos.

En Guatemala existen catorce (14) especies del género Pouteria, a las que se les denomina comúnmente “zapotes”.

Sus sinónimos principales son:

(Achradelpha mammosa Cook)

(Lucuma mammosa Gaerth)

(Pouteria mammosa L. Cronquist)

(Sideroxylon sapota Jacq)

(Calocarpum sapota Merrill)

(Achras mammosa L.)

Sus nombres comunes en Guatemala son:

Sapote

Zapote mamey

Chacalhaas

(Yucatan, voz maya)

Mamey, mamey colorado

Satul (Quecchi)

Sesaltul (Quecchi)

Tulul (Cacchiquel)

Saltul (Pocomchi)

El término “zapote” es muy ampliamente usado; es derivado del nahuatl tzapotl, que significa fruta esférica, dulce y con semilla grande (5).

Esta denominación aparece en los nombres de muchos lugares en Guatemala, como: El Zapote, Zapotal, Zapotón, Zapotitlán y Zapotitlancito. Es plantado comúnmente en fincas desde 600 metros o menos y más común a 900 metros pero raramente 1,200 metros sobre el nivel del mar (msnm) o más, aunque algunas veces se ha visto hasta 1,500 metros.

Standley, Williams (22) establecen que es común en los cultivos de tierras bajas de Centroamérica y posiblemente nativo alrededor de la costa Atlántica. Cultivado en América tropical y en algunas partes de los trópicos del Viejo Mundo (Standley, Williams, 1966).

3.1.2.2. Descripción del Zapote.

Según Standley y Williams (1966), El zapote es un árbol grande, a menudo con alturas de 30 metros, el tronco a veces de un metro de diámetro, corto o usualmente largo, a menudo con contrafuertes angostos; la corteza y sus escamas son vellosas o lisas, de color marrón rojizo; ramas anchas, usualmente densas de pelos tomentosos marrones; hojas grandes y delgadas, agrupadas cerca del final de las ramas, obovadas a oblongas-oblancoeladas, de 15 a 20 cm. de longitud, casi glabras o lustrosas por encima, paralelas por abajo, glabras o a menudo corto pilosas o puberulentas; obtusas o redondeadas en el ápice y apiculadas, largas atenuadas en la base.

Peciolos corpulentos, de 2 a 4 cm. de longitud, blanquecinos, densamente agrupados en ramas antiguas antes y debajo de las hojas, sésiles o corto pedicelados, de 7 a 8 mm. de largo; sépalos redondos densamente imbricados y apresados, densamente seríceos, corola cerca de 10 mm de largo; fruto globoso o elipsoidal, comúnmente de 10 a 16 cm de largo, café y de piel rugosa; la pulpa es suave y dulce, a menudo con alguna lechosidad, amarillenta a rojiza o rosada; semillas una, muy grande, lustrosa y café, con una cicatriz grande pálida sobre uno de sus lados.

3.1.2.3. Fenología del Zapote:

Durante marzo y abril es la época en la cual los frutos maduran, a excepción de regiones en oriente como Santa Rosa y áreas de El Progreso, en donde los frutos alcanzan la madurez en los meses de noviembre a diciembre. Igualmente otras excepciones se encuentran en la Tinta, Alta Verapaz, perteneciente al Bosque húmedo Subtropical cálido (Bmh-S (c), en donde se colectaron frutos maduros durante el mes de mayo, y en Morales, Izabal, durante el mes de Septiembre (5).

3.1.2.4. Etnobotánica del Zapote

Según Standley y Williams (22), el zapote produce uno de los frutos favoritos de América Central, apreciado por los guatemaltecos, como postre o refacción. Son comidos usualmente en forma cruda, pero a veces son preparados en conservas y mermeladas. Se encuentran en los mercados del país, en casi todas las épocas del año. Existen miles de árboles gigantes en Guatemala, especialmente a lo largo del pié de monte pacífico y en las grandes planicies.

Muchos lugares en Guatemala llevan nombres de "zapote". Además en San Felipe de Jesús, Sacatepéquez, se elaboran artesanías de arcilla, con forma de zapote.

Standley y Williams (22) establecen que las semillas son llamadas "sapuyules" o "sapuyulos". Gran cantidad de semillas en húmedo, son colgadas sobre varas y son exhibidas en los mercados. Estas semillas tienen un sabor parecido a almendras amargas y de vez en cuando son empleadas para dar sabor al chocolate, atol de suchiles y otras bebidas. Algunas veces son usadas para

saborizar dulces. Dichas semillas son ricas en aceite, el cual es utilizado para preparar jabón y también son usadas para endurecer el lino usandolo como planchas.

La madera es de color encendido cuando está recién cortada, cambiando a un suave café o color piel y finalmente posee un tinte levemente rojo, su brillo es bajo, no posee olor, pero algunas veces es suavemente percibida, es dura, pesada, de textura media, con grano usualmente recto, de dudosa durabilidad. Es poco usada debido a que los árboles son conservados para utilizar su fruto.

3.1.2.5. Distribución y Variabilidad Genética del Zapote.

Azurdia et al (5) establece que a lo largo del rango altitudinal en donde crece el zapote (entre 0 a 1,500 metros sobre el nivel del mar), este árbol se encuentra en diferentes tipos de clima y vegetación. Las zonas a las que pertenece el zapote son: Bosque muy húmedo subtropical cálido (Bmh-S©), Bosque húmedo subtropical cálido (Bh-S©), Bosque húmedo subtropical templado (Bh-S (t)) y Monte Espinoso Subtropical (Me-S).

A) Bosque Húmedo Subtropical Calido (Bh-S©).

De acuerdo con De la Cruz (1982) esta zona comprende la región de Petén, así como una faja de 10 a 22 Km de ancho que va desde el Salvador hasta México, en la Costa Sur.

Posee 27,000 km cuadrados, con suelos de excelente calidad en la costa sur, comparados con los suelos del norte y centro de Petén, donde la vegetación primaria aún existe. En la Costa Sur el zapote es de tipo cultivado; en Petén, son pocos los ejemplares silvestres que existen, no pudiéndose regenerar ya que manadas de jabalís comen de los frutos y sus semillas cuando caen. Los árboles estudiados en condiciones silvestres en Petén son de 50 a 86 cms de DAP y alturas de 34 a 55 metros. Los árboles de zapote cultivados del Petén, son de 7 a 29 metros de altura y con DAP's menos voluminoso que los homólogos silvestres. La diferencia entre árboles cultivados y silvestres es casi nula, con la excepción que los silvestres son de tallos anchos y de mayor edad, con hábitos erectos por la competencia de luz. Los árboles cultivados en Petén son materiales genéticos que han sido recientemente extraídos de poblaciones silvestres o bien son el remanente dejado después de descombrar el bosque. (4).

B) Bosque muy húmedo Subtropical Cálido (Bmh-S©).

Esta zona de vida ocupa el 37.41% de la superficie del país, cubriendo una franja en la Costa del Pacífico y en el Norte de Alta Verapaz, Quiché y una parte de Huehuetenango, así como parte del sur de Petén. En Petén se ha encontrado al zapote juntamente con otras especies como Virola spp., Ceiba pentrandra, Terminalia amazonia, Pinus caribea, Brosimum alicastrum, y otras más. En Alta Verapaz se ha encontrado desde los 700 metros sobre el nivel del mar, con alturas de 40 metros y 80 cms de DAP, en estado silvestre. Estos árboles en estado silvestre se caracterizan por sus grandes alturas de hasta 50 metros y frutos pequeños cosechados en el mes de noviembre.

En Izabal se pueden encontrar árboles de zapote, principalmente en estado silvestre, aunque existen especímenes silvestres en áreas como el Sur-oeste del lago de Izabal. El zapote requiere mayor humedad para su desarrollo y suelos profundos, lo que determina probablemente su escasez en la parte norte de Petén y su gran cantidad en Izabal y el sur de Petén.

La Costa Sur o Franja del Pacífico posee los mejores suelos del país, los cuales son dedicados a cultivos de exportación como caña de azúcar y ganadería. El zapote en estado silvestre casi no existe aquí, mientras que el cultivado se encuentra asociado a comunidades humanas, en donde crece ya sea a nivel de huerto familiar, en los potreros, como sombra del cultivo de café o bien en algunos casos como plantación comercial. Esta región es donde se produce la mayor cantidad de zapote, ya sea para el requerimiento nacional, dada la cercanía de los mercados de las principales ciudades del Sur o bien la ciudad capital o para exportación a la República de México, o como pulpa congelada a través de las empresas que se dedican a esta actividad. El zapote es una de las frutas más frecuentes e importantes en la región costera del Pacífico, con árboles de 9 a 35 metros de altura y 21 a 144 cms de DAP, frutos relativamente

grandes, y mucha semilla en sus interiores (1 a 3) en comparación a otros frutos de otras partes del país.

Los zapotes silvestres del Petén son los que presentan el fruto más grande con semillas pequeñas, con pesos de 617 g. para el fruto y entre 4.5 a 10.4 g. para las semillas. Le sigue en peso de fruto los materiales cultivados en Petén (514 gms) con un peso de semilla ligeramente mayor (2.4 – 14.3 gms). Para el bosque muy húmedo subtropical cálido y la vertiente del Pacífico, los frutos son ligeramente más pequeños y menos pesados que los de Petén (452 g. en promedio, de una muestra de 151 árboles) (Azurdía, Martínez, Ayala, 1996).

C) Bosque húmedo Subtropical templado (Bh-S(t)).

Esta zona corresponde a localidades ubicadas entre 700 a 1,700 msnm, caracterizada por tener una época de lluvia bien marcada de mayo a noviembre (De la Cruz, 1982). En esta zona, los árboles de zapote crecen junto a árboles de injerto en Quiché. En el departamento anterior, los árboles de zapote tienen de 7.46 a 21.50 metros de altura, de 14 a 117 cm de DAP, frutos con hasta 501 g de peso, con una semilla. Posiblemente por el hecho de que esta región representa el límite en el cual el zapote crece cultivado se observaron pocos ejemplares en las localidades, a la vez que el fruto resultó ser más pequeño y menos pesado en comparación con los ejemplares presentes en las otras zonas de vida. (4).

D) Monte Espinoso Subtropical (Me-S).

Esta región comprende parte de los departamentos de Zacapa, Chiquimula y El Progreso, con escasa precipitación pluvial y alta tasa de evapotranspiración. El área utilizada con agricultura de cultivos hortícolas e industriales como sandía, melón, pepino, tomate o tabaco. Las sapotáceas frutales, principalmente el zapote, son frecuentes a lo largo de los ríos que corren hacia el litoral del Atlántico, por lo que el requerimiento de humedad para zapote se suple mediante el uso de áreas de regadío. Los inicios de las riberas de los ríos que desembocan en el Golfo de Honduras y pertenecen al monte espinoso subtropical y el Bosque Seco Subtropical, poseen ecotonos o hasta dos zonas de vida como en el caso del Monte Espinoso Subtropical y el Bosque Seco Subtropical. Esto sucede en las partes altas de los ríos Hato y la Conquista de los departamentos de El Progreso y Chiquimula, respectivamente, donde los pinos macho (Pinus oocarpa), y los encinos (Quercus sp.) se encuentran con los árboles de zapote. En Zacapa, se encontraron árboles con 8 a 25 metros de altura; peso del fruto, 281 a 790 g. con frutos con una semilla (37% de los frutos), dos semillas (53%) y tres semillas (9%). Es notorio que en esta región se observan frutos relativamente grandes, pudiendo deberse a las condiciones microclimáticas favorables en las que crecen ya que la alta temperatura y humedad adecuadas son elementos necesarios para el desarrollo de dicha especie.

Petén es un enorme reservorio de sapotáceas para Guatemala, siendo esta una rica reserva natural, poseedora de alta diversidad genética, la cual puede ser reutilizada en el futuro en el mejoramiento de los materiales que de una u otra manera se están cultivando en otras regiones del país como lo es el zapote en la Costa Sur y el chicozapote en el Oriente de Guatemala. Desafortunadamente, mucha de la población petenera no reconoce la importancia que tiene la conservación de dicha especie, las cuales van desapareciendo en áreas considerables debido a la deforestación masiva que están haciendo con fines de desarrollar agricultura, dando como resultado áreas en las cuales en la actualidad solamente se observa el material original del suelo, con algunas excepciones donde se conservan algunos especímenes donde se elimina el estrato arbóreo (4).

Para el caso de los materiales genéticos cultivados, al presente no se observa un peligro inminente de erosión genética, debido a que los mismos son sumamente abundantes en las diferentes comunidades humanas, en las que están presentes, a la par que su desarrollo es propiciado debido al valor comercial que representan sus frutos, el cual tiende a incrementarse como consecuencia de la demanda creciente que existe tanto a nivel nacional como internacional. El peligro que puede obtenerse en el futuro inmediato no es por la destrucción de los diferentes tipos de materiales genéticos que se tienen en la actualidad, sino por el hecho de que esta especie se está incrementando considerablemente bajo el sistema de monocultivo en extensiones grandes, por lo que en dichas plantaciones se requiera de materiales uniformes (reducción de la variabilidad genética), para suplir la demanda internacional exigente en determinados tipos de frutos. Otro aspecto a considerar es el hecho de que a medida que el zapote se convierta en un cultivo comercial, se puede dar la tendencia a importar materiales genéticos mejorados de la Florida, EE.UU, por lo cual de nuevo se puede enfrentar un proceso de relegamiento de la amplia diversidad genética presente en el país.

3.1.2.7. Cultivo, Producción y Comercialización de zapote.

El zapote es nativo de América tropical y se encuentra ampliamente distribuido en los trópicos. Crece grandemente en diversas partes de India y Africa, Indias Orientales, Filipinas, Malasia (donde se le llama "Ciku"), América Tropical y Sur de Florida en Estados Unidos.

Existen algunos clones que son recomendados para plantación. El zapote ha sido ampliamente propagado por semilla, por polinización cruzada, con gran variación en forma, tamaño y color de pulpa. Muchos árboles semilleros producen alta calidad de frutos, pero ha sido limitada la selección de tipos superiores por propagación vegetativa. Los dos mejores cultivares en el presente son "MAGANA" y "PANTIN"(ó Key West) (Internet, Junio de 1,997).

Además en Malasia existen dos clones populares que difieren en formas del fruto, pulpa, color y sabor. Estos son: Masjid C62 Jantung Tanah, Malacca y Subang New C63 Ciku Village, Subang Selangor.

Según Internet (1,997), existen empresas como PC Garden's Worldwide Plant Seed Seedbank, que venden semillas de zapote a US\$90.00 las 200 semillas.

A) Requerimiento de suelo y humedad.

El zapote crece bien en suelos aluviales y arcillosos con alto contenido de materia orgánica y no crece bien en suelos pobremente drenados. Prospera bien en bosques lluviosos tropicales ya que esta adaptado en zonas humedad. Rinde mejor bajo condiciones de irrigación y es altamente tolerante a la sombra.

B) Propagación.

El zapote es usualmente propagado por semilla y vegetativamente. El principal método de reproducción vegetativa es la injertación. La distancia de plantación es de 9 mt. x 9 mt. Y los agujeros son de 60 cm x 60 cm de profundidad. Gallinaza es incorporada a cada agujero de plantación antes del trasplante.

Las plántulas son llevadas y establecidas en el campo al principiar las lluvias. Las plántulas de zapote requieren de sombra antes de ser trasplantado ya que no pueden soportar el estrés durante el trasplante.

C) Fertilización.

Para los primeros tres años se aplica N:P:K en proporción de 15:15:15; después de los cuatro años se aplica un fertilizante N:P:K:Mg en proporción de 12:12:17:2

D) Deshierbe.

Los árboles son desmalezados en forma circular en intervalos de tres meses, especialmente cuando están jóvenes para prevenir la sofocación por las malezas.

E) Podas.

Las podas son necesarias para remover las ramas muertas o enfermas y para proveer la aereación necesaria a la planta.

F) Plagas y Enfermedades.

- Moscas de la Fruta (Dacus sp.), es muy seria en muchas regiones. Las larvas se alimentan dentro del fruto, volviéndolo inútil para su consumo. Se recomiendan medidas de control con higiene en el campo, fumigando con insecticida.
- El escarabajo de la hoja (Anomala sp, Apognia sp., Adoretus sp.) que cortan y comen de las hojas. Su control radica en la aplicación con insecticida.
- La enfermedad Rosa (Corticium salmonicolor), resultado de la coloración rosa por un hongo en las hojas, hasta su muerte. El control consiste en remover y quemar las ramas afectadas y fumigar con oxiclورو de cobre.
- Mancha mohosa (Aithaloderma setosum), que provoca un hongo de color negro, afectando las hojas, ramas y frutos. El control es por fumigación a las partes afectadas, con fungicidas
- Añubio del zapote (Marasmitus sp.) resultado de un hongo hiloso que afecta las ramas, hojas y la corteza.

G) Cosecha.

Los frutos son producidos frecuentemente a intervalos entre un año y cerca de cuatro meses para madurar después de la floración. Al madurar, la piel exterior se alisa y se torna pardoamarillenta. La maduración del fruto del zapote desprende un polvo marrón de su piel. El fruto puede cosecharse con el pedúnculo mientras esté verde y firme. Si no son cosechados y el fruto madura, este cae a tierra.

3.1.2.8. Información Nutricional.

Según Paíz (17) los componentes de 100 gramos de una porción comestible posee las cantidades que se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1.

Energía alimenticia	82 calorías
Humedad	79.1 gramos
Proteína	0.4 gramos
Grasa o aceites	0.8 gramos
Carbohidratos	18.4 gramos
Fibras	0.9 gramos
Cenizas	0.4 gramos
Calcio	16 miligramos
Fósforo	4 miligramos
Sodio	21 miligramos
Potasio	13 miligramos
Beta-Caroteno	130 microgramos
Vitamina B1	0.01 miligramos
Vitamina C	6.5 miligramos

3.1.2.9. Tipos de consumo.

El zapote luego de su cosecha puede ser consumido de diversas formas, dependiendo del mercado y del proceso de industrialización que se le dé. En Malasia, se industrializa y exporta:

- Enlatado y embotellado
- Jugo de zapote concentrado (jugo de fruta tropical)
- Rebanadas de dulce de zapote. Usado para la preparación de combinados de frutas
- En fresco

Según Utrera y Martínez (23) el zapote es usualmente comido en fresco. El mesocarpio puede ser directamente ingerida desde la fruta por el corte longitudinal y removiendo la semilla. El fruto es excelente para usarlo como helados, sorbetes, gelatinas y conservas. Deliciosas bebidas pueden ser preparadas en batidos, con la pulpa. La semilla puede ser molida para preparar chocolate amargo.

El zapote es una fruta de importancia no sólo por su uso casero, sino por su uso comercial limitado. Un considerable esfuerzo en el desarrollo de su mercado podría ser necesario antes de producir grandes cantidades, produciendo grandes ganancias si se vende fuera de los lugares de producción, como por ejemplo el condado de Dade en Florida, Estados Unidos

3.1.2.10. Comercialización y Mercadeo.

A nivel regional, en Guatemala, el zapote sólo se consume en fresco y su industrialización es nula, siendo su exportación mínima hacia México y Honduras, en estado de fruto maduro.

En Malasia se ha producido el zapote con buenos resultados. En el cuadro 2, se presenta una tabla con información de exportaciones de los frutos frescos y procesados, para los años de 1987 a 1995.

Gran parte de la producción de Guatemala es adquirida por comerciantes que viajan por el país comprando la cosecha entera de cada árbol. La mayor parte es vendida a nivel local o nacional, aunque hay reportes extraoficiales de exportación de Honduras hacia Guatemala y de Guatemala a México. Además Guatemala y Honduras tienen, respectivamente seis y dos fábricas exportando pulpa congelada a los Estados Unidos.

Según Paíz (17) el comercio está caracterizado por precios altos al consumidor (entre US\$ 0.25 a 0.50 por fruto) y precios muy bajos (US\$ 10 a 20 por cosecha entera de más de 500 frutos). Las distancias al mercado y calidad del fruto influyen mucho en los precios al productor. Productores que pueden llevar su fruto directamente al mercado logran precios bastante buenos. En el cuadro 2, se dan a conocer datos sobre exportaciones en diferentes años de semilla fresca y procesada.

Cuadro 2. Comercialización del zapote como fruta fresca y procesada en Malasia para el período 1987 a 1994.

AÑO	FRUTA FRESCA	FRUTA PROCESADA	TOTAL (Miles toneladas)
1987	113,454.3	70,202.9	183,657.2
1988	145,592.1	61,519.2	207,111.3
1989	169,532.6	64,797.6	234,330.2
1990	181,081.3	91,390.5	272,471.8
1991	202,336.	101,203.7	303,539.7
1992	211,094.7	910,211.9	1 121,306.6
1993	266,277.9	79,024.0	345,301.9
1994	258,200.2	78,920.4	337,120.6
1995	218,257.7	75,825.7	294,083.4

3.2. MARCO REFERENCIAL

3.2.1. REGIÓN SEMIÁRIDA DE GUATEMALA.

Según Paíz (17), la región semiárida de Guatemala, se puede considerar como aquella comprendida en el Monte Espinoso Subtropical y Bosque Seco Subtropical. Estas dos zonas de vida consideradas como provincia de humedad semiárida, tienen precipitaciones pluviales que van de 400 a 1,000 mm anuales, y la evaporación de la humedad es mayor que la cantidad de lluvia que cae. En la zona semiárida de Guatemala existen variados sistemas naturales y productivos típicos de la zona, tales como bosques espinosos en diferentes fases sucesionales utilizados para extraer leña, áreas intensamente deforestadas y utilizadas para agricultura bajo temporal o para pastoreo extensivo, huertos de árboles frutales con especies mayoritariamente nativas, en riberas de los arroyos y distritos estatales de riego.

Las tierras cultivadas en el valle intermonatano del río Hato en San Agustín Acasaguastlán, El Progreso, es un claro sistema de áreas irrigadas en las riberas de arroyos. Las aguas de los ríos Hato, Aguahiel y Timiluya son encausados en pequeñas tomas de riego, para regar caña, zacateras, cultivos anuales y árboles frutales.

Brownrigg, citado por Paíz (1994), indica que los huertos de árboles frutales han sido reportados como un sistema de uso del suelo entre las tecnologías nativas de Mesoamérica, los cuales realizaban en terraplenes, sistemas de irrigación, drenajes y terrazas, y concentrando en ellos una alta cantidad de especies útiles.

3.2.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ÁREA.

3.2.2.1. Ubicación y localización.

El área de estudio corresponde a las tierras irrigadas o no, pero cultivadas con frutales nativos e introducidos ubicados en la cuenca del río Hato. Esta área se extiende desde la desembocadura del río Hato sobre el río Grande o Motagua hasta las comunidades de Ixcanal, Timiluya y Chanrayo sobre los tributarios Aguahiel, Timiluya y Hato respectivamente.

Toda el área pertenece política y administrativamente al municipio de San Agustín Acasaguastlán, del departamento de el Progreso.

LATITUD NORTE. 14 grados 54 minutos 12 segundos
 LONGITUD OESTE..... 89 grados 56 minutos 48 segundos
 ALTITUD..... 242 m.s.n.m. a 400 m.s.n.m. (aproximadamente a la altura del poblado de Puerta de Golpe)

3.2.2.2. Características climáticas.

Según Paíz (17) las estaciones meteorológicas más cercanas al área irrigada (ubicadas en Puente Orellana y Rancho Fegua, del municipio de San Agustín Acasaguastlán) sólo proporcionan datos de precipitación, reportando en promedio de 530 a 725 mm de lluvia anuales. La distribución de la precipitación no es uniforme, observándose una concentración de la misma en los meses de mayo a octubre.

Pensamiento (18) establece que los datos de temperatura y humedad relativa corresponden a los obtenidos en la estación Morazán, ubicada en el municipio de Morazán a una altitud de 370 msnm, presentando temperaturas medias anuales de 27 a 28 grados centígrados, con máximas de 35 y mínimas de 18.9 grados centígrados, y una humedad relativa anual de 64%.

3.2.2.3. Zonas de Vida:

Según la clasificación de zonas de vida de la república de Guatemala, presentado por De la Cruz (1982), el área de estudio se localiza dentro de una asociación edáfica húmeda que se ubica dentro de las zonas de vida Monte Espinoso Subtropical y Bosque Seco Subtropical.

3.2.2.4. Hidrografía:

El área de frutales existe en todas las subcuencas de manera representativa, existiendo algunas áreas que no poseen zapotes, lo que permite diferenciar la parte baja y la alta del área en estudio.

La cuenca del río Hato se divide en tres subcuencas, la subcuenca del río Aguahiel, la subcuenca del río Timiluya y la subcuenca del río Hato (Fig.1)

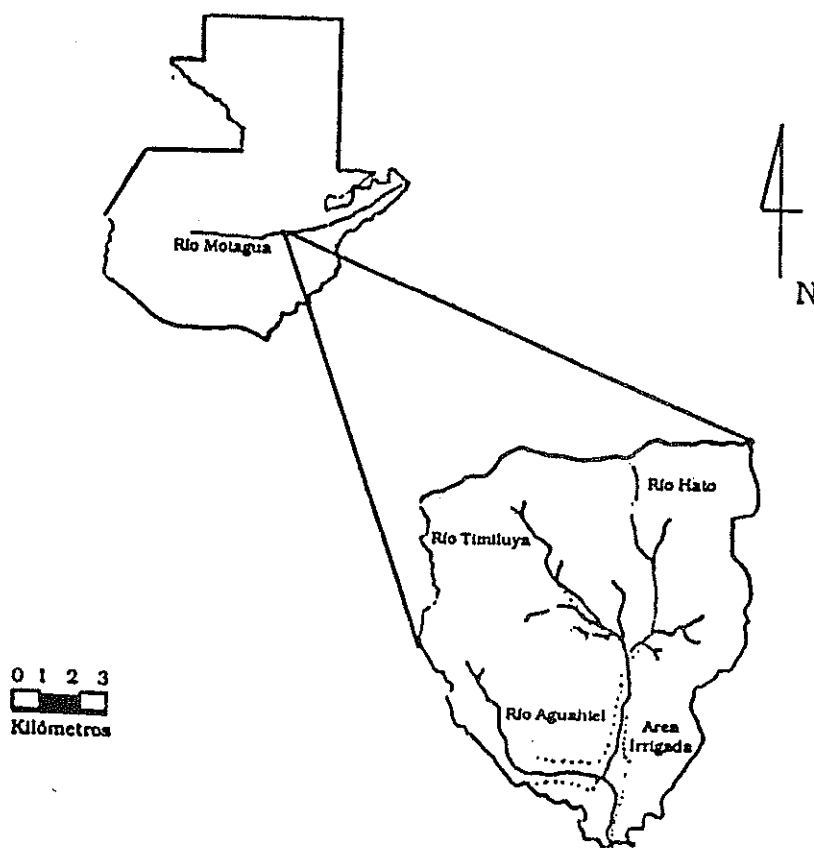


Figura 1. Tierras regables en la cenca del río Hato y su ubicación.1,998.

3.2.2.5. Suelos.

Los suelos del área se originaron en su mayoría en el período Cuaternario, formados por aluviones recientes depositados por los ríos que drenan el área. En menor proporción se originan de material no diferenciado del Paleozoico inferior. Pertenecen a la región fisiográfica de las Tierras Altas Cristalinas, genéticamente formadas por esquistos y roca serpentina no intemperizada que contiene talcos y otros minerales que en la mayoría de los casos son de color verde grisáceo. Los floramientos son comunes y más del 25% en algunas áreas es roca desnuda. Son suelos con susceptibilidad a la erosión hídrica principalmente en la parte alta de la cuenca.

Pensamiento (18) establece que sólo una pequeña porción de tierras ubicadas en la parte superior del área de estudio posee suelos pertenecientes a la serie Marajuma, los cuales son profundos y desarrollados sobre materiales sedimentarios y metamórficos. Además existen grandes extensiones de la parte alta que poseen suelos pertenecientes a la serie Acasaguastlán, los cuales son poco profundos de color café rojizo oscuro, franco arcilloso desarrollados sobre serpentina. La parte alta ocupa un relieve de ondulado a inclinado, teniendo la mayoría pendientes entre 15 a 30% de inclinación, existiendo lugares con más del 50% de pendiente.

Los suelos pertenecen a la unidad fisiográfica del Valle Intermontano, que ocupa una extensión de 6.2 kilómetros cuadrados, con pendientes de 0 a 8% y con un uso actual de cultivos anuales (maíz, tabaco, y tomate), caña de azúcar y frutales. Estos suelos se encuentran principalmente en la parte baja de la cuenca del río Hato.

3.2.2.5. Flora.

En la parte alta de la cuenca, alejada de las riberas del río, existe un bosque mixto (Pensamiento 1987). Este bosque posee pino (*Pinus oocarpa*) y encino (*Quercus* sp.) con un sotobosque constituido por nance (*Birsonima crassifolia*) y sare (*Acacia* sp.). Este tipo de bosque es usado con fines energéticos de leña y madera para construcción.

En la parte baja y en la zona limítrofe de la parte alta y baja se reportan otras especies de hoja ancha como: aguacate (*Persea americana* mill), caña de azúcar (*Saccharum officinarum*), limón (*Citrus limon*), mango (*Mangifera indica*). (Pensamiento, 1987).

Pensamiento (1,1987), reporta que existe zapote (*Pouteria sapota*) formando una faja en toda la rivera del río Timiluya y río Hato.

3.2.2.6. Aspectos Históricos del Area

Según Paiz (17), el medio geofísico de la actual área de estudio en la cuenca del río Hato, ha sido aprovechada por grupos humanos desde mucho antes de la época Colonial. Estudios arqueológicos y etnográficos señalan que Pocom Mayas o Pokom, uno de los grupos más antiguos de la familia indígena Mayense, poblaron el área de San Agustín Acasaguastlán, desde el periodo Clásico Tardío como en Guaytán y en el Postclásico de la cultura maya, como el Cimiento (siglos IV al IX y del XII al XVI de la era cristiana). Además se reporta la presencia de una población de habla Pipil durante la primera parte del siglo XVI, creyéndose que los Pipiles, un grupo indígena mexicano, conquistaron a los Pokom, prevaleciendo lingüísticamente el Nahual Pipil.

Los españoles conquistaron el Valle Medio del Motagua por el año de 1,530, formando muchos pueblos donde previamente existían comunidades indígenas y fundaron haciendas de ganado y cañales, pero la mayoría se dedicó al cultivo de granos, hortalizas y frutas.

Según el Instituto Geográfico Nacional (12) se desconoce con exactitud la antigüedad del uso del agua para riego, pero en 1,769 Cortez y Larraz, y Fuentes y Guzmán, reportan agricultura en estas tierras, mencionando como plantas principales el cacao, piñuelas, cocos, zapotes, plátanos, vainilla, zarzaparrilla, brasil y guayacan.

Paiz (17) sin embargo los huertos de árboles frutales pudieron originarse mucho antes de la época colonial, tanto por ser considerado un sistema nativo de uso del suelo y por las referencias etnográficas del área como por la alta concentración de especies nativas actuales que la literatura señala fueron objeto de manipulación por Mayas.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General.

4.1.1. **Determinar la estructura genética y las tasas de cruzamiento de la población de Pouteria sapota de la parte baja de la cuenca del río Hato, en San Agustín Acasaguastlán, El Progreso.**

4.2. Objetivos específicos.

4.2.1 **Determinación de la diversidad genética dentro de la población y entre familias de zapote (Pouteria sapota), usando marcadores isoenzimáticos.**

4.2.2. **Medir la heterocigocidad de la generación filial uno (semillas), en relación con la heterocigocidad paternal.**

4.2.3. **Definir una metodología de muestreo para sapotaceas.**

V. HIPOTESIS

NULA

La población de zapote (Pouteria sapota) estudiada presenta el comportamiento de una especie alógama.

ALTERNATIVA

La variabilidad genética intrapoblacional (dentro de la población), observada entre las plantas de zapote (Pouteria sapota) es debida al alto entrecruzamiento de la población de la parte baja de la cuenca del río Hato, en San Agustín Acasaguastlan el Progreso.

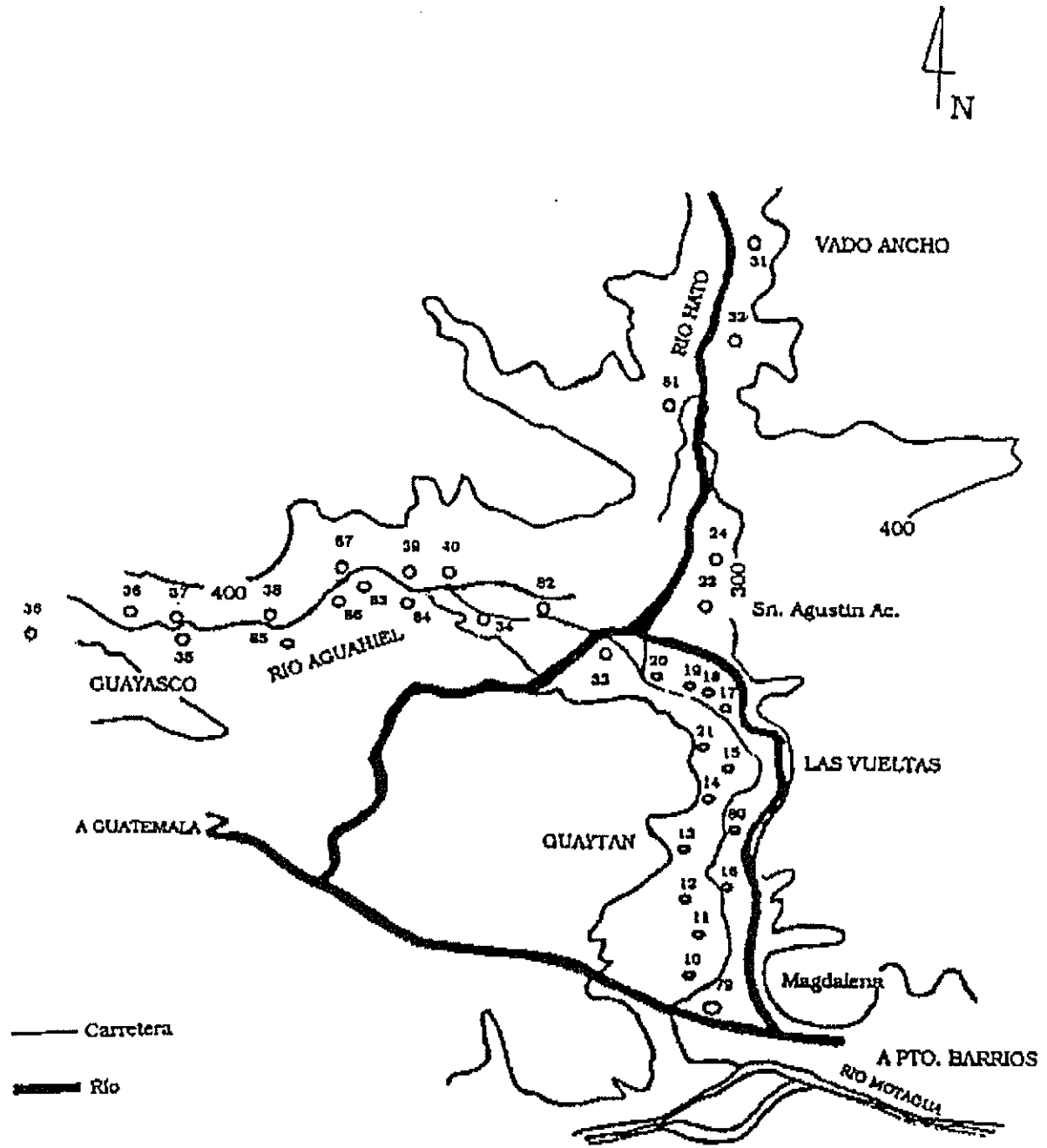
VI. METODOLOGIA

6.1. ANTECEDENTES ACERCA DEL MATERIAL VEGETAL.

En 1,996 Azurdia, Martinez, Ayala, realizaron un estudio de caracterización morfológica de zapote (Pouteria sapota) en la cuenca del río Hato de San Agustín Acasaguastlán El Progreso, sentaron las bases para la realización de estudio de caracterización utilizando isoenzimas. Se muestrearón en el estudio de caracterización morfológica, los lugares que poseían zapote (Pouteria sapota) ubicados en toda la extensión territorial de la cuenca del río Hato y sus ríos afluentes, Timiluya, Aguahiel y Hato, en sus partes alta y baja. De todos ellos se seleccionaron 80 árboles, con distancia entre ellos de 300 metros aproximadamente, Los árboles seleccionados se identificarón con números de pintura en sus fustes, y de estos fueron extraídos 20 frutos, en los meses de noviembre y diciembre de 1996. Estos frutos fuerón caracterizados y fuerón colocadas sus semillas en semillero y luego trasplantados a bolsas de polietileno negro. El total de plantas es entre 750 plantas, del total de 38 entradas. De cada entrada se tomo 10 plántulas representativas para su estudio con los marcadores isoenzimáticos. En total se utilizarón 380 plántulas. Estos materiales están identificados con el prefijo PRO (referido a El Progreso) y un número de identificación, que va desde, PRO-9 al PRO-40, incluyendo los árboles enumerados de 79 al 87. Las poblaciones de la parte alta y de la parte baja están delimitadas geográficamente por una quebrada que los separa a la altura del poblado de Chanrayo aproximadamente.

6.2. CARACTERIZACIÓN in situ:

De diciembre 1,995, a Enero 1,996 un total de 38 árboles fuerón seleccionados y caracterizados. Cada árbol estaba cerca de 300 metros de distancia. El descriptor utilizado fué creado por Azurdia et al (3), el cual se basa en los rasgos morfológicos. Los datos obtenidos fuerón usados para hacer un dendrograma. En la Figura 2 se muestra un mapa en el cual se localiza cada uno de los árboles de los cuales se recolectarón frutos.



Escala: 1:50,000

Figura 2. Mapa de localización de árboles en los que se recolectarán frutos, ubicados en la cuenca del Río Hato San Agustín Acasaguastlán El Progreso. 1,998.

6.3. COLECTA Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

Cada 15 días fueron llevadas 100 plantas de la generación 1, proveniente de 10 árboles paderes de zapote (*Pouteria sapota*), de la finca Sabana Grande, Escuintla, al invernadero de vidrio de la Facultad de Agronomía, USAC, campus central, para análisis de electroforesis. Estos árboles están enumerados de PRO 9 a PRO 40, incluyendo los árboles enumerados del 79 al 87, dando un total de 38 árboles.

Para iniciar el proceso se cortó brotes tiernos de cada una de las 100 plantas, los que se transportarán al laboratorio en frascos de cristal debidamente identificados, para evitar la pérdida de humedad de las muestras. Se cortó inmediatamente el tejido en pequeños fragmentos, los cuales servirán para la obtención del extracto vegetal. En el caso de que necesitáramos guardar las muestras se mantuvieron en un congelador o hielera, para mantener la turgencia de las hojas cortadas.

6.4. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO VEGETAL (muestra).

Se tomaron de 1.0 a 1.5 mg de hoja tierna recién cortada y se homogenizaron con 850 microlitros de buffer de extracción en mortero frío. El buffer de extracción usado fue el siguiente:

- 0.1 M Tris-HCl, pH 7.5.....15 mL
- Tritón X-100.....2%
- Polyvinylpolypyrrolidone.....5%
- Sucrosa Ultrapura.....5%
- 2- Mercaptoetanol.....2%

Luego de que el tejido se encontraba bien homogenizado con el buffer se trasladó a un tubo de reacción frío debidamente identificado, el cual se centrifugó durante 10 a 15 minutos en frío. Se tomaron 350 microlitros del sobrenadante de la muestra, el cual se trasladó a otro tubo de reacción en frío, al cual previamente se le añadió 50 microlitros de glicerina con la finalidad de agregar peso a la muestra. Al llegar a esta fase, las muestras estuvieron listas para dar inicio a la electroforesis. Estas muestras fueron mantenidas en congelación hasta tres días máximo.

6.5. PREPARACIÓN DE LAS GELES DE POLIACRILAMIDA.

El sistema que se utilizó fue un sistema discontinuo, consistente en una gel de resolución con 12% de acrilamida y una gel de concentración al 4% de acrilamida, con una modificación de una tercera gel con un pH de 8.3. Las soluciones madres para la preparación de las geles y amortiguadores se presentan en el Anexo 1.

6.6. CARGADO DE LA MUESTRA.

Cuando en el aparato de electroforesis estuvieron colocadas las geles de concentración ya polimerizadas, se procedió a añadir el Buffer de Electrodo frío. Inmediatamente después se depositaron entre 40 a 100 microlitros del extracto vegetal en cada pozo para geles grandes de 20 x 16 cm. Esto se realizó con una micropipeta de 20 microlitros.

6.7. REALIZACIÓN DE LA CORRIDA ELECTROFORÉTICA.

La corrida electroforética se realizó dentro de un ambiente frío. El aparato de electroforesis estuvo dentro de un refrigerador (a 4 grados centígrados). Además, a éste aparato se le conectó un sistema de recirculación de agua fría. Se corrió haciendo uso de una carga eléctrica de 200 voltios durante 4 horas proveniente de una fuente de poder.

6.8. TINCIÓN Y REVELACIÓN DE ENZIMAS

Durante el transcurso de la corrida, se pesó los reactivos para teñir dos enzimas, debido a que sólo se corrieron dos geles en cada ensayo. Inmediatamente después de finalizarse el tiempo de corrida, se procedió a apagar la fuente de poder y el recirculador, y se separaron las geles en forma simultánea. Seguidamente se diluyeron los reactivos para formar el colorante específico para la enzima que se quiera revelar. Para identificar la posición u orden de las muestras se le realizó a la gel un corte en la esquina inferior izquierda. Para teñir se utilizaron 50 ml para cada enzima en cada gel.

6.9. SISTEMAS ENZIMÁTICOS QUE SE EVALUARON.

Se estudiaron los siguientes sistemas enzimáticos:

- Esterasa (EST)
- Alcohol Deshidrogenasa (ADH)
- Acido Shikímico deshidrogenasa (SKDH)
- Peroxidasa (PER)

Las soluciones reveladoras de estas enzimas se describen en el Anexo 2.

6.10. ANALISIS DE ISOENZIMA.

Cuatro enzimas (EST, PRX, SKDH, ADH) previamente determinadas como polimórficas Nufio (16), fueron usadas para una estimación o cálculo de los sistemas de apareamiento y parámetros de la estructura genética.

6.11. CÁLCULOS DE LOS SISTEMAS DE APAREAMIENTO.

La tasa de entrecruzamiento multilocular t_m , fue calculada con el programa MLT, Ritland (19) que se basa en un modelo multilocular. El genotipo materno más probable de cada familia, fue inferido por el método de Allard, Allard (1). Este método consiste en determinar los genes maternos, en base al genotipo obtenido en la generación filial I (F1). Esto se realizó por la mayor frecuencia que tiene un alelo en el genotipo de la F1. La tasa de entrecruzamiento unilocular (t_s) que difiere de la multilocular t_m , en que calcula el entrecruzamiento por un locus y no por varios, fue estimado por el método de Newton-Raphson.

Se calculó también la Heterozigosidad de la generación filial I (F1). Se determinaron los valores de la heterozigosidad observada (H obs) y la heterozigosidad esperada (H esp) y con ellas el índice de fijación (F) usando la fórmula:

$$F = 1 - (H_{obs} / H_{esp})$$

6.12. ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA.

Se usó las estadísticas de diversidad genética de Nei, Nei (15) para medir el total de diversidad genética (Ht) de los datos de isoenzimas, así como las diferencias intra (Hs) e inter poblacionales (Dst). Las distancias de Nei's (D) fueron usadas para computar las distancias del par genético discreto. Kephart (13) establece un dendrograma que fue construido a partir de las distancias genéticas usando el método de los grupos de pares descargados.

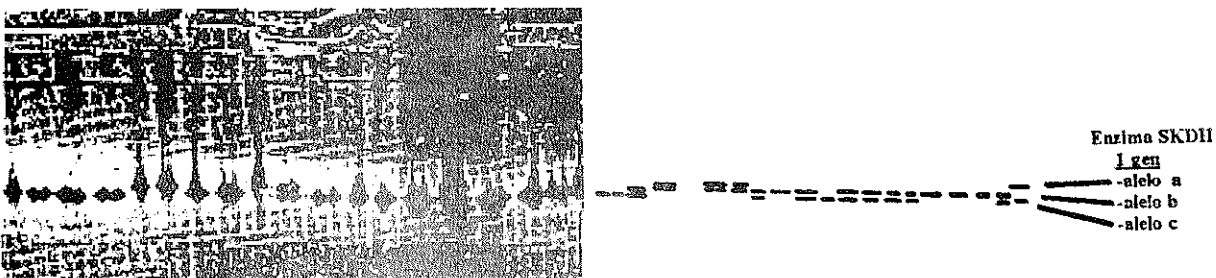
VII. RESULTADOS

7.1. ISOENZIMAS POLIMORFICOS:

Cuatro isoenzimas fueron comparadas (SKDH, ADH, PRX, y EST), pero solo SKDH y EST produjeron resultados consistentes. En el caso de EST, dos loci fueron expresados, cada isoenzima fue designada por un número referente a su posición relativa en la gel, con el número más bajo correspondiente a la línea emigrante de la corriente eléctrica (EST1, EST2). Los alelos dentro de loci fueron designados de la misma manera. Esterasa es una isoenzima polimórfica porque esta genero 9 bandas altas polimórficas reproducibles. (Nufio, 1996). Sin embargo, su interpretación genética es difícil.

Los resultados mostrados en la Figura 3. indican que para esterasa, en la región más catodal dos genes pueden ser identificados, cada uno de ellos con dos alelos. SKDH muestra tres bandas muy bien identificadas las cuales indican que existen tres alelos para un gen.

Enzima A: SKDH



Enzima B: EST

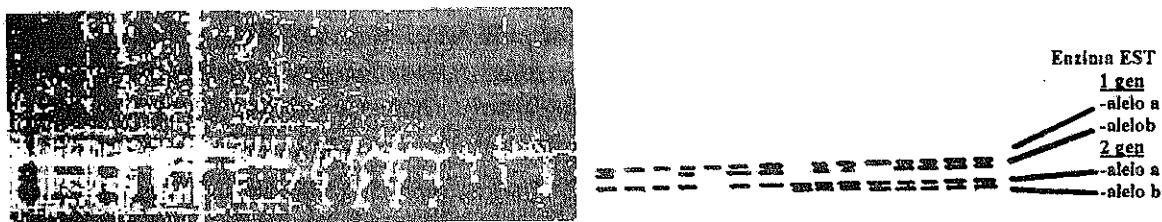


Figura 3. Alelos de genes, revelados en geles de acrilamida.

En la enzima A, se observa un gen con tres alelos

En la enzima B. Se observan dos genes con dos alelos.

Estos resultados indican que esterasa es una enzima monomérica con dos genes y dos alelos la cual mostró alta resolución y consistencia, así como la enzima SKDH, que es monomérica con tres alelos mostrando también alta resolución y consistencia. Las otras dos enzimas (PRX, ADH), no fueron consistentes, entonces se decidió usar solo los datos de SKDH y EST para análisis estadísticos.

7.2. TASAS DE CRUZAMIENTO:

Según Azurdia (2) la Tasa de cruzamiento basada en multilocus se calculó para las 38 familias en la población más baja, la cual fue de 0.865 y el cálculo basado en un sólo locus fué de 0.854 (Cuadro 1). Como en otros estudios recientes en otras especies, el cálculo multilocus es sustancialmente más grande que el valor total del cálculo basado en un locus.

Allard (1) establece comparaciones de rangos de autocruces obtenidos por métodos multilocus y unilocular, es usado para hacer inferencias acerca de las familias. En este estudio el rango estimado por el método multilocus en la población más baja los resultados son 13.5% y 14.6%. La diferencia de magnitud entre multilocus con el dato obtenido por el método de cruzamiento unilocular refleja apareamiento consanguíneo.

Cuadro 1. Cálculo de unilocus y multilocus en la tasa de autocruces (mt) para tres loci en dos poblaciones de zapote (Pouteria sapota) en San Agustín Acasaguastlán, El Progreso, Guatemala, C.A.

mt: tasa de cruzamiento

Población	(mt) Multi- locus	(mt) uni- locus	tasa de Autocruza	No. Familias	Descendencia (F1)
Parte Baja	0.867	0.854	13.5%--14.5%	38	380

Como se anotó previamente, Paíz (17) establece que antes de estos resultados nada había sido reportado en cuanto a polinización o polinizadores en (Pouteria sapota). Según Weeden y Gottlieb (25) las flores de (Pouteria sapota) son bisexuales y el estilo es usualmente forzado en el capullo y flor abierta, lo que puede promover polinización abierta. Ha sido reportado que la densidad de plantas en floración es un factor importante determinante en el rango de cruces en especies de árboles principalmente en los bosques. Por ejemplo en Cavanellisia, Ceiba y Quarabea en el bosque de Panama, el rango de autocruce es efectivamente asociado con la densidad de árboles en flor Murawski y Hamrick (14). En nuestro estudio, no está completamente claro porque en la población baja donde la densidad es 65 árboles por hectárea y el rango de cruces es 0.867. Basado en estos resultados no hay razones para este comportamiento. No obstante, una probable explicación debe ser el efecto de factores ambientales como microhabitat, y disponibilidad de agentes polinizadores.

7.3. ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA POBLACIÓN.

La estructura genética de las poblaciones, con diversidad genética medidas como las frecuencias alélicas en loci polimórfico, la asociación genética entre loci y la diferenciación genética entre la población es determinada por el sistema de apareamiento de las especies. El zapote (*Pouteria sapota*) no es una excepción (Cuadro 2) como se esperaba en la población de la parte más baja, la que mostro alta tasa de cruzamiento (86.5%), tuvo la mayor diversidad genética total del loci polimórfico (H_t), y mayor diversidad genética dentro de la sub-población (H_s), y más baja diversidad genética entre poblaciones (D_{st}). Estos resultados estan de acuerdo con el conocimiento general acerca del papel jugado por los sistemas de apareamiento como determinantes ecológicos de estructura genética en la población de plantas (Weeden y Gottlieb, 1980). Este principio indica que la polinización cruzada reduce la subdivisión de la población y refuerza el movimiento del polen, por consiguiente aumenta el flujo de genes a larga distancia (alelos son compartidos ampliamente) y que previene de la diferenciación de poblaciones.

Cuadro 2. Tasas de cruzamiento (t_m) y componentes de diversidad genética en una población de (*Pouteria sapota*) en san Agustín Acasaguastlán, El Progreso.

Población	$t_m(\%)$	H_t	H_s	D_{st}	G_{st}	R_{st}
Más baja	86.7	0.52	0.46	0.06	0.12	0.13

t_m : rango de autocruce

H_t = Diversidad genética total de los loci polimorfico.

H_s = Diversidad genética dentro de la población.

D_{st} = Diversidad genética total entre poblaciones.

G_{st} = Coeficiente de diferenciación de genes.

R_{st} = Relación entre la diversidad genética dentro de la población y entre poblaciones.

7.4. RELACION ENTRE LAS DISTINTAS POBLACIONES:

Una forma gráfica de observar la relación existente entre las diferentes poblaciones de zapote (*Pouteria sapota*) es analizar el fenograma obtenido, por ejemplo, el árbol número 20 y 21, están muy relacionados genéticamente, encontrándose a muy corta distancia uno del otro, pueda ser que existió un cruzamiento entre ellos, al igual que en los árboles 12 y 13, a diferencia de los árboles 28 y 38, que genéticamente se encuentran muy relacionados, pero se encuentra a una larga distancia uno del otro, al igual que los árboles 10 y 86.

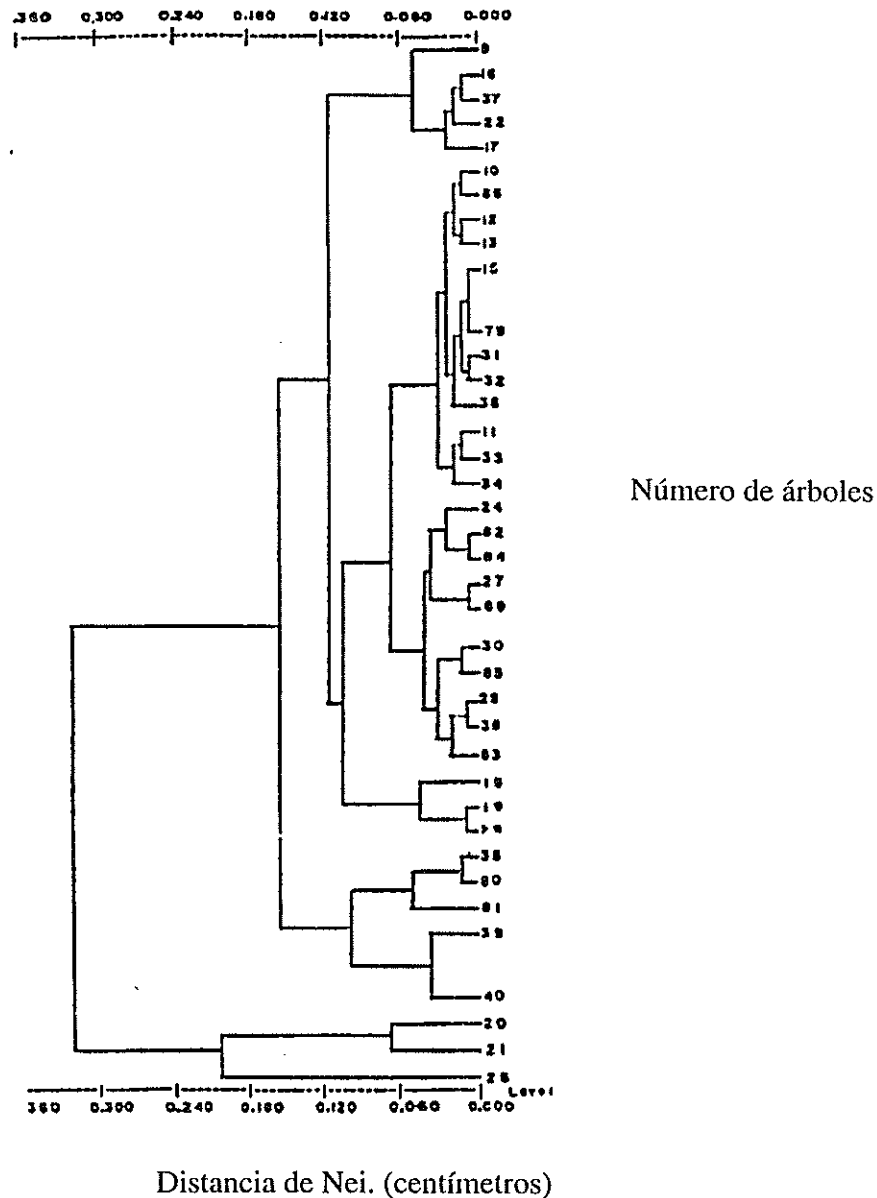


Figura 4. Fenograma obtenido de la población de zapote (*Pouteria sapota*), localizada en la parte baja de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán El Progreso. En donde se muestra el parentesco de cada uno de los individuos relacionados que constituyen la población.

Los diferentes casos que se muestran al comparar los datos del fenograma con el croquis donde se muestran la localización de cada uno de los árboles muestreados, nos señala que existen árboles a muy larga distancia uno del otro, pero genéticamente están muy relacionados, esto se explica con las dos hipótesis siguientes.

Primero: es posible que en este estudio pocos alelos han sido analizados, entonces, no hay suficiente información genética para mostrar claras diferencias genéticas en la población de zapote (Pouteria sapota), por lo que no se pudo encontrar separación. La polinización cruzada reduce la subdivisión de población, por lo que se refuerza el movimiento del polen, aumentando la probabilidad del flujo de genes de larga distancia lo que provendrá la diferenciación de población.

Segundo. La población de zapote (Pouteria sapota) está distribuida a lo largo del río Hato, desde las áreas altas. Sin embargo, frutas y semillas en la ribera pueden ser transportadas por corrientes del río a varias partes de la cuenca. Adicionalmente hay un continuo cambio de materiales genéticos hechos por el hombre (hay 12 aldeas pequeñas a lo largo de la ribera del área). En cualquier caso, ha habido traslado de información genética, distribuyéndose en toda el área baja de la cuenca del río Hato, en San Agustín Acasaguastlán El Progreso.

7.5. HETEROCIGOCIDAD MATERNAL Y DE LA PROGENIE.

Los cálculos de la heterocigocidad esperada y heterocigocidad observada en planta materna y su progenie se representan en la Cuadro 3. La heterocigocidad fue calculada de las frecuencias de genes asumiendo un apareamiento al azar de cada locus individual y a través de dos loci. Pero las frecuencias alélicas en las plantas maternas de zapote (Pouteria sapota) y progenie son similares y se inclina entre las dos generaciones en heterocigotes observados. También la heterocigocidad en la progenie de los árboles maternos de la población no están cerca de la heterocigocidad esperada. En comparación con el dato calculado del índice de fijación (F) no difiere marcadamente entre población materna y progenie. Los valores de F para los padres y la descendencia (F1), fueron significativamente diferentes de cero, que es el valor de F, esperado bajo condiciones de equilibrio Hardy y Weinberg.

Si bien otras explicaciones son posibles, muy comúnmente, los valores de F negativos son asociados con apareamiento disociativo y selección favoreciendo a los heterocigotes, mientras que los valores positivos se piensa que implican apareamiento asociativo o autofecundación.

Cuadro 3. Observación de heterocigotes (H), tasa de cruzamiento (t_m), y fijación de índices maternal, y progenie de zapote (Pouteria sapota) F, en San Agustín Acasaguastlán, El Progreso.

Población	Heterocigocidad		F	$t_m(\%)$
	esperada	observada		
Materna	0.51	0.77	-0.54	81
Progenie	0.53	0.67	-0.26	

VIII. CONCLUSIONES

1. La tasa de cruzamiento fué de 86%, indicando que esta especie preferentemente alógama.
2. Los valores obtenidos del cálculo del índice de fijación (F), para medir la heterocigosidad no son iguales a cero, ni difieren marcadamente entre plantas paternas y progenie siendo estos valores, maternal -0.54 y progenie -0.26 , dando como resultado un apareamiento disociativo y selección favoreciendo a los heterocigotes.
3. Mediante la determinación del entrecruzamiento que existe en Pouteria sapota, el cual es de 86%, se establecio que existe diversidad genética alta entre la progenie de un mismo árbol (una población), y menor diversidad genética entre árboles.

8.1. Recomendación:

Una metodología de muestreo recomendable para sapotaceas es, muestrear el mayor número de frutos dentro de un árbol, debido al alto entrecruzamiento que existe. De igual manera, es recomendable hacer un muestreo más intenso entre poblaciones, antes que incrementar el número de poblaciones.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. ALLARD, R.,W. 1995. Principios de fitogenética. Barcelona, España. Omega 498 p.
2. AZURDIA P., C. 1994. Breeding system and genetic structure in Phaseolus species Phaseolus coccineus, Phaseolus polyanthus, and Phaseolus lunatus in Guatemala. Davis, EE.UU., University of California. 138 p.
3. AZURDIA P., C.; MARTINEZ, E.; AYALA, H. 1995. Algunas sapotáceas de Petén Guatemala. Tikalia (Gua) 13(1): 33-45
4. _____. 1995. Distribución de variabilidad y riesgos de erosión genética de zapote (Pouteria sapota) en Guatemala. In: Lecturas en Recursos Fitogenéticos. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. IIA. p. 121-125.
5. _____. 1996. Distribución, variabilidad y riesgo de erosión genética de algunas sapotácea en Guatemala. Tikalia (Gua) 14(1): 83-107.
6. AZURDIA P., C.; FRANCO, E.; MEJIA, L. 1995. Biotecnología y biodiversidad. Tikalia (Gua) 13(2):7-24.
7. BIDWELL, R., G. 1979. Fisiología vegetal. México D.F., AGT. 784 p.
8. CASTAÑEDA, C.; AYALA, H. 1996. Vida en la zona semiárida de Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. Chac no.3. 36 p.
9. CRUZ, J.R. DE LA. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, INAFOR. 42 p.

10. FISCHER, L. 1975. Introducción a la cromatografía en gel. Trad. Albert Sandoval. México, D.F., ACT. Manual Moderno. 210 p.
11. GOLA, G.; NEGRI, G.; CAPPELETTI, C. 1965. Tratado de botánica. Trad. P. Font Quer. 3 ed. Barcelona, España, Labor. 1160 p.
12. GUATEMALA. INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL. 1980. Diccionario geográfico de Guatemala. Guatemala. v.3, p. 15
13. KEPHART, S. R. 1990. Starch gel electrophoresis of plant isoenzymes a comparative analysis of techniques. American Journal Botany. 77(5): 693 – 712.
14. MURASWSKI, D.A.; HAMRICK, J. L. 1992. Mating system and phenology of Ceiba Pentandra (Bombacaceae) in central Panama. J. Hered. 83:401-404.
15. NEI, M. 1973. Anaysis of gene diversity in subdivide population. Proc, Nat. Acad. Sci. EE.UU. 70(12): 3321-3323.

Citado por: Azurdia Pérez, C. A. 1998. Population dinamic in sapote. Guatemala Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. II.A. p. 38.
16. NUFIO, B. J. 1996. Determinación de la variabilidad genética de especies de (Pouteria sapota) sapotáceas, usando marcadores de isoenzimas. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 31p.
17. PAIZ, C. M. 1994. Caracterización de las áreas irrigadas en la cuanca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso. EPS-Investigación Inferencial. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 30p.

18. PENSAMIENTO, L. E. 1987. Diagnóstico general de la aldea Puerta Golpe, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso. EPS-Investigación Iferencial. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 31 p.
19. RITLAND, K. 1988. Multilocus estimation program; general information. Canada, University of Toronto, Departament of Botany. 240 p.
20. SMITHIES, O. 1955. Zone electrophoresis in the starch gels: group variation in the serum proteins of normal human adults. Biochem 641.
- Citado por: Azurdia Pérez, C.A. 1998. Genetic electrophoresis system. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. IIA. p. 60.
21. SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. 1990. Isoenzymes in plant biology. Advances in Plant Sciences Series. Dioscorides Press (EE.UU.) 4(1):268
22. STANDLEY, P.; WILLIAMS, L. 1966. Flora of Guatemala. Chicago, EE.UU., Chicago Natural History Museum. Fieldiana Botany v. 24. pte 8, nos. 1-2, p. 235-243.
23. UTRERA, G.A.; MARTINEZ, T. A. 1994. Caracterización "In Situ" de zapote (Pouteria sapota) (Jacq) Moore Stearm) en Chiquimulilla y Guazacapán, Santa Rosa, Guatemala. Tikalia (Gua) 12(2):35-50
24. VILLE, C. A. 1996. Biología. Trad. Vicente Agut Armer. 6 ed. México, D.F., Interamericana. 821 p.
25. WEEDEN, N. F.; GOTTLIEB, L. 1980. Isolation of cytoplasmic enzymes from pollen. Plant Physiology (EE.UU) 3(2)66-103
26. WHITE, A.; HANDLER, P.; SMITH, E. 1970. Principios de bioquímica. Trad. R. Barrera Piñedo. México, D.F., McGraw-Hill. 1,185 p.

10. 180.
P. Azurdia



X. APENDICES

APENDICE No. 1

SOLUCIONES MADRE PARA PREPARAR GELES DE POLIACRILAMIDA (Laemmli, 1970)

SOLUCION A. Acrilamida/bis (30% T, 2.6%C)
87.6 g. acrilamida (29.2 g/100 ml)
2.4 g. de NN'-bis-methylene-acrilamida (0.8 g./100 ml).
Hacerlo en 300 ml con agua destilada. Filtrar y almacenar a 4 grados centigrados en oscuridad (tiempo maximo: 30 dias).

SOLUCION B. 1.5 m Tris-HCl, pH 6.8
27.23 g. Tris Base (18.15 g./100 ml)
80 ml de agua destilada
Se ajusta a pH 8.8 con HCl 1 N. Hacer 150 ml con agua destilada y Almacenar a 4 grados centigrados.

SOLUCION C. 0.5 M Tris-HCl, pH 6.8
6 g. de Tris Base
60 ml de agua destilada.
Ajustar a pH 6.8 con HCl 1N. Hacer 100 ml con agua destilada y Almacenar a 4 grados centigrados.

SOLUCION D. Amortiguador de electrodo 5X, pH 8.3
9.0 g. de Tris Base (15 g./ml)
43.2 g. de Glicina
600 ml de agua destilada.
Almacenar a 4 grados centigrados. La temperatura ambiente antes De su uso puede ocasionar precipitacion. Diluir 60 ml de Stock 5X en 240 ml de agua destilada para una corrida electroforetica.

(RUNNING GEL) GELES DE RESOLUCION (12%)**0.375 m Tris, pH 8.8**

Agua destilada	20 ml.
Solucion B	15 ml.
Solucion A	24 ml.
Persulfato de amonio (10% preparado el mismo dia)	0.3ml (50 microlitros)
TEMED	0.020 ml.

(COMB GEL) GEL GUIA (2%)**0.125 m Tris, pH 3.0**

Agua destilada	10 ml.
Solucion D	4 ml.
Solucion A	2 ml.
Persulfato de amonio (10% preparado el mismo dia)	0.1 ml. (50 microlitros)
TEMED	0.020 ml.

APENDICE No. 2

FORMULAS PARA LA TINCION DE ENZIMAS (Vallejos, 1982)

1) ESTERASA (EST)

Buffer fosfato 0.1 M pH 7.1	50 ml.
Fast Blue RR Salt	50 mg.
*Alfa-Naphthyl Acetato	25 mg.
*Beta-Naphthyl Acetato	25 mg.

2) ALCOHOL DESHIDROGENASA (ADH)

0.05 M Tris-HCl, pH 8.0	5.0 ml.
Alcohol etilico	0.5 ml.
MTT	5 Mg.
NADP	5 Mg.
PMS	1 mg.

3) ACIDO SHIKIMICO DESHIDROGENASA (SKDH)

0.1 M Tris-HCl, pH 8.0	5.0 ml.
Agua destilada	45.0 ml.
Acido Shikimico	25.0 ml.
MTT	7.50 ml.
NADP	5.00 ml.
PMS	1.00 ml.

4) PEROXIDASA (PER)

0.1 M Acetato de Sodio pH 5.0	50 ml.
*0.025% 3-amino-9-etilcarbazol	25 ml.
0.015% Cloruro de Calcio (CaCl ₂)	15 mg.
Agua destilada (30%)	0.6ml.

* Se disuelve en 2 ml de N,N-Dimetilformamida.



Ref. Sem.041-99

FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGRONOMICAS


LA TESIS TITULADA: "DETERMINACION DE LA TASA DE CRUZAMIENTO USANDO MARCADORES
BIOQUIMICOS (ISOENZIMAS) EN UNA POBLACION DE ZAPOTE (Pouteria
sapota (Jacq.) Moore Stearn) DE LA PARTE BAJA DEL RIO HATO,
MUNICIPIO DE SAN AGUSTIN ACASAGUASTLAN, EL PROGRESO".

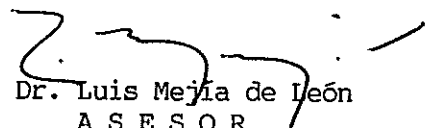
DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: NESTOR GONZALO RODRIGUEZ COLINDRES

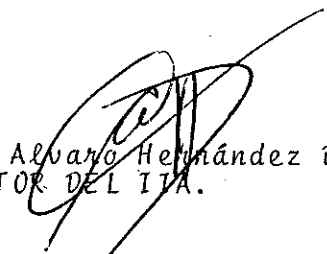
CARNET No: 9440709

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Helmer D. Ayala Vargas
Ing. Agr. José Vicente Martínez Dávila


Los Asesores y las Autoridades de la Facultad de Agronomía, hacen constar que ha
cumplido con las normas Universitarias y Reglamentos de la Facultad de Agronomía
de la Universidad de San Carlos de Guatemala.


Dr. César A. Azurdia Pérez
A S E S O R


Dr. Luis Mejía de León
A S E S O R


Ing. Agr. M.Sc. Alvaro Hernández Dávila
DIRECTOR DEL IIA.

IMPRIMASE


Ing. Agr. M.Sc. Edgar Oswaldo Franco Rivera
D E C A N O

cc: Control Académico APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C. A.
Archivo TELEFONO 476-9794 § FAX (502) 476-9770
AH/prr. E-mail: lia@usac.edu.gt § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomia.htm>