

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

**DETERMINACIÓN DEL SISTEMA REPRODUCTIVO Y ESTRUCTURA GENETICA DE LA
POBLACIÓN DE ZAPOTE (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearm) DE LA PARTE ALTA DE LA
CUENCA DEL RIO HATO, MUNICIPIO DE SAN AGUSTÍN ACASAGUASTLAN, EL
PROGRESO, MEDIANTE EL USO DE MARCADORES ISOENZIMATICOS**

TESIS

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

POR

FRANCISCO ALFREDO FIGUEROA SANTIAGO

EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO

INGENIERO AGRÓNOMO

EN

RECURSOS NATURALES RENOVABLES

EN EL GRADO ACADEMICO DE

LICENCIADO

GUATEMALA, MAYO DEL 2,000

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMLA

RECTOR

Ing. Agr. Efraín Medina Guerra

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO :	Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera
VOCAL PRIMERO :	Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello
VOCAL SEGUNDO :	Ing. Agr. William Roberto Escobar López
VOCAL TERCERO :	Ing. Agr. Alejandro Arnoldo Hernández
VOCAL CUARTO :	Prof. Jacobo Bolvito Ramos
VOCAL QUINTO :	Br. José Baldomero Sandoval Arriaza
SECRETARIO :	Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada

Guatemala, mayo del 2,000

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

Respetables miembros:

De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de presentar ha vuestra consideración el trabajo de tesis titulado:

DETERMINACIÓN DEL SISTEMA REPRODUCTIVO Y ESTRUCTURA GENETICA DE LA POBLACIÓN DE ZAPOTE (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearm) DE LA PARTE ALTA DE LA CUENCA DEL RIO HATO, MUNICIPIO DE SAN AGUSTÍN ACASAGUASTLAN, EL PROGRESO, MEDIANTE EL USO DE MARCADORES ISOENZIMATICOS

Presentándolo como requisito, previo a optar al título de Ingeniero Agrónomo en Recursos Naturales Renovables, en el grado académico de licenciado.

Atentamente,



Francisco Alfredo Figueroa Santiago

ACTO QUE DEDICO

A:

Mi Dios Todopoderoso, el Creador y Señor de todo. A nuestro Señor Jesucristo, porque fue El, quien me cuidó durante estos ocho años de estudios universitarios, en la montaña, en la ciudad, en los caminos, de día y de noche, y a El le dedico toda mi vida.

Mi Esposa Amada, mi Silvia Arlette Pérez Galindo de Figueroa, por ser la mujer que Dios me concedió para esta vida, de forma inexplicable, y a tolerado las lejanías por causa del EPS y de la tesis con amor y paciencia. Por ser la razón y las ganas de vivir, pero sobre todo, la inspiración y fuente inagotable de felicidad, paciencia y amor, que sólo Dios pudo darme.

Mi Hija preciosa, mi Nahbi Magdiel Figueroa Pérez, por quien realizo y realizaré grandes esfuerzos para ayudarla a alcanzar sus metas, como yo logré alcanzar las mías. Para que sirva de ejemplo de superación personal; para tí mi hijita a quien amo con todo mi corazón.

Mis Padres: Carlos Alfredo Figueroa Ramírez y María Asseneth del Rosario Santiago de Figueroa. Por ser ellos la fuente de mi vida, las palabras de enseñanza y aliento, y la vara de la corrección; por haberme formado tal y como soy ahora.

Mis Suegros: David Israel Pérez Herrarte y Dolores Galindo Batres de Pérez, por darme su apoyo, amistad y confianza, y ser sin preguntas, como mis segundos padres.

Mis Hermanos y Cuñados: Carlos, Asseneth, Betzy, Dennis y Milton, para que realicen también todos sus sueños y metas en la vida. Igualmente a mi sobrina Elena, para que sirva también como ejemplo.

Mis Compañeros y Catedráticos y Personal del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura. Aunque no pude estar en los últimos años más unidos a ellos, ellos nunca se olvidaron de mí.

Mis Compañeros de Promoción del Colegio Salesiano "Don Bosco"
Para que donde se encuentren, logren llegar al título de la Vida, más que el de la Ciencia.

Mis Compañeros de la Facultad de Agronomía
Con especial aprecio, a Edgar Rodríguez Sandoval, Marco Antonio Yon y Gerónimo Pérez Irungaray por su siempre viva amistad.

MI Familia en General.
Por el amor y la preocupación brindadas en toda mi Carrera. En especial a mi abuelita Lic. Delia René Paniagua, por su preocupación y sus oraciones.

Las Empresas MAYACROPS, S.A. y CODEMA, S.A., por brindarme todo el apoyo moral y logístico para la culminación de esta etapa de mi vida. En especial al Ing. Raelden Esquivel, Lic. Julio Sandoval, Ing. Tim Crawford, Ing. Agr. Luis Pacheco y Sergio Marino. Y muy Especialmente al Ing. Agr. Juan José Loarca, que más que un jefe, me brindó su amistad y apoyo en los momentos más necesarios. De igual manera para Rolando Arévalo, Ramón Monzón, Boris Sandoval y Marvin Guzmán cuyos ejemplos me ayudaron a seguir adelante en la lucha por alcanzar este título. Y al personal del área de Misceláneos, especialmente a la señora supervisora Alba Verónica Ambrocio, por su inmensa amistad.

TESIS QUE DEDICO

A:

DIOS

Mi Esposa y mi hija

Mi patria Guatemala

Colegio Salesiano "Don Bosco"

Universidad de San Carlos de Guatemala

Todas las personas que contribuyeron a mi formación académica

AGRADECIMIENTO

A mis Asesores Dr. César A. Azurdia y Dr. Luis Mejía, por su apoyo y colaboración incondicional en la realización de este trabajo, así como por su paciencia y su amistad, las cuales me proporcionaron a manos llenas en todas las etapas de la investigación.

A la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, por haberme acogido como un elemento más para el fortalecimiento forestal de nuestra patria, tierra de bosques y montañas. Por todo el conocimiento y el tiempo que me brindó esta hermosa casa del saber. Por haberme dado la oportunidad de conocer la ciencia vegetal y por sobre todo, conocer la Vegetación de esta Única y Frágil Eterna Primavera.

Al Claustro de catedráticos de la Facultad de Agronomía, principalmente a los Ing. Agr. Helmer Ayala, Ing. Fernando Rodríguez Bracamonte e Ing. Edgar Martínez Tambito por proporcionar su objetivismo y buena voluntad de trabajo en la realización de esta tesis, así como por su apoyo y amistad brindados en el transcurso de este período.

A la Subarea de Ejercicio Profesional Supervisado de Agronomía (EPSA), en especial al Ing. Agr. Fredy Hernández Ola, por su paciencia y colaboración en el momento del EPS, así como por su amistad.

A la Subarea de Ciencias Químicas, por brindarme la oportunidad de aprender trabajando en los adentros de su materia. En especial al Lic. Romeo Pérez, con mucho aprecio y cariño por su preocupación y apoyo para la culminación de esta carrera, y de igual manera a Gustavo Jacinto, por su gran amistad.

A los trabajadores de la Facultad de Agronomía que me apoyaron moralmente en el transcurso de mi carrera. Especialmente a las señoras Patricia Muralles, Miriam de la Roca y a los señores Marco Antonio Fausto y al Ing. Agr. Rolando Aragón. En especial a Lupita de Ventura y Rosita Solís por su gran amistad, a quienes aprecio de una forma muy especial.

A la Subárea de Ingeniería Agrícola, igualmente por proporcionarme la oportunidad de conocer acerca de sus materias. En especial al Ing. Agr. Luis Morán.

Al personal de Seguridad y Mantenimiento de la Facultad de Agronomía por su gran amistad especialmente a los señores René Calé, Reginaldo Soma, Miguel Sajbin y Felix Set.

Muy especialmente a mi compañero del alma, Edgar Rodríguez Sandoval (a mi "papa"), por su apoyo incondicional en las etapas finales de la presentación de este documento.

Y a todas aquellas personas que en una u otra forma han colaborado en la realización de este trabajo. A todos ustedes, muchas gracias.

INDICE

	Página
INDICE DE CUADROS	v
INDICE DE FIGURAS	vii
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
4. MARCO TEORICO	6
4.1. MARCO CONCEPTUAL	6
4.1.1. Marcadores Bioquímicos	6
4.1.1.1. Electroforesis de isoenzimas	6
A. Geles de poliacrilamida	8
B. Isoenzimas	9
C. Isoenzimas polimórficas para el zapote	11
C.1. EST: Esterasa (EC 3.1.1.)	11
C.2. PRX: Peroxidasa (EC. 1.11.1.7.)	12
C.3. ADH: Alcohol deshidrogenasa (EC 1.1.1.1.)	13
C.4. SKDH: Acido shikímico deshidrogenasa (EC. 1.1.1.25.)	14
4.1.2. El zapote (<i>Pouteria sapota</i> (Jacq.) Moore Stearm)	
4.1.2.1. Taxonomía del zapote	15
4.1.2.2. Descripción del zapote	17
4.1.2.3. Fenología del zapote	17

4.1.2.4. Etnobotánica del zapote	19
4.1.2.5. Distribución y Variabilidad genética del zapote	20
A. Bosque Húmedo Subtropical Cálido	20
B. Bosque muy Húmedo Subtropical Cálido	21
C. Bosque Húmedo Subtropical templado	22
D. Monte Espinoso Subtropical	22
4.1.2.6. Erosión genética del zapote	23
4.1.2.7. Cultivo, producción y comercialización del zapote	26
A. Requerimientos de suelo y humedad	26
B. Rendimiento	27
4.1.2.8. Información nutricional	27
4.1.2.9. Tipos de consumo	27
4.1.2.10. Comercialización y mercado	28
4.2. MARCO REFERENCIAL	30
4.2.1. Región semiárida de Guatemala	30
4.2.2. Características generales del área	32
4.2.2.1. Ubicación y localización	32
4.2.2.2. Características climáticas	32
4.2.2.3. Zonas de vida	33
4.2.2.4. Hidrografía	33
4.2.2.5. Suelos	33
4.2.2.6. Flora	34
4.2.2.7. Aspectos históricos del área	35

4.2.3. Referencias de estudios realizados con electroforesis de isoenzimas, caracterización de zapotes y otros útiles al estudio en cuestión	36
4.2.4. Aspectos sobre el programa de estimación multilocular : MLT	38
4.2.5. Análisis de las tasas de entrecruzamiento y la estructura genética de poblaciones	40
5. OBJETIVOS	44
5.1. Objetivo general	44
5.2. Objetivos específicos	44
6. HIPÓTESIS	45
7. METODOLOGÍA	46
7.1. Antecedentes y ubicación del estudio	46
7.2. Colecta y transporte de la muestra	51
7.3. Obtención del extracto vegetal	51
7.4. Preparación de las geles de poliacrilamida	52
7.5. Cargado de las mucstras	52
7.6. Realización de la corrida electroforética	52
7.7. Tinción y revelación de enzimas	53
7.8. Sistemas enzimáticos que se evalúan	53
7.9. Cálculos de los sistemas de apareamiento	54
7.10. Análisis de la diversidad genética	54
8. RESULTADOS	56
8.1. Enzimas polimórficas	56
8.2. Tasas de entrecruzamiento	61
8.3. Estructura genética de las poblaciones	63
8.4. Heterocigosidad en plantas maternas y su progenie	70

8.5. Identificación de las áreas de conservación in situ en la parte alta de la

cuenca del río Hato

72

9. CONCLUSIONES

74

10. RECOMENDACIONES

76

11. BIBLIOGRAFÍA

77

12. APENDICE

80

INDICE DE CUADROS

página

Cuadro 1.	Componentes en 100 g de una porción comestible del mesocarpio del zapote.	27
Cuadro 2.	Comercialización del zapote como fruta fresca y procesada en Malasia para el período 1987 a 1995.	29
Cuadro 3.	Exportación de semillas de zapote en fresco y procesadas en Malasia, para el período 1987 a 1995.	29
Cuadro 4.	Ejemplo de colocación de datos de familias de un alelo 4, en el programa MLT de Ritland y Jain.	40
Cuadro 5.	Datos de las tasas de entrecruzamiento (tm) mediante el método multilocular y unilocular para tres genes, en la población de <i>Pouteria sapota</i> de la parte alta del río Hato, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso, Guatemala.	62
Cuadro 6.	Tasas de entrecruzamiento multilocular (tm) y componentes de diversidad de Nei, en la población de <i>Pouteria sapota</i> de la parte alta de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán. Parámetros Ht, Hs, Dst, Gts y Rst.	64
Cuadro 7.	Frecuencia genética de los loci en la población de zapote (<i>Pouteria sapota</i>), de la parte alta de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso.	65

Cuadro 8.	Heterocigosidad esperada (H_{exp}) y heterocigosidad observada (H_{obs}), tasas de entrecruzamiento multilocular (t_m) e índice de fijación (F), para la población de árboles madres y su progenie, de <i>Pouteria sapota</i> de la parte alta de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso, Guatemala.	71
Cuadro 9A.	Soluciones madre para preparar geles de poliacrilamida	81
Cuadro 10A.	Fórmulas para la tinción de enzimas	84
Cuadro 11A.	Entrada del Programa de Estimación Multilocular (MLT).	88
Cuadro 12A.	Salida del Programa de Estimación Multilocular (MLT). Prueba de Chi Cuadrado del Programa de Estimación Multilocular.	89
Cuadro 13A.	Programa de Diversidad de Nei (NDD). Entrada al Programa de los Parámetros de Diversidad de Nei (NDD).	91
Cuadro 14A.	Salida del Programa de los Parámetros de Diversidad de Nei (NDD).	92

INDICE DE FIGURAS

	página
Figura 1. <i>Pouteria sapota</i> (Jacq.) Moore Stearn. Hábito, flor y corola abierta.	18
Figura 2. Distribución geográfica del zapote en la República de Guatemala, con referencia altitudinal.	25
Figura 3. Cuenca del río Hato y su ubicación en la República de Guatemala. Se muestran las dos partes de la cuenca y las tierras regables de la misma.	31
Figura 4. Departamento de El Progreso, con sus municipios.	47
Figura 5. Municipio de San Agustín Acasaguastlán. En Puerta de Golpe, se divide la población de la parte alta y la parte baja de la cuenca del río Hato.	48
Figura 6. Distribución de los árboles de zapote en la parte alta de la cuenca del río Hato, con referencia altitudinal y longitud horizontal.	50
Figura 7. Enzima esterasa (EST) de zapote (<i>Pouteria sapota</i>) de la parte baja y alta de la cuenca del río Hato. Esta enzima fue ensayada en una gel de poliacrilamida. Se observan dos loci isoenzimáticos con dos alelos en cada uno.	57
Figura 8. Enzima Acido Shikímico Deshidrogenasa (SKDH) de zapote (<i>Pouteria sapota</i>), de la parte baja y alta de la cuenca del río Hato. Dicha enzima fue ensayada en una gel de poliacrilamida, que muestra un locus con tres alelos.	57

- Figura 9. Zimograma de la gel de acrilamida de la enzima Esterasa (EST) mostrada en la Figura 7. Se muestran los dos loci analizados (EST1 y EST2) y sus respectivos locus (EST1-1; EST1-2; EST2-1; EST2-2) para zapotes de la parte baja y parte alta de la cuenca del río Hato. 58
- Figura 10. Zimograma de la gel de acrilamida, de la enzima SKDH mostrada en la Figura 8. Se muestran los tres alelos analizados (SKDH1, SKDH2 y SKDH3), para una familia de zapotes de la parte alta de la cuenca del río Hato. 59
- Figura 11. Bandas de los alelos mostrados por las corridas de electroforesis para cuatro sistemas enzimáticos (EST, SKDH, ADH y PRX). Se muestra la región catodal (+) y anodal (-), así como los nombres dados a los alelos en EST y SKDH, para los análisis de este estudio. 60
- Figura 12. Dendrograma isoenzimático que muestra los parentescos entre los árboles madres de zapote (*Pouteria sapota*) de la parte alta de la cuenca del río Hato. Este dendrograma fue construido usando datos isoenzimáticos desplegados por el programa de Estimación Multilocular (MLT). 66
- Figura 13. Dendrograma agromorfológico que muestra los parentescos entre los árboles madres de zapote (*Pouteria sapota*), de la parte alta de la cuenca del río Hato. Este dendrograma fue elaborado usando los datos morfológicos resultantes del programa de agrupamientos UPGMA. 67
- Figura 14A. Mapa de la cuenca del río Hato, parte alta y parte baja; se da a conocer la ubicación de los 80 árboles estudiados en la investigación 86
- Figura 15A. Flujograma del procedimiento de corrida de electroforesis de isoenzimas 87
- Figura 16A. Polimorfismos reportados por cinco isoenzimas en hojas de zapote 93

- Figura 17A. Fenograma que muestra las relaciones existentes entre especies de *Pouteria*, basado en información isoenzimática 94
- Figura 18A. Genotipo maternal más exacto, inferido para los 40 árboles madres, a partir de los análisis estadísticos de las progenies de cada familia, de los árboles de zapote de la parte alta, usando el programa MLT. 95
- Figura 19A. Dendrograma agromorfológico que muestra las relaciones de parentesco entre los árboles de zapote (*Pouteria sapota*) de la cuenca del río Hato. Este dendrograma fue elaborado con datos morfológicos del programa de agrupamiento UPGMA 96
- Figura 20A. Dendrograma isoenzimático que muestra las relaciones de parentesco entre las familias de zapote (*Pouteria sapota*) de la cuenca del río Hato. Este dendrograma fue elaborado con datos isoenzimáticos del programa MLT. 97

DETERMINACION DEL SISTEMA REPRODUCTIVO Y ESTRUCTURA GENETICA DE LA POBLACION DE ZAPOTE (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearm) DE LA PARTE ALTA DE LA CUENCA DEL RIO HATO, MUNICIPIO DE SAN AGUSTIN ACASAGUASTLAN, EL PROGRESO, GUATEMALA, MEDIANTE EL USO DE MARCADORES ISOENZIMATICOS

OUTCROSSING RATE AND GENETIC STRUCTURE OF ZAPOTE TREE POPULATION (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearm) - USING ISOZYMES MARKERS- ON THE HIGHER PART OF THE RIO HATO WATERSHED, SAN AGUSTIN ACASAGUASTLAN, EL PROGRESO, GUATEMALA

R E S U M E N

El zapote (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearm) es una especie frutal nativa de Mesoamérica. Estudios previos basados en caracteres morfológicos y bioquímicos han mostrado la existencia de alta diversidad genética. Sin embargo, se desconoce el tipo de reproducción de dicha especie. Dicha información es importante para planificar estrategias de conservación, muestreo y mejoramiento, e impedir riesgos de erosión genética en las áreas de estudio, por el avance de cultivos no tradicionales o la utilización de materiales uniformes.

Se determinó la tasa de entrecruzamiento y la estructura genética para la población de zapote de la parte alta de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso. Para esto fueron seleccionados 40 árboles madres, en el área de estudio que comprende 8 Km². De estos árboles madres se obtuvieron 10 semillas, las cuales fueron germinadas y transplantadas en bolsas de polietileno; estas fueron llevadas al laboratorio para análisis bioquímico por medio de electroforesis con marcadores isoenzimáticos. Los sistemas enzimáticos evaluados fueron: Esterasa (EST), Acido Shikímico Deshidrogenasa (SKDH), Peroxidasa (PRX) y Alcohol Deshidrogenasa (ADH). Los dos sistemas utilizados para este estudio fueron Esterasa y Acido Shikímico Deshidrogenasa debido a la consistencia que presentaron sus datos. Los otros dos sistemas (PRX y ADH), no fueron consistentes.

Los resultados obtenidos indicaron que la población de la parte alta de la cuenca tiene una tasa de entrecruzamiento de 0.81, lo que indica que *P. sapota* es una especie preferentemente alógama. El estudio de la estructura genética de la población mostró que existe mayor diversidad genética dentro de la población que entre varias poblaciones, lo cual es característico de especies alógamas. Se determinó que el zapote posee alta heterocigosidad, no estando en equilibrio con Hardy-Weinberg.

Los resultados obtenidos son importantes ya que el conocimiento del tipo de reproducción define el tipo de mejoramiento genético a utilizar; así mismo, la información referente a la estructura genética de las poblaciones permite diseñar una metodología de muestreo y conservación.

De acuerdo con estos resultados, se recomienda para otros estudios utilizar un mayor número de sistemas isoenzimáticos, así como mostrar mayor número de individuos (antes que poblaciones), en diferentes estaciones, años y localidades. También se recomienda para esta especie, realizar estudios más detallados de sistemas reproductivos en árboles madres individuales, movimiento de polen y polinizadores.

2. INTRODUCCION

El zapote (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearn) es una especie arbórea perteneciente a la familia Sapotaceae, distribuido en las regiones cálidas de Guatemala, principalmente en la costa sur, Petén, Izabal y orillas de los ríos del Monte Espinoso y Bosque Seco de la vertiente del Mar Caribe. Este frutal es apreciado en Guatemala por su fruto comestible de sabor dulce, siendo también cultivado y altamente comercializado en el extranjero. En el municipio de San Agustín Acasaguastlán, departamento de El Progreso, los zapotes se encuentran cultivados en huertos familiares y en áreas ubicadas a orillas de los ríos Aguahiel, Timihya y Hato.

Por otro lado, se desconoce acerca de la polinización o polinizadores de zapote; sólo existe conocimiento de su estructura floral, pero no sobre su estructura genética y sistema reproductivo.

El presente estudio se encuentra enmarcado dentro del Proyecto "Conservación y Uso Sostenible de Frutales Nativos de América Tropical, Parte I Sapotáceas", donde se busca determinar el tipo de apareamiento presente en el zapote, ya que la información referente al sistema de entrecruzamiento, la subdivisión de poblaciones y la distancia genética entre subpoblaciones, es información crítica para planificar estrategias de muestreo y mejoramiento.

Para esto, mediante el método de electroforesis, fueron usadas enzimas polimórficas de alta resolución (claramente identificables). Fue realizado entonces una caracterización bioquímica, en donde se determinó la variabilidad "dentro" y "entre" las poblaciones (inter e intra poblacional, respectivamente) y se definieron las poblaciones genéticas que existían en la parte alta de la cuenca del río Hato.

Con la información generada por esta metodología se alcanzaron los objetivos de este estudio, los cuales son: la determinación de las tasas de entrecruzamiento para conocer el modelo de apareamiento del zapote (si es alógamo o autógamo), la determinación de la distribución de la diversidad dentro y entre la población y las familias, y la medición de la heterocigosidad presente en los padres vs. la presente en la F1 (generación filial).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se considera que Guatemala es centro de origen de varios cultivos y también se le conoce como parte de la zona mesoamericana en la que existe gran riqueza en cuanto a recursos fitogenéticos; dentro de estos recursos destaca la especie *Pouteria sapota* (zapote), un fruto consumido y comercializado internamente, que posee características nutricionales y de sabor reconocidas a nivel mundial.

Según Gamez (19) Guatemala es un foco de biodiversidad y un punto importante para el desarrollo de la agricultura; el potencial de sus bosques podría ser usado para el aprovechamiento industrial sostenible, con productos maderables y productos no maderables, así como para la conservación de la biodiversidad y el ecoturismo. Sin embargo, cuando algún componente de la biodiversidad puede tener alto valor, las industrias y otros grupos económicos con fines de lucro, optan por cualquiera de las siguientes acciones: i) la domesticación y desarrollo de cultivos en forma industrial y su mejoramiento genético o ii) la síntesis y comercialización de los principios activos (como los taninos, el caucho y la resina).

En la parte alta de la cuenca del río Hato, existe una población geográficamente delimitada de zapotes (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearn). Estos frutales crecen en terrenos que van de ondulados a escarpados, y con suelos de vocación agrícola, agroforestal y forestal. La zona de vida a la que pertenece la parte alta de la cuenca del río Hato (con sus afluentes Timiluya y Hato), es el Monte Espinoso Subtropical. Castañeda y Ayala (12) indican que esta zona de vida posee una alta biodiversidad estudiada .

Aunque el zapote es un rubro económico para la población del río Hato, existe un peligro de erosión genética del mismo en esta cuenca, el cual no radica en la destrucción y desaparición de los individuos por el paso de la agricultura. Su peligro consiste en el incremento de la producción bajo el sistema de cultivo con materiales uniformes en grandes extensiones, reduciéndose con esto la variabilidad genética que existe actualmente en el lugar.

Por tanto es importante recabar información acerca de la distribución y variabilidad genética que existe en esta área, mediante el estudio del sistema reproductivo del zapote y la determinación de su estructura genética. Con esto se podrán definir poblaciones específicas con características deseables (por ejemplo de color del fruto, tamaño de fruto, sabor, etc.), y establecer áreas de conservación en el lugar de estudio, manteniendo estas características para futuros planes de mejoramiento fitogenético.

Por el peligro de erosión genética que amenaza las poblaciones de zapote en la cuenca del río Hato, se requiere que se genere información acerca de dichas poblaciones, lo cual se realizó en este estudio mediante un tipo de caracterización más precisa y objetiva, como lo es la caracterización bioquímica usando marcadores isoenzimáticos. Al definir las poblaciones y sus caracteres más importantes, se pueden establecer áreas de conservación que poseen individuos con líneas deseables para futuros planes de mejoramiento fitogenético.

4. MARCO TEORICO

4.1. MARCO CONCEPTUAL

4.1.1. MARCADORES BIOQUIMICOS

La biotecnología abarca un gran campo de actividades, en las cuales se incluyen diferentes metodologías; entre estas se encuentran las técnicas biotecnológicas, que constituyen la utilización de tejidos. Estas técnicas podrían ser un complemento para aumentar la eficiencia de programas de mejoramiento genético. (3)

Los marcadores bioquímicos nos revelan la información contenida en un gen. Por otro lado, mediante la localización subcelular, la estructura cuaternaria y la base genética de las enzimas -que son características conocidas y altamente conservadas en la evolución-, se pueden interpretar los patrones de bandeo en las geles de electroforesis. Cuando se hace mención de los marcadores moleculares, se refiere a fragmentos de ADN, como marcadores de segmentos cromosómicos, que contienen una secuencia de nucleótidos de ADN; al contrastar tanto los marcadores moleculares y los marcadores bioquímicos, se dice que ambos marcadores son útiles en cualquier organismo, así como en la herencia mendeliana y codominancia, por lo que se pueden detectar en cualquier fase de desarrollo y en cualquier tipo de tejido. (5)

4.1.1.1. ELECTROFORESIS DE ISOENZIMAS

La electroforesis en gel para proteínas se ha convertido en una herramienta de investigación poderosa en multitud de disciplinas de las ciencias biológicas. Una forma de electroforesis de proteínas es el análisis de isoenzimas. Esta metodología es ampliamente utilizada en sistemática y biología evolutiva, así como en los campos biológicos de la agronomía. (8)

Según White (37) las isoenzimas son las múltiples formas moleculares de las enzimas. Estas son enzimas que comparten un sustrato común pero tienen diferente movilidad electroforética.

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 de mezclas complejas de proteínas se puede llevar a cabo en ciertos tipos de medios de soporte, incluyendo geles de almidón, poliacrilamida, agarosa y membranas de acetato de celulosa. La agarosa y las membranas de acetato de celulosa, generalmente no se emplean para polimorfismo enzimático. Cuando se requiere del poder máximo de resolución, con frecuencia se prefieren los geles de poliacrilamida. Una propiedad valuable de la electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE), es la alternancia de la concentración de acrilamida; con esto se incrementa el rango de los pesos moleculares que son separables. Otras de las ventajas de los geles de poliacrilamida es la uniformidad y la transparencia, facilitando la cuantificación densitométrica del producto. Esto también permite una amplia compatibilidad de ensayos, usualmente en tiempos rápidos de corrida. (31)

Algunas 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 los geles de almidón.

Hay muchas razones por las cuales los datos electroforéticos son populares. Entre las más importantes está que las isoenzimas proveen una serie de marcadores fácilmente leíbles y porque son el producto de un solo gen. (5)

Existen otro tipo de geles usadas en electroforesis. Azurdía (5) indica que la electroforesis en geles de almidón continúa siendo preferida para muchos estudios que involucran el análisis de un gran número de individuos de diferentes enzimas. Existen muchas razones para esto: a) simplicidad en la preparación de la gel de almidón; b) la no toxicidad en el material utilizado (ya que la acrilamida monómera utilizada por el método PAGE, es un neurotóxico); c) un bajo costo relativo en el equipo y

d) facilidad del manejo para cargar las muestras dentro de la gel. Las muestras de gel de almidón son homogenizadas en crudo sin centrifugar, mientras que el método PAGE requiere de la clarificación de las muestras. Probablemente la mayor razón por la que la gel de almidón continúa siendo popular, es la diferencia en la cantidad de datos generados por la gel. Esto se debe a que las geles de almidón pueden ser cortadas en forma horizontal, permitiendo la multiplicidad de ensayos del sistema de enzimas por gel, (hasta 6 incluso), mientras que las geles de poliacrilamida son usualmente reveladas por una sola enzima.

Hunter (31) menciona que en estudios en donde 20 o más enzimas de un gran número de plantas son ensayados, la eficiencia y el costo de las geles es más recompensado por el relativo poder de resolución de la acrilamida.

A. GELES DE POLIACRILAMIDA

Smithies et. al. (31) propuso el uso de geles de poliacrilamida granulados para la cromatografía de geles. Estas son sintéticas, al contrario de las geles de dextrana. La acrilamida, cuya fórmula química es $H_2C=CH-CO-NH_2$, es un sólido soluble en agua e insoluble en solventes orgánicos no polares. Se le puede polimerizar en 3 formas distintas: a) mediante calor, que obtiene un sólido insoluble en todos los disolventes comunes; b) por polímeros vinílicos de la acrilamida, que obtiene un polímero lineal soluble en agua; y c) por copolimerización con un reactivo específico con el cual se hace una solución: la metileno-bis-acrilamida, $H_2C=CH-CO-NH-CH_2-NH-CO-CH=CH_2$, en donde se obtiene un material en que las cadenas de poliacrilamida tienen enlaces cruzados. Los monómeros que se usan en la síntesis de poliacrilamida son tóxicos y se deben manejar con cuidado. Los puntos débiles del material son los grupos amido que pueden ser hidrolizados a pH extremos; al hidrolizarse producen grupos carboxilo, que le imparten al gel propiedad de intercambiador de iones.

Las geles de poliacrilamida se han usado con buenos resultados en la cromatografía en gel para remover los inhibidores y cofactores de las enzimas. Esta remoción es muy importante en los estudios cinéticos de las reacciones con enzimas. Sería sumamente difícil obtener esto por otros métodos, particularmente con enzimas lábiles que se destruyen por precipitación o por diálisis prolongada. Además, sirve para marcar y obtener proteínas a partir de ciertas enzimas específicas. (31)

B. ISOENZIMAS

Según Azurdia (9) 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 el organismo, el tejido y la 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 de un número de productos enzimáticos con relativa movilidad (bandas), 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 la proteína;
- d) su localización subcelular (en plastidios o en el núcleo).

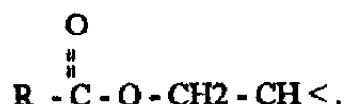
Según Azurdia (2), la forma práctica de dilucidar la genética de los patrones electroforéticos es mediante la realización de cruzamientos de prueba. El caso más simple es aquel en el cual una región de tinción con varios electromorfos (aloenzimas), es observado en diferentes individuos. Debido a que 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 el número de ellas depende del número de subunidades de polipéptidos contenidos en la enzima activa. Así, para una enzima dimerica, 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 tetramera, cinco bandas son visibles en individuos heterocigóticos: dos homotetrameras (AAAA y BBBB), y tres heterotetrameras (AAAB, AABB, ABBB). Cabe mencionar que estos son los casos más fáciles de interpretar, sin embargo, cuando dos o más genes están presentes, la interpretación de las bandas es más complicada.

Los biólogos estudiosos de la evolución han demostrado que la variación genética en las poblaciones de plantas puede estar distribuida en forma aleatoria (la más común) y en forma no aleatoria (casos extraños). La estructura genética de una población es la distribución no aleatoria de las bandas que indican variación genética. (1)

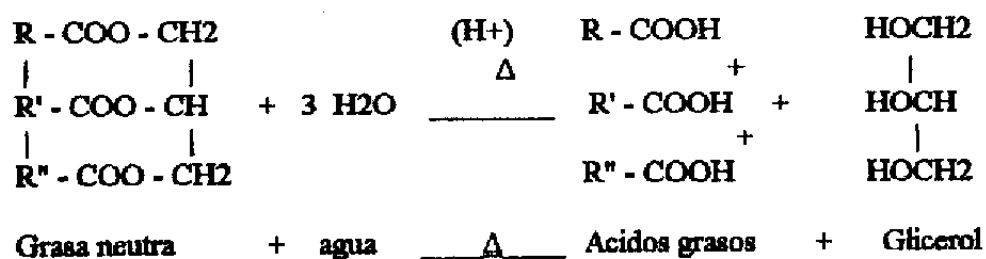
C). ISOENZIMAS POLIMORFICAS PARA EL ZAPOTE (Pouteria sapota)

C.1.) EST : Esterasa (EC No. 3.1.1.)

Según Stryer (33) la Esterasa es una enzima perteneciente al grupo de las hidrolasas y forma intermediarios covalentes enzima-sustrato. La esterasa posee un grupo reactante serina, cuya fórmula molecular es $\text{HO} - \text{CH}_2 - \text{CH} <$ y su tipo de intermediario covalente es el Acil éster, de fórmula molecular:

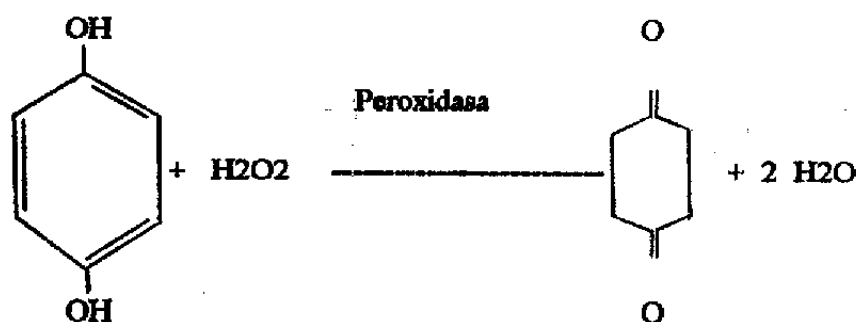


Las esterases son enzimas que catalizan la hidrólisis de las grasas neutras, originando tres moléculas de ácido graso y una de glicerol, en plantas o animales; son también denominadas lipasas. La reacción es la siguiente:



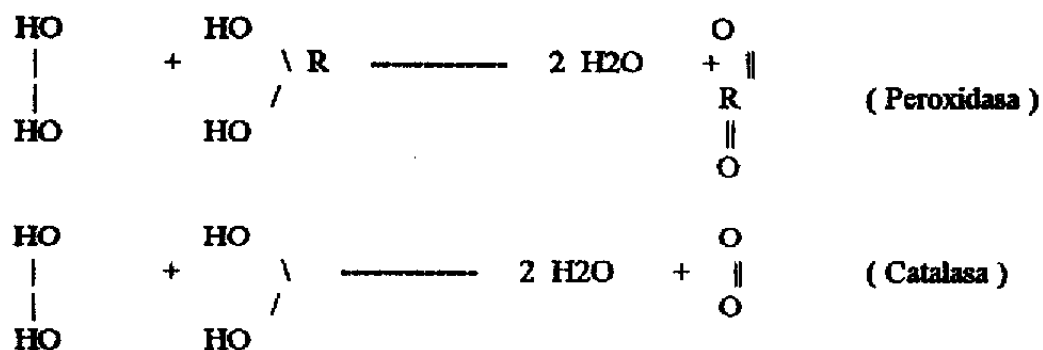
C.2.) PRX : Peroxidasa (EC No. 1.11.1.7)

Según Stryer (33) la peroxidasa es una enzima oxireductasa que impide la acumulación del H_2O_2 anóxico que se forma por la oxidación aeróbica de las flavoproteínas reducidas y del O_2^- . Las peroxidasas catalizan la siguiente reacción típica:



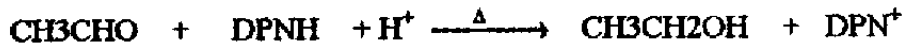
Una catalasa puede descomponer 44,000 moléculas de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por segundo. La enzima casi no muestra energía de activación y la velocidad de reacción parece ser enteramente limitada por difusión. La catalasa o peroxidasa reacciona con el peróxido de hidrógeno, para formar un complejo enzima-sustrato relativamente estable, de estructura no determinada. Las plantas superiores son ricas en actividad peroxidásica.

La reacción peroxidásica se escribe como:



C.3.) ADH : Alcohol Deshidrogenasa (EC No. 1.1.1.1)

Según Murray (25) esta enzima llamada deshidrogenasa alcohólica cataliza la reacción que reduce el acetaldehído por el DPNH. La reacción es la siguiente:



Así en la levadura, el acetaldehído sustituye al ácido pirúvico como oxidante del DPNH que surge en la oxidación del 3-fosfogliceraldehído. Esta enzima es un importante elemento componente del metabolismo del etanol.

La primera y principal vía usa alcohol deshidrogenasa y acetaldehído deshidrogenasa que convierten el alcohol en acetaldehído y de ahí a acetato, que luego pasa a acetil-CoA. En las dos reacciones se produce NADH^- y H^+ .

En la primera vía, el etanol es convertido en acetaldehído, el cual puede seguir dos caminos:

- a) fijación a proteínas y ácidos nucleicos y
- b) conversión a acetato, acetil-CoA y luego intervenir en el incremento de síntesis de ácidos grasos.

En la segunda vía, la enzima interviene en la relación NADH/NAD elevada, produciendo:

- a) Incremento en la proporción lactato/piruvato.
- b) Inhibición de gluconeogénesis.
- c) Bloqueo de oxidación de ácidos grasos.
- d) Inhibición de glicerofosfato deshidrogenasa que lleva a elevar el glicerofoafato.

C.4.) SKDH: Acido Shikímico Deshidrogenasa (EC. 1.1.1.25)

Según White y Handler (37) esta enzima interviene en el proceso de síntesis de la fenilalanina, la tirosina y del ácido antranílico, precursor en la síntesis del triptófano.

La mayoría de los compuestos fenólicos se derivan de los intermediarios del metabolismo respiratorio a través del ácido shikímico. 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 shikímico, que da su nombre a esta vía de transformaciones.

La vía del ácido shikímico sigue los siguientes caminos:

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

4.1.2. EL ZAPOTE (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearn)

4.1.2.1. TAXONOMIA DEL ZAPOTE

La taxonomía del zapote se presenta con los siguientes taxa:

REINO:	Plantae
PHYLLUM:	Tracheophyta
SUBPHYLLUM:	Pteropsida
DIVISION:	Magnoliophyta
CLASE:	Magnoliopsida
SUBCLASE:	Dilleniidae
ORDEN:	Ebenales
FAMILIA:	Sapotaceae
GENERO:	Pouteria
ESPECIE:	<i>Pouteria sapota</i> (Jacq.) Moore Stearn

Gola (20) indica que la familia sapotaceae reúne hasta 600 especies de leñosas, con hojas esparcidas y bordes enteros; las diferentes especies poseen numerosas células corticales secretoras, flores hermafroditas y fruto en baya.

Según Standley (32) 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. De igual manera Standley (32), en su obra Flora of Guatemala, presenta catorce (14) especies del género *Pouteria*, a las que se les denomina comúnmente "zapotes".

A. *Pouteria sapota* (Jacq) Moore Stearm

Según Standley (32) los sinónimos principales, para el zapote son los siguientes:

- | | |
|---|---|
| * <u><i>Pouteria mammosa</i></u> (L.) Cronquist | * <u><i>Sideroxylon sapota</i></u> Jacq |
| * <u><i>Achras mammosa</i></u> L. | * <u><i>Lucuma mammosa</i></u> Gaertn. |
| * <u><i>Achradelpha mammosa</i></u> Cook | * <u><i>Calocarpum sapota</i></u> Merrill |

Sus nombres comunes en Guatemala son:

- | | | |
|-------------------------|---------------------|----------------------------------|
| * Sapote | * Zapote mamey | * Chacalhaas (Yucatan, voz maya) |
| * Mamey, mamey colorado | * Saltul (Quecchi) | * Sesaltul (Quecchi) |
| * Tuhul (Cacchiquel) | * Saltul (Pocomchi) | |

El término "zapote" es ampliamente usado en Guatemala; se deriva del nahuatl "tzapotl", que significa fruta esférica, dulce y con semilla grande. Esta denominación aparece en los nombres de muchos lugares en Guatemala, como: El Zapote, Zapotal, Zapotón, Zapotitlán y Zapotitlancito. El zapote es encontrado comúnmente desde 600 metros sobre el nivel del mar o menos, y más común a 900 metros e incluso a 1,200 metros sobre el nivel del mar (msnm); algunas veces se ha visto hasta 1,500 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra a menudo en estado silvestre en Izabal, Petén, Sur de México y Honduras.

(5)

Según Standley (32) es común encontrarlo como uno de los cultivos de las tierras bajas de Centroamérica y posiblemente nativo alrededor de la costa Atlántica. También es cultivado en América tropical y en algunas partes de los trópicos del Viejo Mundo.

4.1.2.2. DESCRIPCION DEL ZAPOTE

Standley (32) indica que el zapote es un árbol grande, a menudo con alturas hasta de 30 metros; el tronco puede llegar a veces hasta un (1) metro de diámetro, corto o usualmente largo, a menudo con gambas o apoyos angostos; la corteza y sus escamas son vellosas o lisas, de color marrón rojizo; las ramas son anchas, usualmente densas de pelos tomentosos marrones; las hojas grandes y delgadas, agrupadas cerca del final de las ramas, de formas obovadas a oblongas-oblancoeladas; poseen una longitud de 15 a 20 cm, glabras o lustrosas por encima, con vellosidad por debajo, glabras o a menudo corto pilosas y puberulentas; son obtusas o redondeadas en el ápice y apiculadas, largas atenuadas en la base.

Posee peciolo corpulentos, de 2 a 4 cm de longitud, blanquecinos, densamente agrupados en ramas antiguas, siendo sétiles o corto pedicelados, de 7 a 8 mm de largo; los sépalos de la flor son redondos, densamente imbricados y apresados, y densamente seríceos; presenta una corola cerca de 10 mm de largo; la forma de su fruto es globosa o elipsoidal, con tamaños comúnmente de 10 a 16 cm de largo, café y de piel rugosa; la pulpa es suave y dulce, amarillenta a rojiza o rosada, a menudo con alguna lechosidad; posee una semilla (a veces dos), muy grande, lustrosa y café, con una gran cicatriz pálida sobre uno de sus lados. En la Figura 1, se muestra la representación gráfica de una rama de zapote según Standley (32).

4.1.2.3. FENOLOGIA DEL ZAPOTE

Azurdia (8) menciona que el zapote no presenta tanta variación fenológica como el injerto (*Pouteria viridis*); durante marzo y abril es la época en la cual los frutos maduran, a excepción de los zapotes en el oriente de la república de Guatemala. En el departamento de Santa Rosa y áreas de El Progreso, los frutos alcanzan la madurez en los meses de noviembre a diciembre. Igualmente otras excepciones se encuentran en la Tinta, Alta Verapaz, lugar perteneciente al Bosque muy húmedo



Pouteria sapota

- A. Hábito,
- B. Flor
- C. Corola abierta (con estambres estériles)

Figura 1. *Pouteria sapota* (Jacq.) Stearn Moore. (Según Standley, 1966) (37)

Subtropical cálido (Bmh-S (c)); en esta localidad se encuentran frutos maduros durante el mes de mayo y en Morales, Izabal, durante el mes de septiembre.

4.1.2.4. ETNOBOTANICA DEL ZAPOTE

Según Standley (32), el zapote es 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 de la región fisiográfica del pie de monte Pacífico y en las grandes planicies.

Muchos lugares en Guatemala llevan nombres de "zapote", como se había indicado anteriormente. En San Felipe de Jesús, Sacatepéquez, se elaboran artesanías de arcilla, con forma de zapote. (7)

Las semillas de zapote son llamadas "sapuyules" o "sapuyulos". Gran cantidad de estas semillas en húmedo, son colgadas sobre varas y son exhibidas en los mercados. Las semillas del zapote poseen un sabor parecido a almendras amargas y de vez en cuando son empleadas para dar sabor al chocolate, al atol de "Súchilos" 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 es común untarlas en el cabello, el cual queda liso, suave y brillante. En algunas regiones de México y América Central existe la creencia de que el aceite previene la caída del cabello y promueve su crecimiento. También son usadas para endurecer el lino usandola como plancha. (32)

La madera del árbol de zapote es de color marrón 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 percibido; dicha madera es dura, pesada, de textura media, con grano usualmente recto y de dudosa durabilidad. Es poco usada debido a que los árboles son conservados por el fruto.

4.1.2.5. DISTRIBUCION Y VARIABILIDAD GENETICA DEL ZAPOTE

Según Azurdía *et. al.* (7), el zapote crece a lo largo de un rango altitudinal entre 0 a 1,500 metros sobre el nivel del mar. Esta especie se encuentra en diferentes tipos de clima y vegetación. Las zonas de vida a las que pertenece el zapote son: Bosque muy húmedo subtropical cálido (Bmh-S (c)), Bosque húmedo subtropical cálido (Bh-S(c)), Bosque húmedo subtropical templado (Bh-S (t)) y Monte Espinoso Subtropical (Me-S).

A) Bosque Húmedo Subtropical Calido (Bh-S(c))

De acuerdo con De la Cruz (16) esta zona de vida comprende la región norte de Petén, así como una franja de 10 a 22 Km de ancho que va desde El Salvador hasta México y en toda la Costa Sur de Guatemala. Posee un área de 27,000 Km², con suelos de excelente calidad en la costa sur, en contraste con los suelos del norte y centro del Petén, donde la vegetación primaria aún existe.

Según Azurdía *et. al.* (7), en la Costa Sur el zapote es de tipo cultivado; en Petén, son pocos los ejemplares silvestres que existen, no pudiéndose regenerarse ya que manadas de jabalís comen de los frutos y semillas cuando caen del árbol. Los árboles estudiados en condiciones silvestres en Petén son de 50 a 86 cm de DAP (Diámetro a la Altura del Pecho) y alturas de 34 a 55 metros. Los árboles de zapote cultivados en el Petén, son de 7 a 29 metros de altura y con DAP menos voluminosos 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.

B) Bosque muy húmedo Subtropical Cálido (Bmh-S(c))

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, en donde abarca los departamentos de Izabal, Norte de Alta Verapaz, Quiché y una parte de Huehuetenango, así como parte del sur de Petén. (16)

En Petén se ha encontrado al zapote juntamente con otras especies como *Virola* spp., *Ceiba pentandra*, *Terminalia amazonia*, *Vochysia hondurensis*, *Pinus caribaea*, *Brosimum alicastrum* y otras más. En Alta Verapaz se han encontrado desde los 700 metros sobre el nivel del mar, con alturas de 40 metros y 80 cm 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. (7)

En Izabal se pueden encontrar árboles de zapote, principalmente en estado cultivado, aunque existen especímenes silvestres en áreas como el sur-oeste del lago de Izabal, como en el cerro San Gil. El zapote requiere mayor humedad y suelos profundos para su desarrollo, lo que determina probablemente su escasez en la parte norte del 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 a actividad ganadera. El zapote en estado silvestre casi no existe en esta región, mientras que el cultivado se encuentra asociado a comunidades humanas, en donde crece ya sea a nivel de huerto familiar, en potreros, como sombra del cultivo de café o bien en algunos casos como plantación comercial. En esta región se produce la mayor cantidad de zapote del país, ya sea para el requerimiento del consumo nacional o para exportación a la República de México. Algunas empresas utilizan esta fruta procesándola como pulpa congelada. 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 cm de DAP; los frutos de esta región son relativamente grandes y poseen muchas semillas en sus interiores (de 1 a 3) en comparación a otros frutos de otras partes del país. (7)

Según Azurdia *et. al.* (4), los zapotes silvestres del Petén son los que presentan el fruto más grande con semillas pequeñas; llegan a poseer pesos de 617 g para el fruto y entre 4.5 a 10.4 g para las semillas. Le siguen en peso de fruto los zapotes cultivados en Petén (514 g), con un peso de semilla ligeramente mayor (2.4 - 14.3 g). Para el bosque muy húmedo subtropical cálido de la vertiente del Pacífico, los frutos son ligeramente más pequeños y menos pesados que los de Petén (452 g en promedio).

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

De la Cruz (16) indica que 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.

Según Azurdia *et. al.* (7), en esta zona, los árboles de zapote crecen junto a árboles de injerto en Quiché. En dicho departamento, 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.

D) Monte Espinoso Subtropical (Me-S)

Esta región comprende parte de los departamentos de Zacapa, Chiquimula y El Progreso. Esta región se caracteriza por su escasa precipitación pluvial anual y una alta tasa de evapotranspiración. El área es utilizada para 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 el 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, poseen "ecotonos" o dos zonas de vida en un área pequeña, 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 pinos *Pinus oocarpa*, y encinos (*Quercus sp*) coexisten con los árboles de zapote. En Zacapa, se encontraron árboles con 8 a 25 metros de altura; peso del fruto, 281 a 790 g, 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. (7)

4.1.2.6. EROSIÓN GENÉTICA DEL ZAPOTE

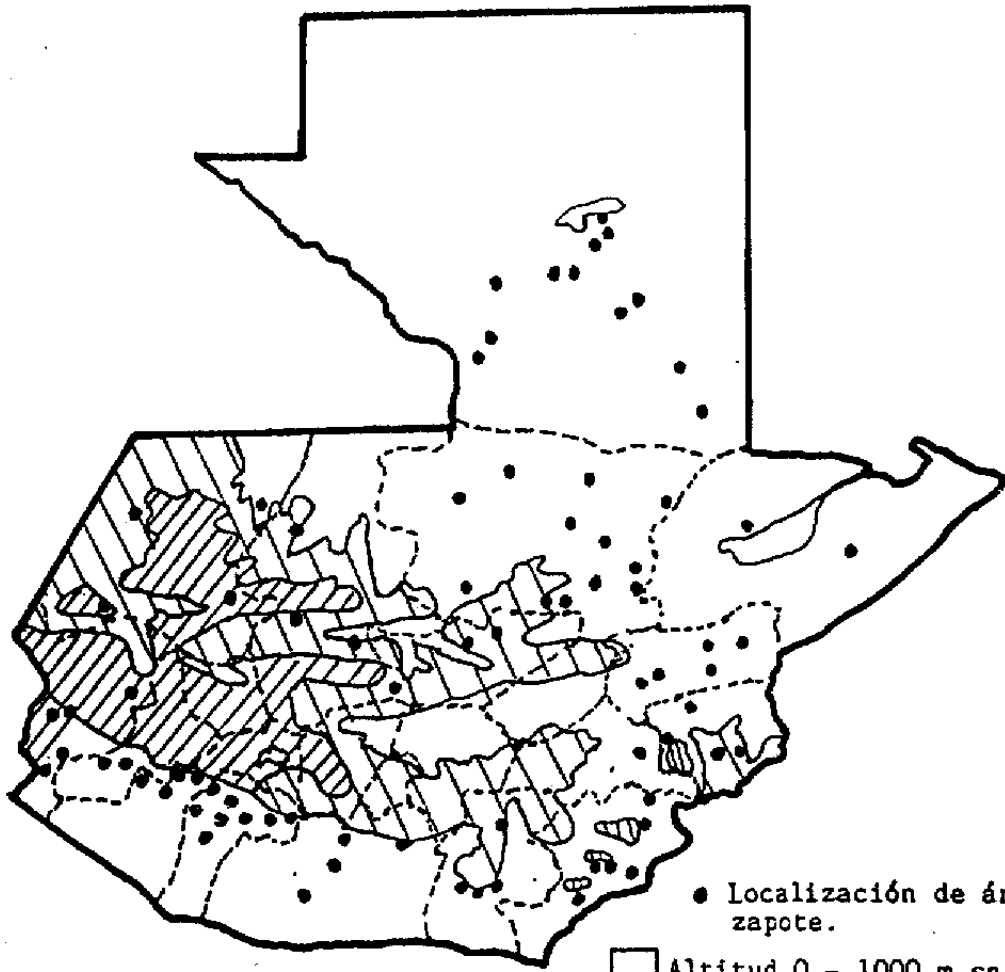
Según Azurdía (4), Petén es un enorme reservorio de sapotáceas para Guatemala, siendo este departamento una rica reserva natural poseedora de alta diversidad genética; dicho germoplasma puede ser reutilizado en el futuro, en el mejoramiento de los materiales que de una u otra manera se están cultivando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

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. De igual forma el desarrollo de estas especies 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.

Asimismo, Azurdía (7) indica que el peligro que puede vislumbrarse en el futuro inmediato no es por la destrucción de los diferentes tipos de materiales genéticos que se tienen en la actualidad, sino el

hecho de que esta especie se está incrementando considerablemente bajo el sistema de cultivo con materiales uniformes en grandes extensiones; por tanto en dichas plantaciones se requerirán materiales uniformes mejorados, para suplir la demanda internacional exigente en determinados tipos de frutos, por lo que habrá una reducción de la variabilidad genética al utilizar una sólo variedad. 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 a la Florida, EE UU, por lo cual de nuevo se puede enfrentar un proceso de relegamiento (destierro) de la amplia diversidad genética presente en el país.

En la Figura 2 se muestra la distribución geográfica del zapote y su distribución en la República de Guatemala, con detalle altitudinal.



● Localización de árboles de zapote.

□ Altitud 0 - 1000 m.s.n.m.

▨ Altitud 1000-2000 m.s.n.m.

▩ Altitud 2000-3000 m.s.n.m.

ESCALA 1:4,000,000

Figura 2. Distribución geográfica del zapote (*Pouteria sapota*) en la República de Guatemala, con referencia altitudinal. (Según Azurdia, 1996) (7)

4.1.2.7. CULTIVO, PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DEL ZAPOTE.

El mesocarpio (carnaza) de los frutos del zapote cuando maduran, es color amarillento a café rosado, suave, siendo de sabor dulce y delicioso. Los frutos inmaduros son duros y desagradablemente astringentes. (14)

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. (32)

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 fruto, pero ha sido limitada la selección de tipos superiores por propagación vegetativa. Los dos mejores cultivares en el presente son: "MAGAÑA" y "PANTIN" (ó Key West).

Además en Malasia existen dos clones populares que difieren en formas del fruto, carnaza, color y sabor. Estos son: Masjid C62 Jantung Tanah, Malacca y Subang New C63 Ciku Village, Subang Selangor. Empresas como PC Garden's Worldwide Plant Seed Seedbank venden lotes de 200 semillas a US\$ 90.00 por lote. (14)

A). REQUERIMIENTOS 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 está adaptado a áreas húmedas y calientes. Rinde mejor bajo condiciones de irrigación y es altamente tolerante a la sombra. (14)

B.) RENDIMIENTO

Entre los tres y cinco años el rendimiento del zapote es de 2 a 5 toneladas por Ha.; de los seis a los veinte años, el rendimiento es de 8 a 40 toneladas por Ha y a más de 20 años de edad, los rendimientos son de más de 42 a 50 toneladas por Hectárea. (14)

4.1.2.8. INFORMACIÓN NUTRICIONAL

Los componentes de 100 g de una porción comestible de mesocarpio de zapote se presentan en el siguiente cuadro (14):

CUADRO 1. Componentes en 100 g de una porción comestible del mesocarpio del zapote (16).

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

4.1.2.9. 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. (14)

En Malasia, el zapote se industrializa y exporta de las siguientes formas:

- * 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.

El zapote es usualmente comido en fresco. La carnaza puede ser directamente ingerida desde la fruta por el corte longitudinal y removiendo la semilla. El fruto es excelente para usarse en helados, sorbetes, gelatinas y conservas. Deliciosas bebidas pueden ser preparadas en batidos, a partir de la carnaza. La semilla puede ser molida para preparar chocolate amargo. (32)

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. (7)

4.1.2.10. COMERCIALIZACIÓN Y MERCADO

Según Azurdia (7), el zapote en Guatemala es consumido y comercializado a nivel interno. Su producción no es altamente industrializada y casi ninguna empresa lo utiliza en la fabricación de mermeladas y otros productos como helados. A nivel rural es vendido en los mercados, como fruta fresca o como los subproductos que se pueden obtener de él, como por ejemplo los "salpuyules". A nivel regional en Guatemala, el zapote sólo se consume en fresco y su industrialización es casi nula, siendo su exportación mínima hacia México y Honduras, en estado de fruto maduro. No existen datos de comercialización ni en las estadísticas nacionales del gobierno, ni a nivel privado en la Gremial de Exportadores de Guatemala.

En Malasia se ha producido el zapote con buenos resultados. A continuación se presenta una tabla con información de las exportaciones de los frutos frescos y procesados, para los años de 1987 a 1995, en Malasia. Estos datos nos indican la buena aceptación mundial que está teniendo este producto y las ganancias que puede generar en una producción industrializada. (14)

CUADRO 2. Comercialización del zapote como fruta fresca y procesada en Malasia, para el período 1987 a 1995.

ANO	FRUTA FRESCA	FRUTA PROCESADA	TOTAL (en miles de toneladas)
1,987	113,454	70,202	183,657
1,988	145,592	81,519	207,111
1,989	169,532	64,797	234,330
1,990	181,081	91,390	272,471
1,991	202,336	101,203	303,539
1,992	211,094	910,211	1,121,308
1,993	266,277	79,024	345,301
1,994	258,200	78,920	337,120
1,995	218,257	75,825	294,083
TOTALES	1,765,623	1,533,091	3,298,918

FUENTE: Ciku, Malasia, 1997. Comercialización del zapote en Tailandia (Internet). (14)

CUADRO 3. Exportación de semillas de zapote en fresco y procesadas en Malasia, para el período 1987 a 1995.

ANO	SEMILLAS FRESCAS	SEMILLAS PROCESADAS	TOTAL (en miles de toneladas)
1,987	4,975	3,507	8,482
1,988	4,293	9,393	13,687
1,989	5,152	12,824	17,976
1,990	6,996	19,102	26,098
1,991	6,112	14,632	20,744
1,992	6,025	16,568	22,594
1,993	7,115	16,840	23,958
1,994	6,810	22,716	29,527
1,995	7,665	22,298	28,964
TOTALES	66,143	137,880	190,029

FUENTE: CIKU, 1997, Malasia, Comercialización del zapote en Malasia (Internet). (14)

4.2. MARCO REFERENCIAL

4.2.1. REGIÓN SEMIÁRIDA DE GUATEMALA

Según Paiz (27), la región semiárida de Guatemala, se puede considerar como aquella comprendida en las zonas de vida: Monte Espinoso Subtropical y Bosque Seco Subtropical, según la clasificación de Holdridge. Estas dos zonas de vida consideradas como provincia de humedad semiárida, tienen precipitaciones pluviales que van de 400 a 1000 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; estos bosques son utilizados para extraer leña, y existen áreas intensamente deforestadas y utilizadas para agricultura bajo temporal o para pastoreo extensivo. También se encuentran huertos de árboles frutales con especies mayoritariamente nativas, en las riberas de los arroyos y distritos estatales de riegos.

Las tierras cultivadas en el valle intermontano del río Hato en San Agustín Acasaguastlán, El Progreso, son un claro sistema de áreas irrigadas en las riberas de arroyos. Las aguas de los ríos Hato, Aguahiel y Timiluya son encausadas en pequeñas tomas de riego, para regar caña, zacateras, cultivos anuales y árboles frutales. (Figura 3).

Paiz (27) 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 se realizaban en terraplenas, sistemas de irrigación, drenajes y terrazas, y concentrando en ellos una alta cantidad de especies útiles.

La fructificación en el área de estudio ocurre entre los meses de noviembre y diciembre. Esto difiere de otras áreas de la República de Guatemala, en donde fructifica entre marzo y abril; esto se debe al microclima y el microhabitat en que se desarrollan los zapotes de la parte alta de la cuenca, caracterizado dicho lugar, por regadíos en pendientes de medianas a fuertes; incluso existen individuos que se desarrollan a cierta distancia de los ríos Timiluya y Hato (Anexo 3).

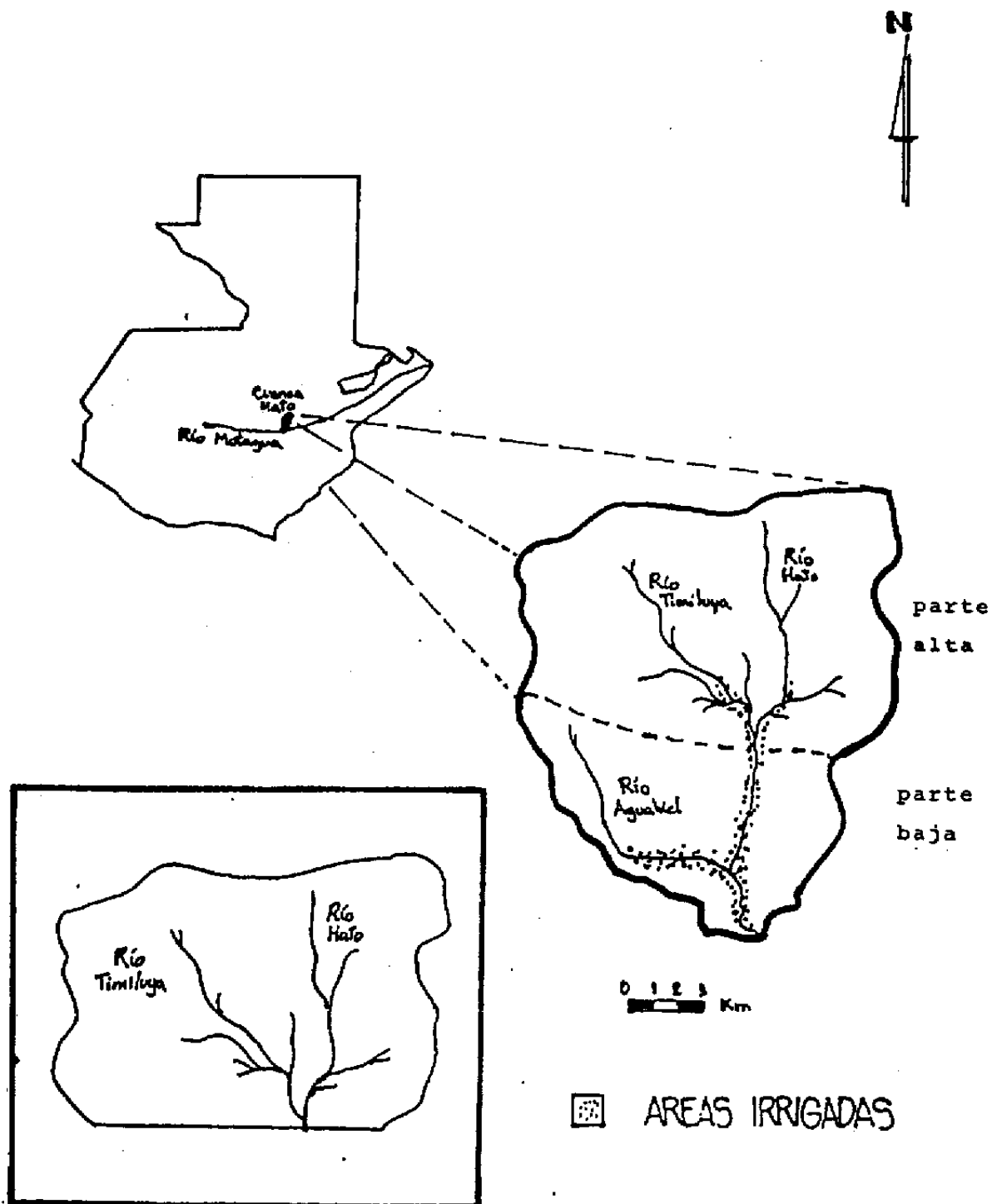


Figura 3. Cuenca del río Hato y su ubicación en la República de Guatemala. Se muestran las dos partes de la cuenca (parte alta y parte baja), y las tierras regables de la misma.

(Fuente: Paiz, 1994) (31)

4.2.2. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL ÁREA

4.2.2.1. UBICACION Y LOCALIZACION

El área de estudio corresponde a las tierras irrigadas o no irrigadas, 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 ríos tributarios Aguahicil, Timiluya y Hato respectivamente.

Toda el área pertenece política y administrativamente al municipio de San Agustín Acasaguastlán, del departamento de El Progreso. Las coordenadas geográficas y la altura sobre el nivel del mar, del área de estudio son las siguientes:

LATTUD NORTE: 15°01'12" a 15°05'24"

LONGITUD OESTE: 90°00'16" a 90°02'35"

ALTTUD: 422 m.s.n.m a 800 m.s.n.m (aproximadamente a la altura del poblado de Chanrayo).

La Figura 3 muestra la ubicación de la cuenca del río Hato dentro de la República de Guatemala.

4.2.2.2. CARACTERISTICAS CLIMATICAS

Según Paiz (27) las estaciones metereológicas 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 (28) menciona 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 manm,

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%.

4.2.2.3. ZONAS DE VIDA

Según la clasificación de zonas de vida de la República de Guatemala, presentado por De la Cruz (16), 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.

4.2.2.4. HIDROGRAFIA

Paíz (27) indica que 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 (Figura 3). Existen áreas de frutales en todas las subcuencas en cantidad significativa y en forma representativa, existiendo algunas áreas que no poseen zapotes, lo que permite diferenciar la parte baja y la parte alta del área de estudio en la cuenca del río Hato. (Ver Anexo 3)

4.2.2.5. SUELOS

Segun Paiz (27), los suelos del área se originan 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. El área pertenece 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 afloramientos 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.

Según la clasificación de Simmons et. al., los suelos pertenecen a los suelos de los valles. 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 Acaaguastlán, los cuales son poco profundos, de color café rojizo oscuro, franco arcillosos desarrollados sobre serpentina. La parte alta ocupa un relieve de ondulado a inclinado, teniendo la mayoría pendientes entre el 15 y 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. (28)

4.2.2.6. FLORA

En la parte alta de la cuenca, alejada de las riberas del río, existe un bosque mixto reportado por Pensamiento (28). Este bosque mixto posee pino (*Pinus oocarpa*) y encino (*Quercus* sp.) con un sotobosque constituido por nance (*Birsonima crassifolia*) y sare (*Acaasia* sp.). Este tipo de bosque es usado con fines energéticos de leña y madera para construcción.

En áreas de potreros existen especies típicas de la zona de vida del Monte Espinoso como brasil (*Haemataxylum brasiletto*), caulote (*Guazuma ulmifolia*), guayaba (*Psidium guajaba*), jocote tronador (*Spondias dulcis*) y yaje (*Leucaena* sp.). 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*), cushín (*Inga* sp.), chico (*Mantikara zapota*) entre otras.

Pensamiento (28) reporta que existe zapote (*Pouteria sapota*) formando una faja en toda la ribera del río Timiluya y del río Hato.

4.2.2.7. ASPECTOS HISTORICOS DEL AREA

Paiz (27) menciona que el medio geofísico del 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 período Clásico Tardío como en Guaytán y en el Postclásico de la cultura maya, como en 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 proveniente de la región que actualmente ocupa México, conquistaron a los Pokom, prevaleciendo lingüísticamente el Nahuatl Pipil. (21)

Los españoles conquistaron el Valle Medio del Motagua por el año de 1530, 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. (21)

Según el Diccionario Geográfico Nacional (21), no se conoce con exactitud la antigüedad del uso del agua para riego, así como la del cultivo o manipulación de árboles frutales. Pero en 1769 Cortes y Larraz, y Fuentes y Guzmán, reportan agricultura en estas tierras, mencionando como plantas principales: "el cacao, pifueles, cocos, zapotes, plátanos, vainilla, zarzaparilla, brasil y guayacan".

Sin embargo, Paiz (27) menciona que los huertos de 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, así como por la alta manipulación de especies nativas actuales que la literatura señala, fueron objeto de manipulación por Mayas.

4.2.3. REFERENCIAS DE ESTUDIOS REALIZADOS CON ELECTROFORESIS DE ISOENZIMAS Y CARACTERIZACIÓN DE ZAPOTES

Según Utrera y Martínez (34), en el país existe una diversidad de cultivares de zapote cuyas diferencias estriban en caracteres muy fácilmente observables. Entre estos caracteres podemos mencionar: el tamaño del fruto, el peso del fruto completo, mesocarpio y semilla, grosor del epicarpio, época de inicio y final de floración y fructificación, intervalo de tiempo transcurrido entre la floración y la cosecha, altura del árbol, largo, ancho y coloración de las hojas y otros. Estos datos son tomados muy en cuenta en las caracterizaciones morfológicas o "in situ" realizadas en varios lugares, como en Chiquimulilla y Guazacapán, en Santa Rosa, así como el estudio realizado en el municipio de San Agustín Acasaguastlán, El Progreso.

Por otra parte la caracterización puede ser también bioquímica, cuando se realiza con marcadores moleculares (por ejemplo las isoenzimas), que proveen información de las variaciones entre los individuos del estudio. En este sentido Azurdía y Bliss (2) realizaron un estudio del sistema reproductivo y estructura genética de *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus polyanthus* y *Phaseolus lunatus* en Guatemala. Aquí demostraron que la frecuencia de los entrecruzamientos es muy variable y que no siempre siguen un patrón de aleatorización. En este estudio se tomaron semillas de un total de 13 poblaciones de especies de *Phaseolus*, colectadas en enero de 1993, en el centro y oeste de Guatemala, desde una altura de 1,400 a 2,500 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.). Al menos 10 semillas de cada una de las muestras colectadas, fueron cultivadas en invernadero y puestas en análisis de electroforesis en geles al 10% de almidón. Cinco enzimas (SKDH, 6GPDH, LAP2, ME, ACO) todas polimórficas, fueron usadas para la estimación de los sistemas de apareamiento y los parámetros de estructura genética.

Los cálculos de las tasas de entrecruzamiento multiloculares (t_m) fueron calculadas usando MLT, un programa de computación, realizado por Ritland y Jain en 1981. El genotipo maternal más probable de cada familia fue inferido por el método de Brown y Allard (1970) y las tasas de entrecruzamiento fueron estimadas vía método de Newton-Raphson. Se obtuvieron valores de heterocigocidad observada y

heterozigocidad esperada (Hobs y Hesp, respectivamente) y los índices de estabilidad (F) fueron calculados usando la fórmula $F = 1 - (Hobs/Hesp)$.

Los resultados de estas tres especies de frijol destacan en el hecho de que obtuvieron altas tasas de entrecruzamiento, y con ello una alta diversidad genética "intrapoblacional" (dentro de la población), aunque no lo fue "interpoblaciones" (entre las poblaciones de las diferentes especies). Si existe una alta tasa de entrecruzamiento, los índices de estabilidad o fijación (F), son bajos o incluso negativos.

Por otro lado en la Isla Barro Colorado, Panamá, Hamrick y Murawski (22) realizaron estudios de sistemas reproductivos en poblaciones de árboles tropicales. Por análisis de aloenzimas para 16 especies leñosas encontraron que la distribución de la diversidad genética de los sitios en donde se colectó está muy relacionada con la estructura de los órganos reproductivos y sus sistemas de reproducción, así como los mecanismos de dispersión de las semillas. Los árboles tropicales poseen en su inmensa mayoría un sistema de apareamiento mixto, con predominancia de entrecruzamiento. Sólo una especie de las 16 estudiadas: (*Cavanillesia plantanifolia*) era autopolinizada.

Dentro de estos estudios, Hamrick y Murawski (23), realizaron uno en *Ceiba pentandra* (familia bombacaceae) en el mismo lugar. Análisis de aloenzimas de los sistemas de apareamiento mostraron que especies polinizadas por murciélagos, presentan una mezcla de autopolinización y entrecruzamiento, con una tasa de entrecruzamiento poblacional de 0.689. Los datos de árboles individuales se dan desde completa autopolinización hasta completo entrecruzamiento. El entrecruzamiento entre individuos muestreados no fue al azar, posiblemente debido a la asincronía en los tiempos de floración, la selección del árbol que contenía el polen y la no aleatorización de la conducta polinizadora de los murciélagos. Este estudio reviste gran importancia ya que de aquí fue obtenido un dato concreto de separación entre árboles maternos o seleccionados. De estos árboles se recogió la semilla y de las plántulas que nacieron de estas semillas, se realizaron los análisis de electroforesis. Los estudios de tasas de entrecruzamiento en árboles tropicales están basados en su gran mayoría en este tipo de estudios. En ambos estudios se usó el programa MLT de Ritland y Jain, el cual se describe de manera general a continuación.

4.2.3. ASPECTOS SOBRE EL PROGRAMA DE ESTIMACION MULTILOCULAR (MLT)

Este programa fue realizado por Ritland (29), del departamento de Botánica de la Universidad de Toronto, Canadá. El MLT está basado en la estimación del entrecruzamiento multilocular elaborado por Ritland y Jain (1981). Este programa usa desde 1 a 10 loci (más de 20 loci con redimensionamiento). Cada locus puede tener de 2 a 3 alelos o incluso más, desde una serie de datos de más de 20 loci. Más de 100 familias y 1000 individuos (incluyendo los genotipos parentales) pueden ser usados; estas cifras pueden también ser incrementadas por redimensionamiento y recompilación del programa.

El programa simultáneamente estima:

- 1) la tasa de entrecruzamiento multilocular de la población (t_m) por el método Newton-Raphson,
- 2) la tasa de entrecruzamiento promedio poblacional de un simple locus (t_s),
- 3) el coeficiente de entrecruzamiento promedio de un locus simple de los árboles madres (F),
- 4) las frecuencias alélicas del polen y óvulo (p y o) por el método de expectación y maximización,
- 5) las varianzas de las cantidades arriba mencionadas usando el método de la trampa donde la progeñie ordenada (sin familias) es la unidad de remuestreo (500 trampas usadas).

El genotipo materno puede o no puede ser conocido. Cuando no es conocido (el caso más común), el método de Brown y Allard es usado para inferir el genotipo materno más adecuado de cada familia. El tamaño de la familia puede ser de 8 mínimo, aunque se puede con 5 a 6 también, si el entrecruzamiento es menor de 0.5.

El programa encuentra el dato "t" (tasa de entrecruzamiento) y el dato "F" (coeficiente del genotipo maternal promedio de un locus simple), por el método de Newton-Raphson y las frecuencias genéticas por el método de espera y maximización (E-M). (29)

El método de Newton-Raphson es usado para t y F debido a que es más rápido y proporciona valores estadísticamente válidos, mucho más grandes que 1.0, mientras que el método E-M es más lento, pero seguro para encontrar los valores difíciles de la frecuencia de los genes de polen.

Se requieren de 512 a 640 K de memoria, siendo compilado el programa por el Microsoft 3.31 Fortran. Una estimación de 4 loci y 400 individuos toma de 1 a 4 minutos con un coprocesador matemático en el PC. Existe un segundo programa suplementario, el DATAGEN, que produce una generación artificial de datos. (29)

En la primera línea se dan los nombres de los loci enlistados. Cuatro caracteres son dados por locus; nombres más grandes no son anotados y los espacios en blanco son insertados si los nombres son menores de 4 caracteres. Arriba de 20 loci pueden ser codificados en un archivo. (Solamente más de 10 loci pueden ser usados para correr el programa MLT). Los códigos para los 6 genotipos de un locus trialélico siendo los alelos A1, A2 y A3 son:

$A1A1=1$; $A1A2=2$; $A2A2=3$; $A1A3=4$; $A3A3=5$; $A2A3=6$; alelos perdidos = 0.

Si son solo dos alelos en el locus, se deberá usar solamente 0, 1, 2, 3. Por ejemplo la frecuencia del alelo A3 = 0.0. Las familias pueden ser agrupadas juntas. Un archivo con cuatro loci, donde la parentela maternal es conocida solamente en PGI e IDH en la familia 2 y no es conocido en las otras familias, podría verse, como se muestra en el Cuadro 4.

CUADRO 4. EJEMPLO DE COLOCACION DE DATOS DE FAMILIAS DE UN ALELO 4, EN EL PROGRAMA "MLT" DE RITLAND Y JAIN. (29)

FAMILIA/ENZIMA	PGI	PGM	IDH	EST	(A4,4I2)
FAMILIA 1	6	1	3	5	
FAMILIA 1	0	2	3	5	
FAMILIA 1	2	1	3	5	
FAMILIA 1	2	1	4	4	
FAMILIA 1	1	1	3	1	
FAMILIA 1	1	1	3	4	
FAMILIA 2	3	0	1	0	
FAMILIA 2 -	2	1	1	1	
FAMILIA 2	1	1	1	2	
FAMILIA 2	1	1	0	2	
FAMILIA 2	3	1	2	1	
FAMILIA 3	0	1	1	1	
y así de este modo.					

Los números que corresponden a cada familia, son los enlistados en la parte superior. Por ejemplo, para la familia 1 en la isoenzima PGI, el número es 6. Este número 6, corresponde al número asignado al genotipo $A_2A_3 = 6$. De esta forma se colocan los datos en este programa. Posteriormente el programa corre dichos datos y despliega los resultados en la pantalla. Los resultados presentados son la tasa de entrecruzamiento (t_m), el índice de estabilidad (F) y otros, anteriormente mencionados.

4.2.5. ANALISIS DE LAS TASAS DE ENTRECruzAMIENTO Y LA ESTRUCTURA GENETICA DE POBLACIONES

Las tasas de entrecruzamiento multilocular (t_m) comúnmente son valores más altos que las tasas de entrecruzamiento unilocular o de un locus simple (t_s). Estas tasas de entrecruzamiento, nos indican si una planta es alógama o es autógama. Las tasas de entrecruzamiento multilocular (t_m) al denotar valores alto,

indican alto entrecruzamiento, por lo que esto puede sugerir que es una planta alógama. Si el entrecruzamiento es bajo, la planta será autógama, es decir, se autopoliniza. Según Hamrick (22), una tasa de entrecruzamiento es alta con valores de 0.88 a 1.08. Especies como *Quararibea* y *Trichilia* poseen altos valores, pudiendo indicar que pueden ser autoincompatibles.

Los valores bajos de entrecruzamiento, no sólo indican autopolinización, sino también entrecruzamiento biparental o heterogeneidad en las frecuencias alélicas del polen entre los árboles maternos. Con el análisis de los valores de entrecruzamiento multilocular y unilocular, se puede determinar el modelo reproductor más exacto del zapote.

Junto con los valores de las tasas de entrecruzamiento multilocular (t_m %), se obtienen los valores de la diversidad genética total (H_t), el valor de diversidad que existe dentro de las poblaciones (intra poblacional, H_s), el valor de la diversidad entre las poblaciones (inter poblacional, D_{st}), el coeficiente de variación genética (G_{st}), y el radio de diversidad genética inter e intra poblacional (R_{st}).

La diversidad genética total (H_t), es la suma de las diversidades intra poblacional e inter poblacional ($H_t = H_s + D_{st}$). Estos valores se analizan de la siguiente manera:

- a) Con una tasa de entrecruzamiento multilocular alta (t_m alto), la diversidad genética total y la diversidad genética intra poblacional son altas; la variación inter poblacional tendrá un valor bajo, junto con los valores del coeficiente de diversidad genética (G_{st}), la diferenciación absoluta genética (D_m) y el radio de diversidad genética inter e intra poblacional (R_{st}).
- b) Con una tasa de entrecruzamiento multilocular baja (t_m bajo), ocurre a la inversa, la diversidad genética total y la diversidad intra poblacional tendrán valores bajos, y la diversidad genética interpoblacional será alta, junto con los otros parámetros mencionados en el inciso anterior que poseerán también valores altos.

Hamrick (23) indica que los árboles tropicales poseen una alta variación inter (entre poblaciones) e intra poblacional (dentro de poblaciones), con un gran movimiento o flujo de genes. Muchos estudios

han demostrado que las especies autopolinizadas poseen bajos niveles de variación "intrapoblacional". Las especies que tienen poco movimiento genético también tienen menos diversidad a nivel de especies y es más grande su proporción de diversidad genética "interpoblacional".

En especies que poseen entrecruzamiento existe un potencial más grande de movimiento de genes que las especies autopolinizadas y están típicamente caracterizadas por una alta cantidad de especies y diversidad "intrapoblacional", así como poca cantidad de diversidad "inter poblacional", incluso entre las subdivisiones de dicha población.

La variación intrapoblacional se determina con la proporción de loci polimórficos, los números exactos de alelos por locus y la diversidad genética se basa en las expectativas de la ley de Hardy-Weinberg. La diversidad genética inter poblacional se determina por los cálculos de distancia de Nei.

Azurdia y Bliss (2) indican que la interpretación de la variación interpoblacional es difícil pudiéndose deber a las diferencias genéticas o ambientales entre las poblaciones.

Con los valores de heterozigosidad esperada (H_{exp}) y heterozigosidad observada (H_{obs}) de las familias en estudio puede ser calculado el índice de estabilidad (F), el cual se determina con la fórmula : $F = 1 - (H_{obs}/H_{exp})$; este índice está muy relacionado a la teoría del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Cuando los valores de heterozigosidad observada (H_{obs}) son mayores que los de Heterozigosidad esperada (H_{exp}) [$H_{obs} > H_{exp}$], entonces existe una heterozigosidad alta en las plantas. Un índice de estabilidad (F) positivo y grande, corresponde a tasas de entrecruzamiento multilocular bajas (tm bajas), o viceversa. De igual manera un índice de estabilidad negativo ($F -$), indica alto entrecruzamiento (tm alto).

Los valores negativos de F son asociados con apareamientos disortativos y la selección de heterozigotos favorecidos; de esta forma, los valores de F , varían significativamente desde cero (0), el cual es el valor de F esperado bajo condiciones de equilibrio de Hardy-Weinberg. Los valores de heterozigosidad debajo de los niveles esperados indican una desviación del apareamiento aleatorio, mientras que las tasas de entrecruzamiento debajo de la unidad (menores que 1), implican una imperfección en el mecanismo de entrecruzamiento. Todos los anteriores valores mencionados nos

ayudan a determinar el sistema reproductor del zapote a partir del análisis de los marcadores isoenzimáticos; con estos valores y su respectivo análisis se obtiene la estructura genética poblacional de una especie en estudio.

Según Villee (35) un alelo (del griego *allelon*: de otro), es cualquiera de un grupo de formas alternantes de un gen que pueden encontrarse en un punto dado (locus) sobre un cromosoma. En el caso de los zimogramas, los alelos están representados por bandas, en un "locus" que se encuentra a cierta distancia del punto original o distancia 0 cm. Azurdía (9) y Nufio (30) presentan los patrones de bandas electroforéticos para el zapote, los cuales se muestran en el Anexo 6 (y Figura 11), y sirven para aclarar la idea de las bandas (alelos) y el lugar que ocupan (locus).

Se le denomina loci, al plural de locus, o sea, un conjunto de locus. En los zimogramas los loci, pertenecen al conjunto de bandas que posee una isoenzima en su patrón. Por ejemplo en el Anexo 8, se denota el conjunto de tres bandas que tiene la esterasa (EST) y dos bandas que tiene la enzima ADH.

Las diferentes frecuencias alélicas de cada familia se refieren al número de veces que se repiten los alelos en los individuos a ser estudiados; estas frecuencias son presentadas como porcentajes de frecuencias para cada alelo. Con estos porcentajes se indica entonces la frecuencia con que un alelo (o una banda) aparece en cada familia, en porcentaje del total de bandas o alelos. Por ejemplo, la enzima SKDH (ácido shikímico deshidrogenasa), posee tres alelos: alelo 100, alelo 102 y alelo 103. Si asignáramos un valor de 47% de frecuencia al alelo 103, 45% de frecuencia al alelo 102 y de 8% de frecuencia al alelo 100, tendríamos una sumatoria de frecuencia total de 100%. Este es el caso del frijol silvestre, en el estudio realizado por Azurdía y Bliss (2), en *Phaseolus polyanthus*.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

5.1.1. Identificar el sistema reproductivo y la estructura genética de la población de *Pouteria sapota* de la parte alta de la cuenca del río Hato, municipio de San Agustín Acasaguastlán, El Progreso.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.2.1. Determinar las tasas de entrecruzamiento multilocular y unilocular de las poblaciones de zapote (t_m y t_s , respectivamente), así como el modelo reproductor más exacto (alógamo o autógeno) para dicha especie.

5.2.2. Determinar la diversidad genética existente entre poblaciones y dentro de la población de zapote (*Pouteria sapota*), mediante los componentes de diversidad genética (heterocigosidades y diversidad inter e intra poblacional) del área de estudio.

6. HIPÓTESIS

- 6.1. El zapote (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearn) es una planta con sistema de apareamiento alógamo, ya que es una especie arbórea con flores perfectas.

- 6.2. Existe una alta variación intra poblacional en la población cultivada de *Pouteria sapota*, en la parte alta de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán.

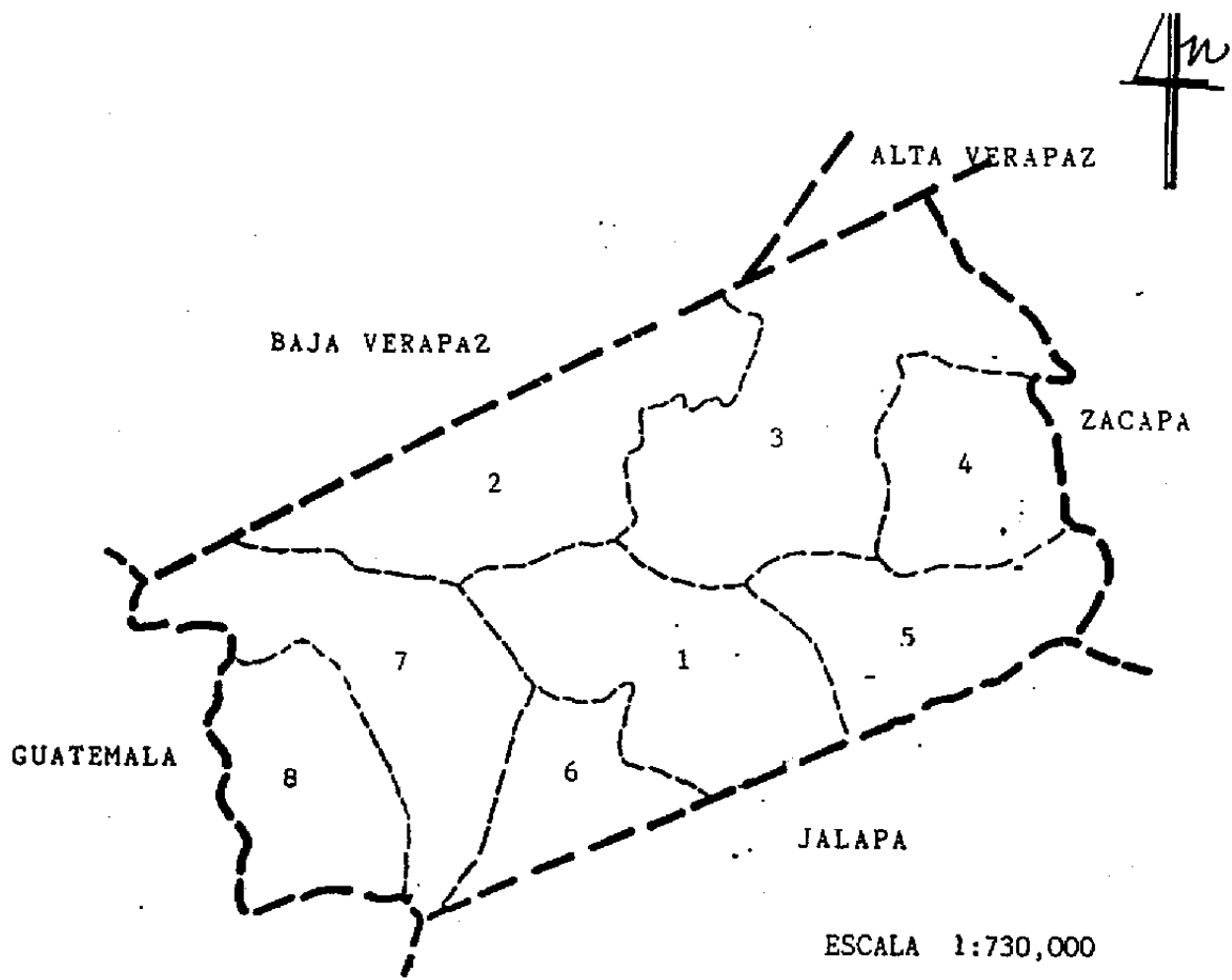
7. METODOLOGÍA

7.1. ANTECEDENTES Y UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio es parte del proyecto de Frutales Tropicales: "Parte I Sapotáceas", y fue realizado en la población de zapotes de la cuenca del río Hato, de San Agustín Acasaguastlán.

La cuenca del río Hato posee en su cauce áreas irrigadas y naturales cultivadas con zapotes. Esta área se encuentra ubicada en el departamento de El Progreso, al este de Guatemala, en el municipio San Agustín Acasaguastlán (Figura 4 y Figura 5). La parte alta de la cuenca del río Hato, posee una extensión de 8 Km²; dicha área comprende sólo los lugares en donde se encuentran los árboles de zapote seleccionados para el análisis isoenzimático.

En la cuenca del río Hato se realizaron dos caracterizaciones: la agromorfológica y la bioquímica; para esta última caracterización se usaron marcadores isoenzimáticos (Azurdia *et al.* (10)). La caracterización agromorfológica fue realizada en un estudio perteneciente al mismo proyecto, y anterior al presente estudio. En el presente estudio se enfoca sólo la caracterización bioquímica, pero toma en cuenta en la discusión de resultados, el estudio de la caracterización agromorfológica. Al realizarse el estudio de caracterización morfológica de *Pouteria sapota* en la cuenca del río Hato, Azurdia *et al.* (10) sentó las bases para la realización del estudio de caracterización bioquímica usando marcadores isoenzimáticos. Ambas investigaciones son parte de una serie de subproyectos del proyecto de Sapotáceas, de la Facultad de Agronomía y del Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI). De esta forma fueron muestrados en el estudio de caracterización morfológica, los lugares que poseían zapote (*Pouteria sapota*) a lo largo de la cuenca del río Hato y sus ríos afluentes Timiluya, Aguahiel y Hato; se dividió la población de zapotes en la población de la parte alta y la población de la parte baja de la cuenca; esta división se realizó en base a criterio geográfico. Fueron seleccionados 80 árboles a lo largo de toda la



DISTANCIA DE GUATEMALA A EL PROGRESO: 73 Km.

REFERENCIA:

- 1. El Progreso, Guastatoya
- 2. Morazán
- 3. San Agustín
- 4. San Cristóbal Acasaguastlán.
- 5. El Júcaro
- 6. Sansare
- 7. Sanarate y 8. San Antonio La Paz.

**Figura 4. Departamento de El Progreso con sus municipios.
(Fuente: Pensamiento, 1987) (32)**

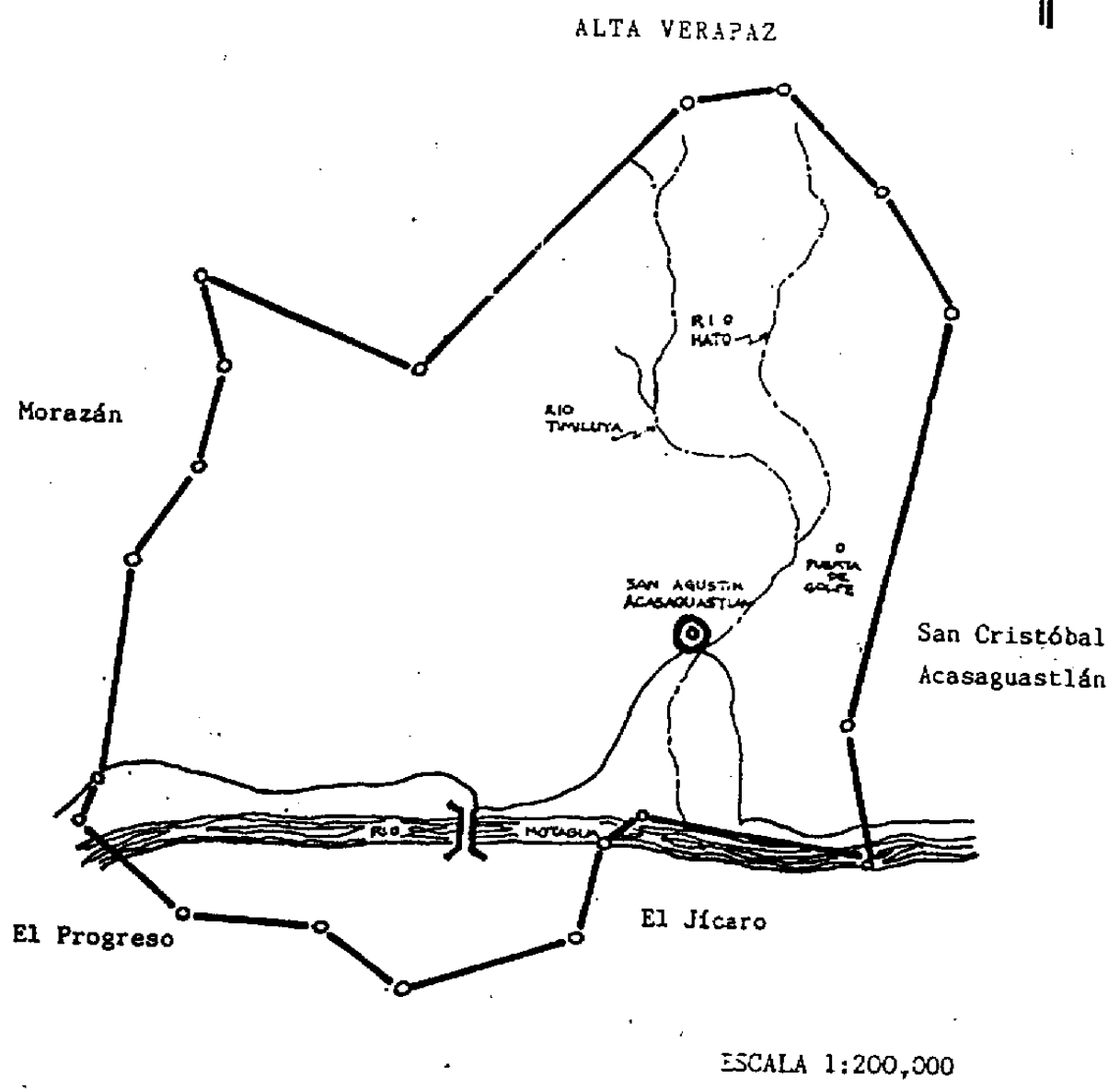


Figura 5. Municipio de San Agustín Acasaguastlán. En "Puerta de Golpe" se divide la población de la parte ALTA y la parte BAJA de la cuenca del río Hato.

cuenca. La mitad de estos árboles corresponden a la parte alta y la otra mitad corresponden a la parte baja de la cuenca. La parte alta posee los zapotes identificados con los números del PRO-41 al PRO-78, incluyendo PRO-23 y PRO-25; (PRO significa El Progreso). Estos árboles están separados uno del otro aproximadamente por 200 metros. Este criterio de distanciamiento fue tomado del estudio realizado por Hamrick (22, 23), en la Isla Barro Colorado en Panamá en *Ceiba pentandra*, donde tomó como distancia promedio 100 metros entre árboles.

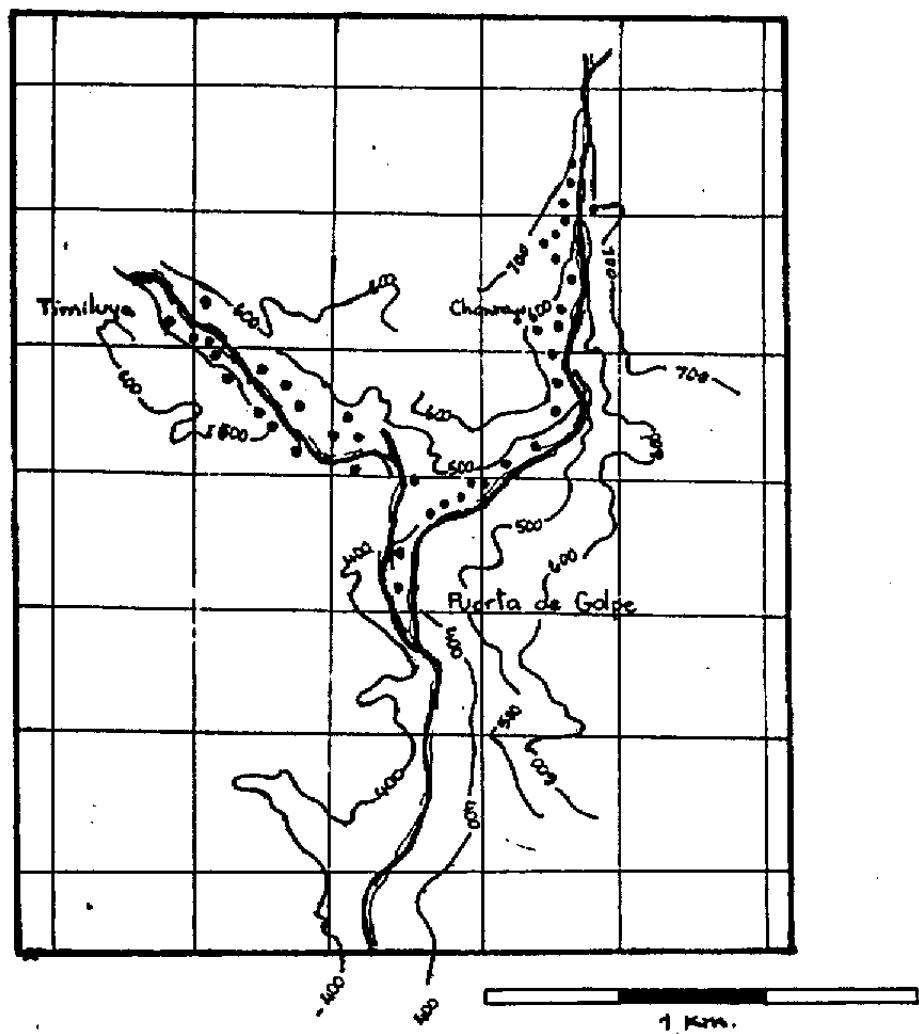
El límite natural entre la parte alta y la parte baja de la cuenca, se encuentra en la unión de los ríos Timiluya y Aguahiel, que provienen de la parte alta del área de estudio. En noviembre y diciembre de 1996, se realizó una caracterización agromorfológica de los zapotes, colectando de cada árbol madre, 10 frutos con sus semillas, las cuales servirían luego para el estudio de caracterización bioquímica y tasas de entrecruzamiento al cual nos referimos en esta investigación. Estas semillas fueron colocadas en semilleros elaborados con una mezcla de arena y tierra negra. Los semilleros no tuvieron ningún tratamiento especial más que el riego constante y el control de insectos; cuando germinaron las plantas fueron posteriormente trasplantadas a bolsas de polietileno negro. Estos semilleros fueron realizados en la Unidad Docente Sabana Grande, Escuintla, finca de la Facultad de Agronomía.

De cada árbol seleccionado (al cual se le llamó árbol materno o "entrada" - que es el individuo con el genotipo materno-), fueron tomados 10 individuos (llamados generación filial 1 o F1), y al conjunto de árboles hijos de cada árbol materno, se les denominó familia.

El total de individuos de la F1 para la parte alta es de 400 plantas aproximadamente, del total de 40 entradas o árboles madres, pertenecientes a la parte alta (Figura 6).

Los individuos de la F1, fueron llevados al campus central de la USAC, para ser analizados en laboratorio por el método de electroforesis con geles de poliacrilamida al 12% (Ver Anexo 4).

Se evaluaron con dichos individuos 4 sistemas enzimáticos : a) ESTERASA b) ALCOHOL DESHIDROGENASA c) ACIDO SHIKÍMICO DESHIDROGENASA y d) PEROXIDASA.






-  Río Hato
-  Curvas a nivel (en metros sobre el nivel del mar m.s.n.m.)
-  Arbol de zapote.

Figura 6. Distribución de los árboles de zapote (*Pouteria sapota* (Jacq.) Stearm Moore) en la parte alta de la cuenca del río Hato, con referencia altitudinal y longitud horizontal.

7.2. COLECTA Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA

La metodología del proceso de electroforesis con marcadores isoenzimáticos para zapotes, fue tomada de las investigaciones realizadas por Nufio (26). Esta metodología sigue los siguientes pasos: Cada treinta días fueron trasladadas 10 familias de zapote (100 plantas, provenientes de 10 plantas con genotipo materno), de la finca Sabana Grande, Escuintla, al invernadero de vidrio de la Facultad de Agronomía, USAC, campus central. Las familias de la parte alta de la cuenca del río Hato, que fueron analizadas por electroforesis corresponden a los números PRO-41 a PRO-78, incluyendo PRO-23 y PRO-25.

Se usaron brotes tiernos, los que se transportaban al laboratorio en frascos de cristal debidamente identificados. Para evitar la pérdida de humedad de las muestras, se cortaban inmediatamente en pequeños fragmentos, los cuales servían para la obtención del extracto vegetal. En otro caso, se mantenían en un congelador o hielera, para mantener la turgencia de las hojas cortadas.

7.3. 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 fue el siguiente:

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

* Se agregan al momento de ser usado el Buffer. También se agrega 1 mg de Bromofenol a cada 10 ml de Buffer el que indicará el frente durante la corrida electroforética (30).

Cada muestra vegetal se maceró hasta formar un extracto líquido y se trasladó a un tubo de reacción frío debidamente identificado, el cual se centrifugó durante 10 a 15 minutos a bajas temperaturas. Posteriormente, se toman 350 microlitros del sobrenadante de la muestra, el cual se traslada a otro tubo de reacción en frío, al cual previamente se le añade 50 microlitros de glicerina con la finalidad de agregar peso a la muestra. Al llegar a esta fase, las muestras están listas para dar inicio a la electroforesis. Estas muestras podrán mantenerse en congelación hasta tres días máximo.

7.4. PREPARACIÓN DE LAS GELES DE POLIACRILAMIDA

El sistema que se utilizó fue un sistema discontinuo, consistente en una gel de resolución al 12% de acrilamida y una gel de concentración al 4% de acrilamida; esta gel fue preparada según la metodología de Chrambach y Rodbard (1971), citados por Nufio (30); esta gel posee una modificación, que consiste en una tercera gel con un pH de 8.3. La electroforesis se efectuó en una dimensión siguiendo el método de Laemmli (1970) pero sin la adición de Duodecilsulfato de Sodio (SDS). Las soluciones madres para la preparación de las geles y amortiguadores se presentan en el Anexo 1.

7.5. CARGADO DE LAS MUESTRAS

Cuando el aparato de electroforesis tiene colocadas las geles de concentración ya polimerizadas, se procede a añadir el Buffer de Electrodo frío. Inmediatamente después se depositan entre 40 a 100 microlitros del extracto vegetal en cada pozo de la gel cuya dimensión es 20 x 16 cm. Esto se realiza con una micropipeta de 20 microlitros.

7.6. REALIZACIÓN DE LA CORRIDA ELECTROFORÉTICA

La corrida electroforética se realiza dentro de un ambiente totalmente frío. El aparato de electroforesis (PROTEAN II), se coloca dentro de un refrigerador a -4°C . Además, a éste aparato se le

conecta un sistema de recirculación de agua fría. Se realiza la corrida electroforética haciendo uso de una carga eléctrica de 200 voltios durante 4 horas proveniente de una fuente de poder.

7.7. TINCIÓN Y REVELACIÓN DE ENZIMAS

Durante el transcurso de la corrida, se procede a pesar y medir los reactivos para tefir dos enzimas, debido a que sólo se corren dos geles en cada ensayo. Inmediatamente después de finalizarse el tiempo de corrida, se procede a apagar la fuente de poder y el recirculador, y se separan las geles en forma simultánea. Seguidamente se diluyen los reactivos para formar el colorante específico para la enzima que se quiere revelar. Para identificar la posición u orden de las muestras se le hace a la gel un corte en la esquina inferior izquierda. En la tinción se usan 50 mL de la solución de la isoenzima para cada gel (Ver Anexo 4).

7.8. SISTEMAS ENZIMATICOS QUE SE EVALUAN

Los sistemas enzimáticos propuestos a ser estudiados por su polimorfismo fueron:

- * ESTERASA (EST)
- * ALCOHOL DESHIDROGENASA (ADH)
- * ACIDO SHIKÍMICO DESHIDROGENASA (SKDH)
- * PEROXIDASA (PER)

Se usó la metodología de Vallejos (1983) y Stuber et. al. (1988), citados por Nufio (30), en las 40 familias a estudiar. Las soluciones reveladoras de estas enzimas se describen en el Anexo 2.

7.9. CÁLCULOS DE LOS SISTEMAS DE APAREAMIENTO

El cálculo de la tasa de entrecruzamiento multilocular (t_m) fue realizado usando el programa MLT, elaborado por Ritland (29), un programa que está basado en el modelo multilocular de Ritland y Jain (1981). Los supuestos estadísticos para la determinación de la tasa de entrecruzamiento de este programa están referidos en la sección 4.2.4, en Aspectos sobre el Programa de Estimación Multilocular (MLT). El genotipo materno más probable de cada familia fue inferido por el método de Brown y Allard (1970) y el valor de entrecruzamiento fue estimado por el método Newton-Raphson.

El ajuste más adecuado al modelo de apareamiento mixto fue evaluado por una prueba de Chi-cuadrado. También fueron calculados los valores de heterocigosidad observada y los valores de heterocigosidad esperada (H observada y H esperada, respectivamente). Estos valores fueron calculados también con el programa MLT. Los índices de estabilidad (F) que fueron calculados manualmente usando la fórmula

$$F = 1 - (H_{\text{observadas}} / H_{\text{esperadas}}).$$

El índice de estabilidad (F) se refiere a la estabilidad que tiene un gen en no variar en el tiempo al entrecruzarse. Para esto es importante tener presente la ley de Hardy-Weinberg, la cual es citada por Villes (35). Esta ley está basada en la siguiente fórmula: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$.

7.10. ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA

Se usaron las estadísticas de distancias de diversidad genética de Nei (1973), mediante el programa NDD (Nei's Diversity Distance), para medir el total de diversidad genética (H_t) de los datos de isoenzimas, así como las diferencias intra (H_s) e inter poblacionales (D_{st}). Las distancias de Nei (D) fueron usadas para computar las distancias del par genético discreto. Un dendrograma fue construido a partir de la distancia genética usando el método de los grupos de pares descargados, elaborado por Sneath y Sokal (1973), mencionados por Nufio (30) y Hamrick (25).

En el Anexo 5 se presentan las entradas y salidas del programa de Estimación Multilocular (MLT), así como el de Diversidad de Nei (NDD).

8. RESULTADOS

8.1. ENZIMAS POLIMORFICAS

Se estudiaron cuatro isoenzimas previamente evaluadas y consideradas como polimórficas (SKDH, ADH, PRX y EST); sin embargo, sólo dos produjeron resultados consistentes y fácilmente interpretables desde el punto de vista genético. Para el caso de la Esterasa (EST), dos loci fueron expresados; estos loci fueron EST 1 y EST 2, cuyos nombres fueron designados de acuerdo a su posición relativa en la gel, en donde el número más bajo corresponde al locus más cercano a la región anodal (-) (Ver figuras 7,9 y 11). Los alelos dentro de los loci fueron designados de la misma manera.

Según Azurdia (10) la Esterasa es una enzima polimórfica que produce nueve bandas altamente reproducibles. Sin embargo, su interpretación genética es difícil. Los resultados mostrados en la Figura 11 indican que en la región más catodal existen dos genes, cada uno de ellos con dos alelos. Tanksley y Rick (1980), West y Garber (1967), mencionados por Azurdia (10), reportan resultados similares, indicando que la esterasa es una enzima monomérica con dos alelos, en tomate y frijol común, respectivamente.

La enzima SKDH (Acido shikímico deshidrogenasa), es una enzima monomérica con tres alelos (Ver Figuras 8,10 y 11). Dichos alelos, en forma de bandas muestran alta resolución y consistencia. El control genético de esta isoenzima ha sido mostrado en muchos cultivos como tomate, chile y petunia, en estudios de varios autores como Tanksley, Mcleod y Wijsman (10).

Los otros dos sistemas isoenzimáticos: PRX (Peroxidasa) y ADH (Alcohol deshidrogenasa), no fueron consistentes. La inconsistencia se debe a que al menos una de las bandas que posee un alelo determinado debe aparecer en todos los individuos, indicando que al menos existe un locus o banda en el alelo para esa familia (Figura 11). En el análisis isoenzimático de este sistema no aparecen algunas bandas.

Debido a la inconsistencia en PRX y ADH, se decidió usar solamente las isoenzimas SKDH y EST para los análisis estadísticos.



Figura 7. Enzima Esterasa (EST) de zapote (*Pouteria sapota*) de la parte baja y alta de la cuenca del río Hato. Dicha enzima fue ensayada en una gel de poliacrilamida. Se observan dos loci isoenzimáticos con dos alelos en cada uno.

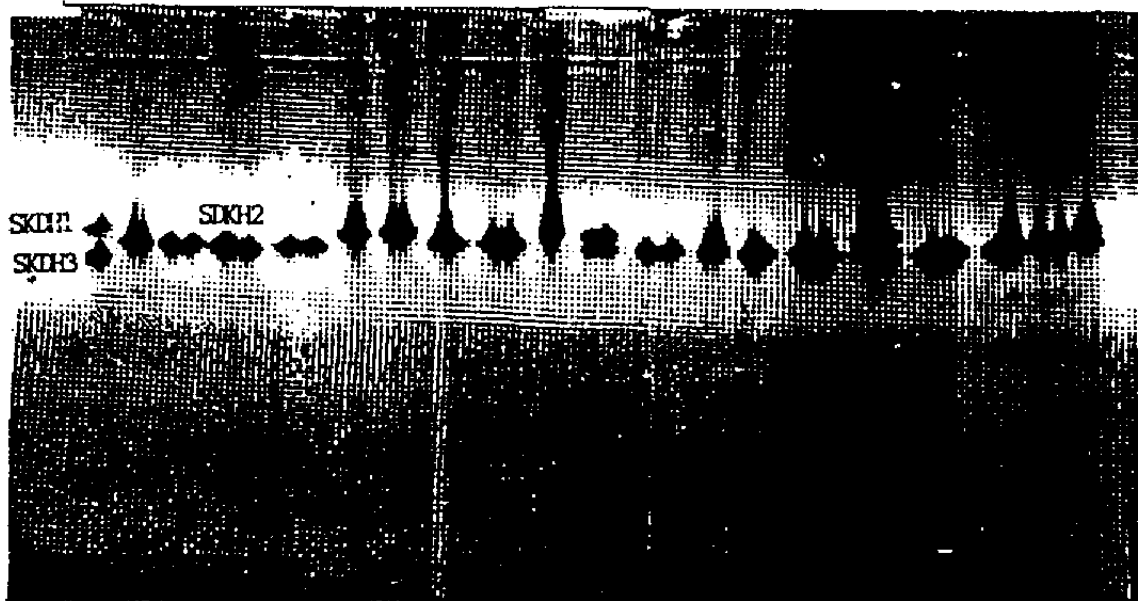


Figura 8. Enzima Acido Shikímico Deshidrogenasa (SKDH) de zapote (*Pouteria sapota*). Dicha enzima fue ensayada en gel de poliacrilamida, mostrando un locus con tres alelos.

RESULTADOS DE LA ISOENZIMA ESTERASA PARA EL ESTUDIO DE DINAMICA POBLACIONAL DEL APOTE (Pouteria sapota (Jacq) Stearn Moore) EN SAN AGUSTIN ACASAGUASTLAN, EL PROGRESO

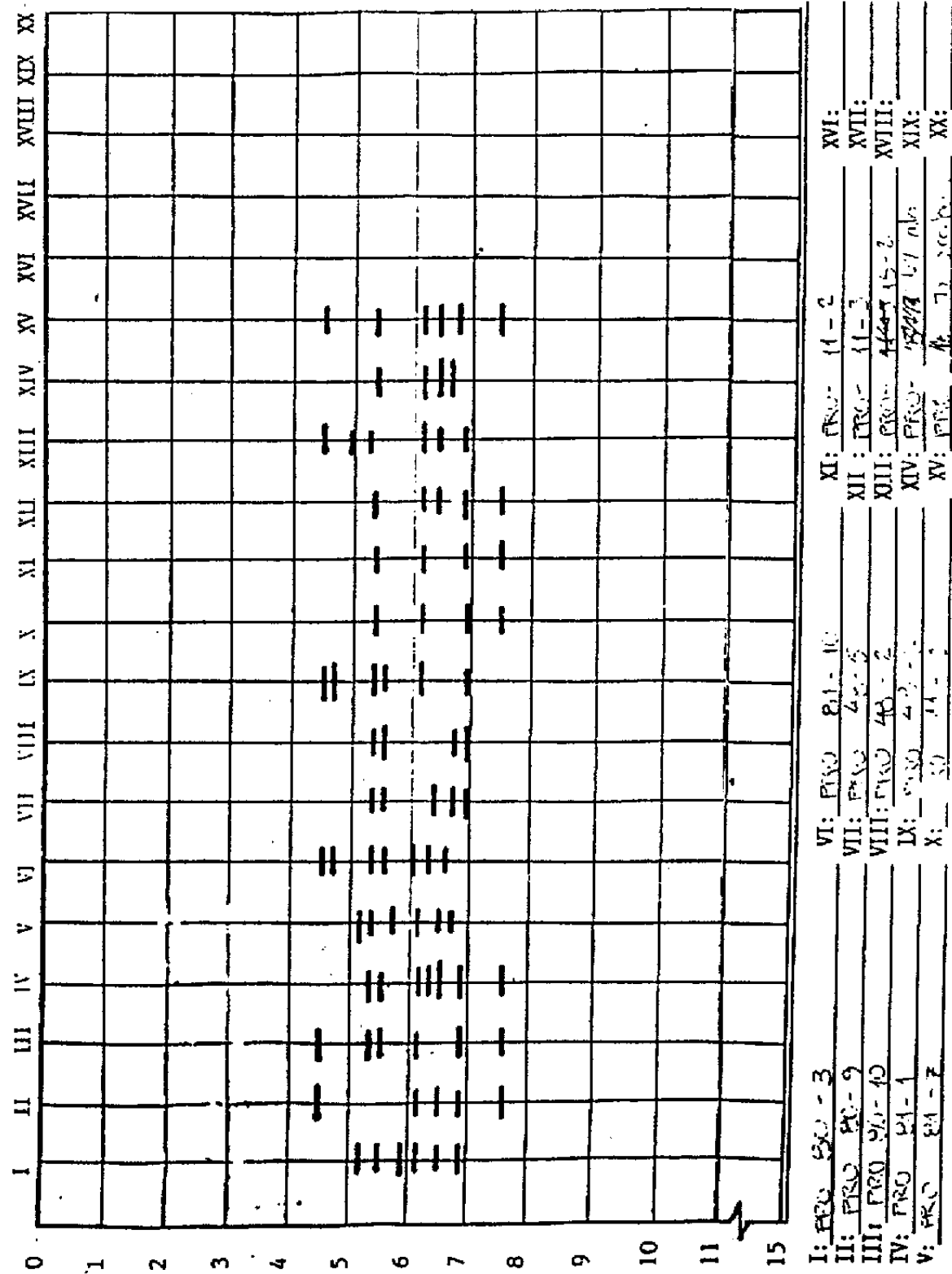


Figura 9. Zimograma de la gel de acrilamida de la enzima Esterasa (EST) mostrada en la Fig. 7. Se muestran los dos loci analizados (EST1 y EST2) y sus respectivos locus: EST1-1; EST1-2; EST2-1; EST2-2) para zapotes de la parte Alta y baja de la cuenca del río Hato.

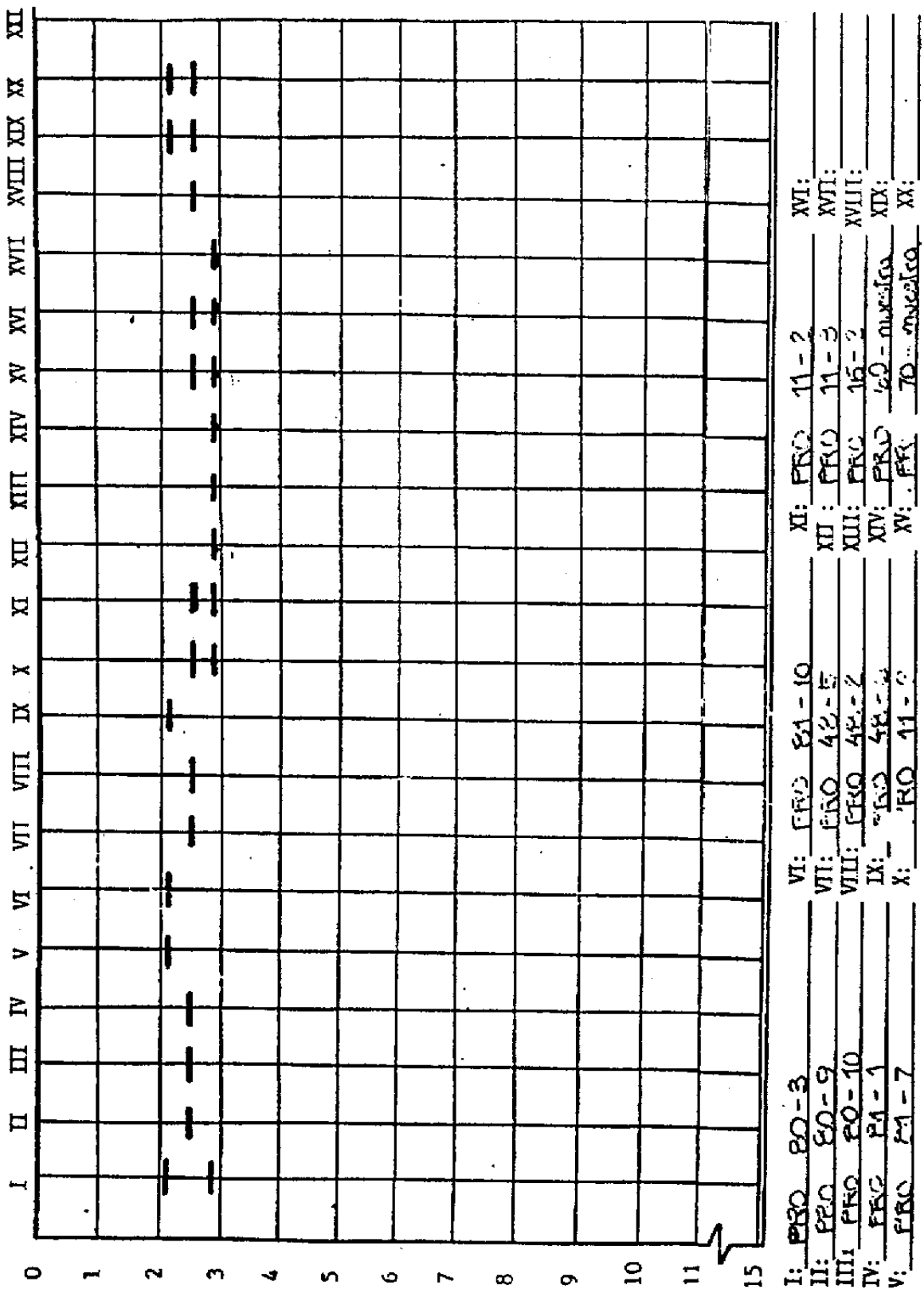


Figura 10. Zimograma de la gel de acrilamida con la enzima SKDH de la Figura 9. Se muestran los tres alofos (SKDH1, SKDH2 y SKDH3) para una familia de zapotes de la parte alta.

DISTANCIA EN CM

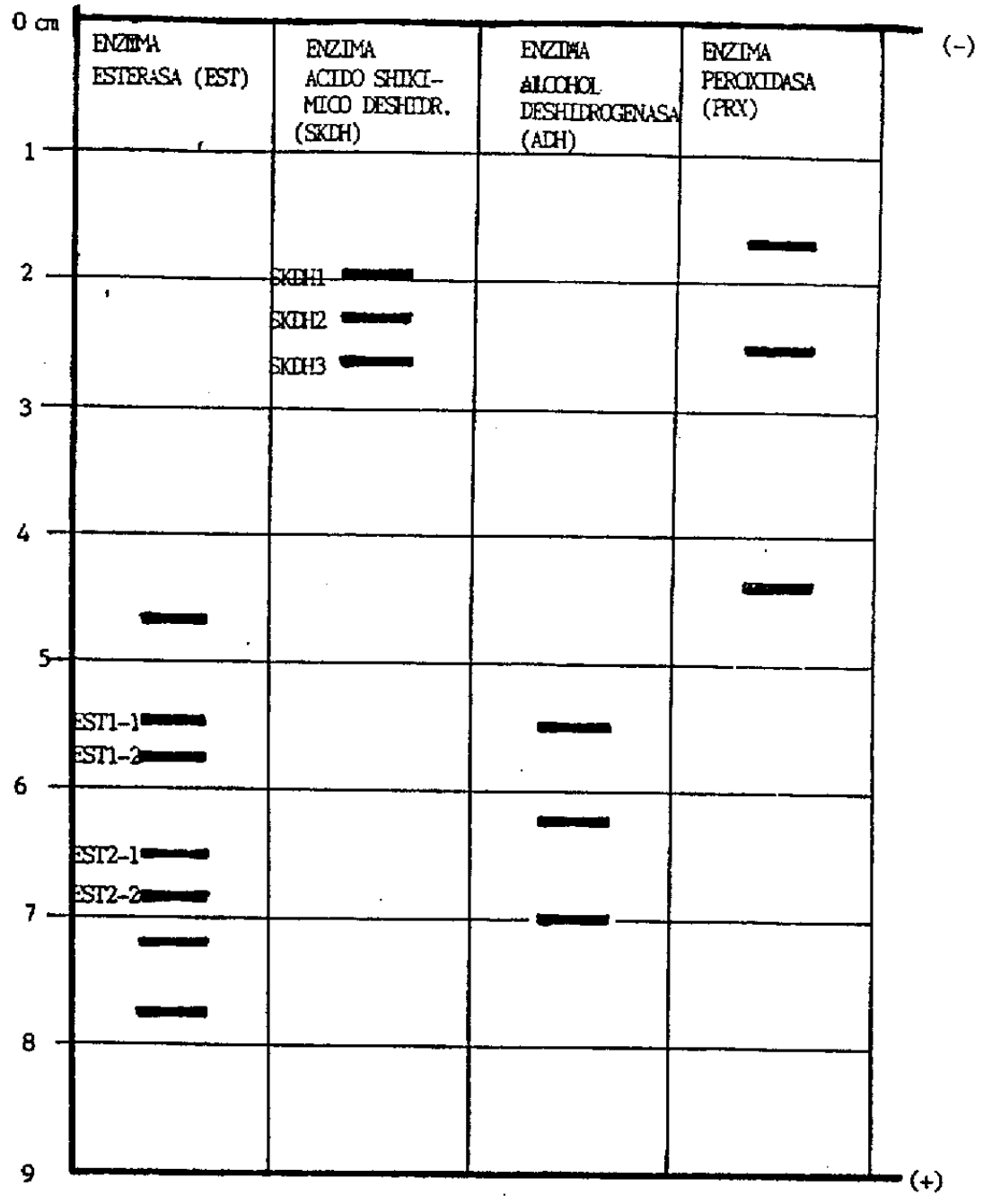


Figura 11. Bandas de los alelos mostrados por las corridas de electroforesis para cuatro sistemas isoenzimáticos (EST, SKDH, ADH, PRX). Se muestra la región catodal (+) y anodal (-), así como los nombres dados a los alelos en EST y SKDH, para los análisis de este estudio.

8.2. TASAS DE ENTRECruzAMIENTO

Las tasas de entrecruzamiento estimadas para las 40 familias de la población de la parte alta, utilizando el programa MLT, fueron de 0.81 para la tasa de entrecruzamiento multilocular (t_m) y de 0.79 para la tasa de entrecruzamiento unilocular (t_s), respectivamente. (Cuadro 5)

Ambos son valores de entrecruzamiento altos, según Hamrick (23). Un valor bajo de entrecruzamiento va de 0.5 hasta 0, indicando autopolinización e "inbreeding" (consanguinidad).

La estimación realizada con el método multilocular es más alta que la obtenida por el método unilocular ($t_m > t_s$); estos resultados concuerdan con otros estudios realizados sobre tasas de entrecruzamiento (Azurdia (2)). Estos valores altos indican que la especie *Pouteria sapota* posee un sistema reproductor de tipo alógamo, debido a su alta tasa de entrecruzamiento.

Por otra parte, comparaciones de las tasas de entrecruzamiento obtenidas por el método de varios loci (multilocular) y el de un sólo locus (unilocular) han sido utilizadas para realizar estudios de "inbreeding" (endogamia o consanguinidad), y también para estudios de autocruzamiento.

En esta investigación la tasa de consanguinidad o "inbreeding" estimada mediante el procedimiento multilocular fue de 19% ($= 1 - 0.81$, del t_m), contrastando con un 21.3% ($= 1 - 0.79$, del t_s) estimado mediante el método unilocular. Debido a que los datos obtenidos por el método unilocular están influenciados por algún tipo de autocruzamiento, la diferencia en magnitud entre los datos obtenidos por los métodos unilocular y multilocular, pueden deberse a cruzamientos consanguíneos.

La diferencia entre t_m y t_s es pequeña (0.041). Esto implica, según Hamrick (23), que no existe endogamia biparental.

CUADRO 5. Datos de las tasas de entrecruzamiento (m) mediante el método multilocular y unilocular, para tres genes, en la población de *Pouteria sapota* de la parte alta del río Hato, San Agustín Acaaguastlán, El Progreso, Guatemala.

TASA DE ENTRECruzAMIENTO MULTICOLAR (m)	TASA DE ENTRECruzAMIENTO UNICOLAR (s)	DIFERENCIA ENTRE LAS TASA DE ENTRECruzAMIENTO ($m - s$)	TASA DE "INBREEDING" (CONANGUINIDAD) MULTICOLAR	TASA DE "INBREEDING" (CONANGUINIDAD) UNICOLAR	Nº. DE FAMILIAS	Nº. DE DEBECIONES
0.81	0.796	0.014	19%	21.30%	40	400

Por otro lado, antes de obtenerse los resultados mostrados en el cuadro anterior, nada había sido reportado sobre polinización o polinizadores en *Pouteria sapota*. Azurdia (10) indica que las flores de *P. sapota* son bisexuales y tienen un estilo usualmente excerto tanto en el estado de yema como de flor, lo cual puede promover la polinización abierta, siendo probablemente los insectos de cortas distancias de vuelo, los polinizadores más comunes. Esto es apoyado por Hamrick (23) en el estudio realizado en Panamá con *Ceiba pentandra*, el cual posee similares suposiciones y donde las tasas de entrecruzamiento observadas eran debidas a factores como: a) competición por polen; b) selección del árbol madre entre los donadores de polen; c) depresión debido a "inbreeding"; d) grado de esterilidad en el autocruzamiento y e) "xenogamia facultativa", en la cual la autogamia ocurre en ausencia de polinizadores.

Hamrick (22) ha reportado que la densidad en plantas con flores es un factor importante que determina la tasa de entrecruzamiento en especies arboreas, principalmente en el bosque tropical lluvioso. Por ejemplo, en plantas como *Canavalia*, *Ceiba* y *Quarabea* en el bosque tropical lluvioso de Panamá, las tasas de entrecruzamiento están efectivamente asociadas con la densidad de los árboles en floración.

En este estudio no está completamente claro porqué en la población de la parte alta de la cuenca en donde la densidad es de 92 árboles por Hectárea, (según Paiz (27)), la tasa de entrecruzamiento obtenida es de 0.81, mientras que en la parte baja, Azurdia (10) encontró que la tasa de entrecruzamiento fue mayor, siendo esta de 0.867, con una densidad de 65 árboles/Ha, menor que la de la parte alta. No existen razones obvias para este comportamiento; sin embargo, una explicación probable podría ser el efecto de

los factores ambientales, como el microhabitat y la disponibilidad de polinizadores. Con esto, nuestra hipótesis es aprobada, al ser el zapote una especie con sistema reproductivo alógamo, poseyendo flores perfectas con tipo de polinización abierta.

El genotipo maternal más exacto que presentan las 40 entradas o árboles madres de zapote se muestran en el Anexo 8. Dicho genotipo maternal fue calculado en base a las frecuencias alélicas proporcionadas al programa MLT. En este anexo se puede observar que el genotipo maternal 222, es el más predominante de todos los genotipos maternos con un 32.5 % de frecuencia para los zapotes de la parte alta de la cuenca, seguido por el genotipo 221 con 22.5%.

8.3. ESTRUCTURA GENETICA DE LAS POBLACIONES

Según Azurdia (2, 10) la estructura genética de las poblaciones es determinada en gran manera por el sistema de entrecruzamiento de la especie. Dicha estructura genética es expresada como la diversidad genética debido a las frecuencias alélicas de los diferentes loci polimórficos, la asociación genotípica entre los diferentes loci y la diferenciación genética entre las poblaciones (Cuadro 6). De acuerdo a esto, la población de la parte alta, con una tasa de entrecruzamiento del 81 % (0.810), reportó una alta diversidad genética tanto en los loci polimórficos (H_t), así como en la diversidad genética dentro de las subpoblaciones (H_s), y por otro lado, baja diversidad genética entre subpoblaciones (D_{st}). Este comportamiento ya es reportado en otros estudios (Hamrick (22) y Azurdia (10)).

Hamrick (23) menciona que dichos resultados están en concordancia con el conocimiento general acerca del papel jugado por el sistema de entrecruzamiento como elemento ecológico determinante de la estructura genética de las poblaciones. Este principio indica que el entrecruzamiento reduce la subdivisión de la población y refuerza el movimiento del polen, dando como resultado el incremento en la probabilidad de que el polen alcance mayor longitud en su dispersión; osea, los alelos son compartidos más ampliamente dentro de una misma población, impidiendo que se formen otras poblaciones

genéticamente distintas. Por tanto, con el entrecruzamiento se previene la diferenciación de las poblaciones.

CUADRO 6. Tasas de entrecruzamiento promedio (t_m) y componentes de diversidad de Nei en la población de *Pouteria sapota* de la parte alta de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán.

t_m (%)	Ht	Hs	Dst	Gst	Dm	Rst
81	0.51	0.44	0.06	0.12	0.06	0.13

Ht = diversidad genética total de los loci polimórficos; Hs = diversidad genética promedio entre familias;

Dst = diversidad genética total entre familias; Gst = coeficiente de diferenciación genética;

Dm = diferenciación genética absoluta; Rst = relación diversidad genética interpoblacional y diversidad genética intrapoblacional.

Azurdía y Bliss (2) indican que la estructura genética de las poblaciones puede ser influenciado por uno o la interacción de estos factores: a) el tamaño de la población; b) el comportamiento de los polinizadores (ya sean insectos, el viento, el agua, etc.); c) la flor, en su estructura floral y/o en su arreglo floral y d) la densidad de la población, entre las más importantes.

Es ampliamente reconocido que en plantas cultivadas, los cursos de la evolución de los sistemas de apareamiento van desde el entrecruzamiento en poblaciones silvestres, hasta las poblaciones cultivadas por el hombre que se autopolinizan.

Las frecuencias genéticas promedio de los loci son datos que nos ayudan a calcular las tasas de entrecruzamiento, por medio del programa MLT. Estas se muestran para los 7 loci estudiados en el Cuadro 7.

CUADRO 7. Frecuencia genética de los loci en la población de zapote (*Pouteria sapota*), de la parte alta de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastán, El Progreso.

LOCUS	FRECUENCIA GENÉTICA
SKDH 1	0.366
SKDH 2	0.464
SKDH 3	0.170
EST1 - 1	0.537
EST1 - 2	0.463
EST2 - 1	0.536
EST2 - 2	0.464

Estos resultados muestran que existe una gran proporcionalidad en la presencia de ambos alelos de la Esterasa (EST1 y EST2) y sus cuatro alelos, ya que se estiman en un 50% cada uno, aproximadamente. En cambio en la enzima SKDH, los alelos poseen diferentes proporciones entre ellos. La mayor frecuencia alélica para esta enzima es SKDH2, con 0.464 y la menor es SKDH 3 con 0.170, pudiéndose inferirse a SKDH 3 como un homocigoto recesivo del par genético.

Cuando se analiza el cluster o dendrograma de los árboles maternos, construido en base a caracteres morfológicos (Figura 12) y el dendrograma constituido por todas las familias basado en datos isoenzimáticos (Figura 13), se observa una gran diferencia de relación entre los individuos.

Basados en esta información, podemos observar que las relaciones dentro de los dendrogramas no coinciden. Esto es debido a que los caracteres morfológicos están basados en las características fenotípicas de los frutos de los árboles madres. Dichos caracteres fenotípicos están influenciados por el

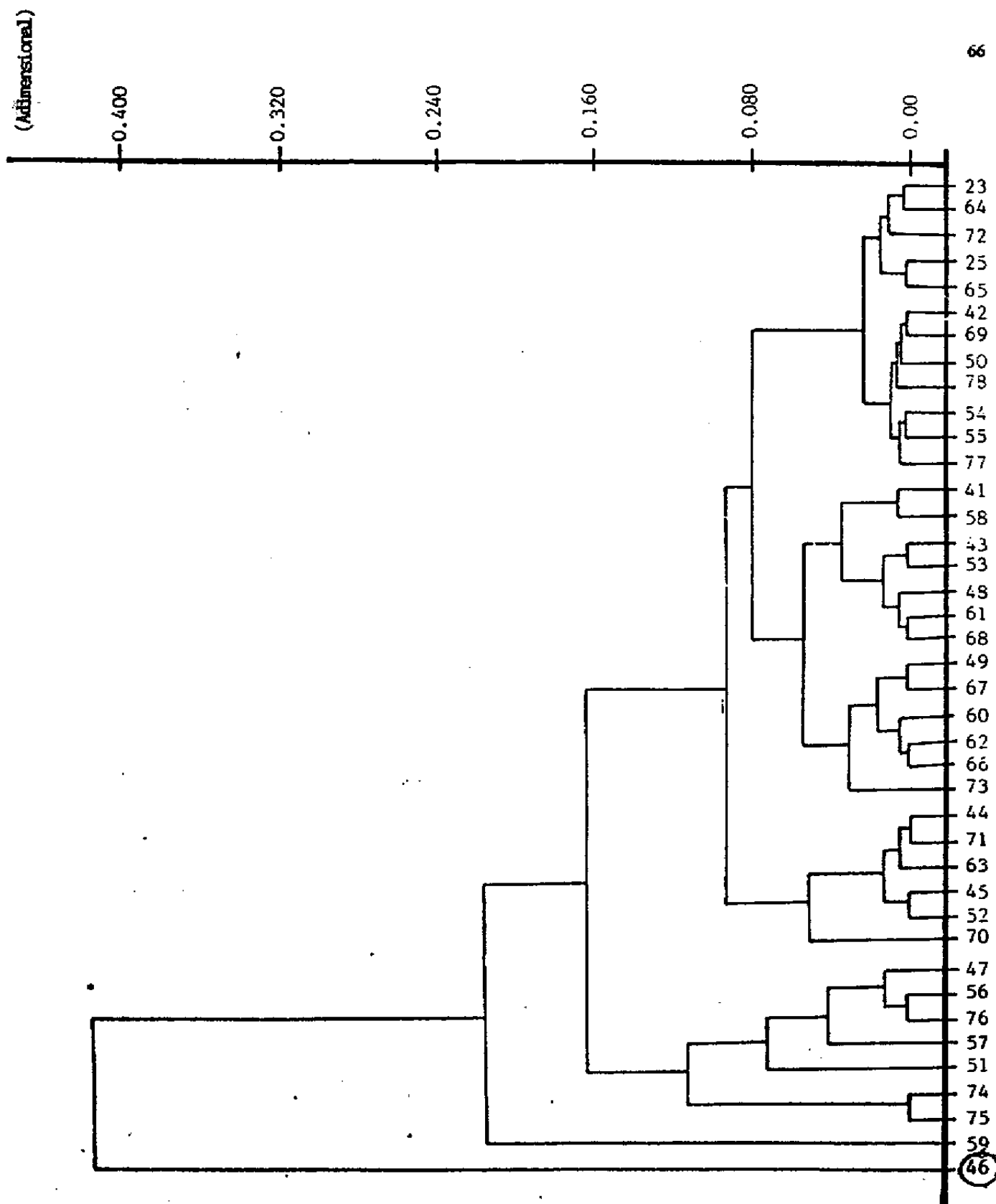


Figura 12. Dendrograma isoenzimático que muestra los parentescos entre los árboles madre de zapote (*Pouteria sapota*) de la parte alta de la cuenca del río Hato. Este dendrograma fue construido usando datos isoenzimáticos desplegados por el programa de Estimación Multilocular (MLT).

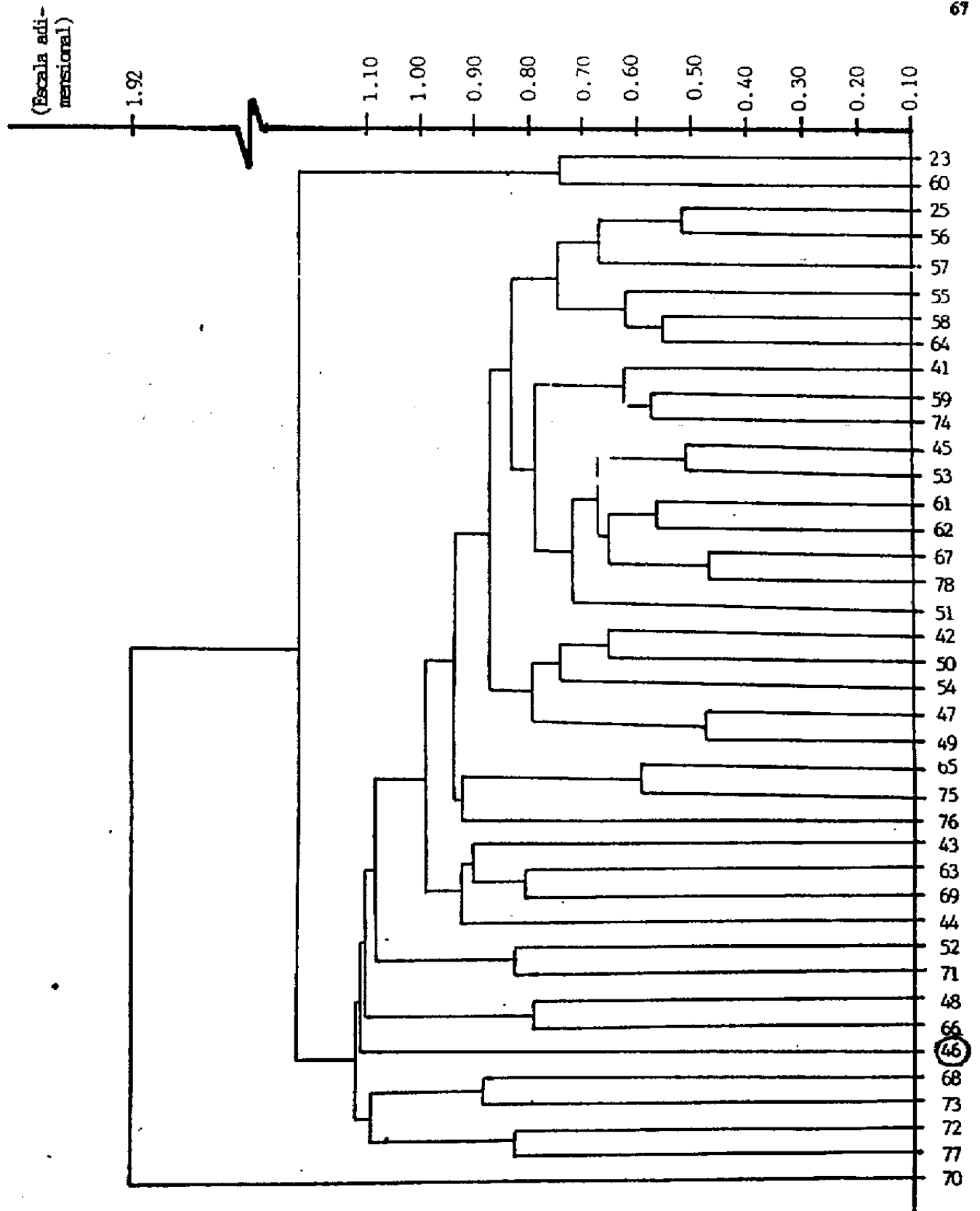


Figura 13. Dendrograma agromorfológico que muestra los parentescos entre los árboles madres de zapote (*Pouteria sapota*) de la parte alta de la cuenca del río Hato. Este dendrograma fue elaborado usando los datos morfológicos resultantes del programa de agrupamientos UPGMA.

genotipo y el ambiente (Fenotipo = Genotipo + Ambiente). En cambio, los caracteres isoenzimáticos son propiamente genéticos, los cuales no están modificados en ningún momento por el ambiente.

Por ejemplo, en el dendrograma elaborado con los datos isoenzimáticos, el árbol madre No. 46 está separado por una distancia de casi dos unidades del grupo que contiene a los otros 39 árboles madres de este estudio. Sin embargo, en el dendrograma agromorfológico, el árbol No. 46, está ligado a un buen grupo de árboles en una distancia, que es la mitad de la distancia total que presenta este dendrograma (Ver figuras 12 y 13).

Otro ejemplo, es que los pares muy estrechamente cercanos en el dendrograma agromorfológico como los árboles No. 67 y No. 78, no están unidos en el dendrograma isoenzimático, ni siquiera en el mismo grupo. Esto aumenta la evidencia de que los caracteres agromorfológicos difieren de los bioquímicos.

Otro tipo de información valiosa que produce el dendrograma isoenzimático se refiere a la relación existente entre las distancias genéticas que existen entre algunos árboles madres y las distancias con que están separadas en el campo. Por ejemplo, los árboles No. 68 y No. 61, tienen una distancia genética de 0.001, distancia genética muy corta en comparación con la mayor distancia genética que posee el árbol No. 46, que es de 0.413 (Ver figura 13). Sin embargo, en el campo el árbol No. 68 se encuentra en la subcuenca del río Timiluya y el árbol No. 61 en la subcuenca del río Hato (Ver Anexo 3). Ambos árboles están separados en el campo, por un poco menos de 2 Km.

Contrastando con esto, los árboles No. 41 y No. 66 están separados por aproximadamente 200 metros en el campo; sin embargo, en el dendrograma isoenzimático se encuentran en dos núcleos diferentes, los cuales se unen a una distancia genética de 0.094; esto representa $\frac{1}{4}$ de la distancia genética total para las familias de la parte alta de la cuenca del río Hato (Ver figura 13 y Anexo 3). Adicionalmente, en el dendrograma agromorfológico, estos árboles (41 y 66), se encuentran separados en distintos grupos, y se unen hasta una distancia de 1.00, que es la mitad de la distancia total para las 40 familias de este dendrograma (Ver figura 12).

Por tanto no existe una subdivisión de la población de zapote en ninguno de estos dos dendrogramas, existiendo una sola población en la parte alta de la cuenca del río Hato. Hamrick (23) indica en su estudio, que la distribución de la diversidad genética entre los sitios de colecta está altamente asociada con el sistema reproductivo de las especies y el mecanismo de dispersión de las semillas. En este estudio, la alta tasa de entrecruzamiento indica baja diversidad genética total ($H_t = 0.51$); esta baja diversidad genética indica que los genes se mantienen constantes dentro de la población, provocando poca diferenciación entre individuos e impidiendo diferenciación entre estos para formar nuevos grupos o poblaciones; a esto se suma que las semillas son dispersadas por las corrientes de agua o por las poblaciones humanas de dicha área, fortaleciendo el movimiento genético dentro del área.

Azurdia (10) reporta datos similares en donde indica que no existe diferenciación entre las poblaciones de zapote de la parte alta y de la parte baja de la cuenca del río Hato. Esta información fue extraída igualmente del análisis de los dendrogramas morfológico e isoenzimático, construidos con las 78 familias (o 78 árboles madres y su progenie). Aquí también existen familias, como la No. 11, que es casi similar a las familias 42, 69, 50 y 78 en el dendrograma isoenzimático, pero sin embargo, ambos grupos están separados por 8 Km de distancia en el campo. (Anexos 9 y 10).

El comportamiento entre las familias de la parte alta, así como de las familias de la parte baja de la cuenca, puede deberse a las siguientes razones. Primero, existe la posibilidad que en este estudio no se hallan analizado suficientes alelos, por lo que no hay suficiente información genética para separar las dos poblaciones. Por tanto, es recomendable incrementar el número de sistemas enzimáticos a usar. Segundo, el alto valor de alogamia o entrecruzamiento en las poblaciones ($t_m = 0.81$) no permite que se dé diferenciación entre poblaciones (para la parte alta y la parte baja), ni entre subpoblaciones (para la población de la parte alta). La polinización cruzada reduce la subdivisión de las poblaciones, favoreciendo el movimiento del polen e incrementando la probabilidad que los genes se dispersen a largas distancias; previniendo la diferenciación entre las poblaciones. Tercero, la población de zapote de la parte alta, está distribuida a lo largo de las subcuencas Timiluya y Hato, de la cuenca del río Hato, las cuales poseen áreas

con pendientes de onduladas a inclinadas (Paiz, 27). Por esto, semillas o frutos pueden ser transportados de la parte alta a la parte baja de la cuenca, y entre la misma parte alta. También existe un continuo intercambio de materiales genéticos entre las diferentes poblaciones humanas que viven en el área (12 aldeas alrededor de la cuenca).

De cualquier forma, ha existido un intercambio o mezcla de la información genética entre ambas poblaciones ecológicas.

Por tanto, se puede concluir que la población de zapote distribuida a lo largo de la parte alta de la cuenca (y de la cuenca completa) del río Hato, es una población predominantemente alógama, con alta diversidad genética intrapoblacional, concordando estos datos con nuestra hipótesis.

8.4. HETEROCIGOSIDAD EN PLANTAS MATERNAS Y SU PROGENIE

Los datos obtenidos de la heterocigosidad media esperada y la heterocigosidad media observada en plantas maternas y su progenie se muestran en el Cuadro 8. La heterocigosidad esperada (H_{exp}) fue calculada a partir de las frecuencias genéticas asumiendo apareamiento al azar para cada locus individual. Tanto la frecuencia alélica en los árboles maternos como en la progenie son similares, al igual que las tendencias en la heterocigosidad esperada. De igual manera, los valores de fijación (F) no difieren marcadamente entre los árboles madres y su progenie. Tanto los valores de F para los árboles maternos como para la progenie fueron significativamente diferentes de cero, el cual es el valor de F esperado bajo condiciones de equilibrio de Hardy-Weinberg. Los valores negativos de F fueron obtenidos tanto para los árboles madres como para la progenie.

CUADRO 8. Heterocigosidad esperada (H_{exp}) y heterocigosidad observada (H_{obs}), tasas de entrecruzamiento multilocular (t_m) e índice de fijación (F) para la población de árboles madres y su progenie, de *Pouteria sapota* de la parte alta de la cuenca del río Hato, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso, Guatemala. Calculado con el programa MLT.

Heterocigosidad esperada (H_{exp})	Heterocigosidad observada (H_{obs})	Índice de Fijación (F)	Tasa de entrecruzamiento (t_m)
MATERNA			
0.50	0.77	-0.54	81%
PROGENIE			
0.51	0.76	-0.49	

Aunque puedan existir otras explicaciones, en general se dice que valores negativos de F , están asociados con apareamiento disorsativo y con selección, favoreciendo a aquellos genotipos heterocigóticos tanto en poblaciones maternas como de la progenie; mientras que los valores positivos de F , están relacionados con cruzamiento asortativo e "inbreeding" (consanguinidad) (Azurdia (10)).

Estos resultados indican dos conclusiones: 1) las poblaciones de zapote no están en equilibrio con Hardy-Weinberg, y 2) está ocurriendo selección en favor de individuos heterocigóticos debido a que en los árboles madres y en la progenie se observa más heterocigosidad de la esperada. Cuando ocurre "inbreeding" como resultado de autogamia y de polinización entre parientes, las líneas con genotipos homocigóticos aparentemente no se desarrollan, a pesar de que ha sido ya formado el embrión y el fruto. Esto es sugerido por la disparidad entre el exceso de heterocigotos en los árboles parentales y de la progenie en la población de este estudio.

8.5. IDENTIFICACION DE LAS AREAS DE CONSERVACION in situ EN LA PARTE ALTA DE LA CUENCA DEL RIO HATO

Según Azurdía (10) las estrategias de muestreo con la finalidad de conservación genética deben de tomar en consideración factores como la frecuencia de muestreo, el tamaño de la muestra, etc. Estos factores están basados en información de genética de poblaciones. Dicha información encierra parámetros como la variación en la diversidad genética dentro y entre las poblaciones, el nivel de heterocigosidad y la frecuencia alélica de los alelos particulares. Además, una buena descripción de la subdivisión de las poblaciones y la distancia genética entre poblaciones, es un elemento crítico en la planificación del muestreo y las metodologías de conservación in situ. Basado en la información generada en el presente estudio, está claro que la población de Pouteria sapota de la parte alta tiene una estructura genética determinada en gran manera por el sistema de entrecruzamiento.

Azurdía (10) indica que basado en dos isoenzimas y siete frecuencias alélicas, el valor de distancia de Nei (0.008) y el valor de identidad de Nei (0.992), mostraron que no existe una clara separación entre las poblaciones de Pouteria sapota de la parte alta y parte baja de la cuenca del río Hato, en San Agustín Acasaguastlán. Esta es una confirmación adicional que especies predominantemente alogámicas no muestran diferenciación entre poblaciones.

Por tanto, para P. sapota, el muestreo de poblaciones no deberá enfocarse en un mayor número de poblaciones. En especies de polinización cruzada como el zapote, en donde la diversidad genética se encuentra dentro de la población, antes que entre las poblaciones, el muestreo deberá usar un esquema de cuadrantes, en el que más individuos de cada población deban muestrearse, antes que muestrear muchas poblaciones.

La información obtenida en el presente estudio, especialmente en los dendrogramas o clusters basados en caracteres morfológicos e isoenzimáticos, deberá de ser utilizada en el diseño de colecciones nucleares de zapote. En la población de zapote de la parte alta no existe subdivisión entre su propia población.

Debido a que el sistema de apareamiento en plantas varía tal como lo hace cualquier otra característica, es recomendable usar un mayor número de sistemas isoenzimáticos, así como el muestreo y colecta de más poblaciones en diferentes estaciones, años y localidades.

9. CONCLUSIONES

- 9.1. El zapote posee un sistema reproductor altamente alógamo, siendo una especie arbórea con flores perfectas y que posee un estilo excerto, promoviendo el tipo de polinización cruzada. La tasa de entrecruzamiento multilocular de la población de zapote de la parte alta de la cuenca del río Hato, obtuvo un valor alto de 81% (0.810), mientras que la tasa de entrecruzamiento unilocular obtuvo un valor similar, aunque ligeramente menor (79%, 0.796). Relacionado con los anteriores valores, se determinó un bajo porcentaje de consanguinidad o "inbreeding", lo que indica que el zapote es una especie que posee alto entrecruzamiento.
- 9.2. La estructura genética de la población del zapote (*Pouteria sapota*) de la parte alta de la cuenca del río Hato, posee una mayor variación dentro de su población que entre las poblaciones. Esto es debido a las grandes distancias que recorre el polen y al alto nivel de dispersión de las semillas de los árboles madres a grandes distancias; por tales razones dicha población posee individuos heterocigotos, que comparten sus alelos más ampliamente dentro de la misma población, incrementando la probabilidad que los genes se dispersen a largas distancias. Esto previene la diferenciación entre las poblaciones. Con esto se refuerza la estructura genética de la población e impide su división.
- 9.3. La estructura genética de la población de zapote de la parte alta de la cuenca del río Hato, está influenciada por los siguientes factores: a) la morfología y estructura floral, que permite una polinización cruzada; b) el comportamiento de los polinizadores, principalmente insectos; c) el mecanismo de dispersión de las semillas debido a la topografía del terreno, las corrientes de agua y

mayormente al intercambio de materiales genéticos por las poblaciones humanas del área y d) una densidad adecuada que promueve la polinización cruzada y el entrecruzamiento.

- 9.4. Las frecuencias alélicas mostradas por las isoenzimas Esterasa (EST) y Acido Shikímico Deshidrogenasa (SKDH) demuestran que el zapote posee una alta heterocigosidad en estos dos caracteres isoenzimáticos.

- 9.5. La población de zapote de la parte alta de la cuenca del río Hato, no está en equilibrio con Hardy-Weinberg. Esto es determinado por el alto valor negativo del índice de estabilidad (F), el cual está asociado con apareamientos disorsativos y la selección de heterocigotos favorecidos. Tanto la frecuencia alélica en los árboles maternos como en la progenie son similares. Las heterocigosidades observadas tuvieron un mayor valor que las heterocigosidades esperadas para los árboles madres y la progenie, indicando con esto que el zapote es un organismo con alta heterocigosidad y una alta adaptabilidad evolutiva.

10. RECOMENDACIONES

- 10.1. Incrementar el número de sistemas enzimáticos polimórficos para los estudios de estructura genética y sistemas reproductivos en zapote (*Pouteria sapota*). De esta manera se podrán obtener resultados más confiables, al tener una mayor cantidad de datos para el análisis de la determinación de las tasas de entrecruzamiento y los parámetros de diversidad genética de una población.
- 10.2. El muestreo de poblaciones para zapote deberá enfocarse en un mayor número de individuos, ya que su diversidad genética se encuentra dentro de la población, antes que entre las poblaciones. Se recomienda el muestreo que usa un esquema de cuadrantes, en el que más individuos de cada población sean muestreados, antes que muestrear varias poblaciones en un área determinada.
- 10.3. En próximos estudios de sistemas de apareamiento y estructura genética de poblaciones de zapote, se recomienda estudiar árboles individuales, analizando sus parámetros genéticos, para determinar si un árbol específico, puede producir frutos con semillas viables, por medio de la autopolinización.
- 10.4. Evaluar el movimiento del polen y los posibles polinizadores para la población de zapotes de este estudio.
- 10.5. Realizar en próximos estudios, colecciones de semillas de progenitores (recolección de semillas) en diferentes estaciones, años y localidades, para evaluar el comportamiento alogámico del zapote a través de sus ciclos de floración.

11. BIBLIOGRAFIA

1. ALLARD, R.W. 1975. Principios de fitogenética. Barcelona, España, Omega. 498 p.
2. AZURDIA, C.; BLISS, F. 1994. Breeding system and genetic structure in *Phaseolus* species (*P. coccineus*, *P. polyanthus*, and *P. lunatus*) in Guatemala. California, EE.UU., University of California, Davis, Pomology department. 81 p.
3. AZURDIA, C. 1995. AFLP: Nuevo marcador molecular útil en estudios de diversidad genética. Boletín de Recursos Fitogenéticos (Gua.) No. 12: 1-4.
4. _____ . et. al. 1995. Algunas sapotáceas de Petén, Guatemala. Tikalia (Gua.) 13 (1): 33-45.
5. _____ . et. al. 1995. Biotecnología y biodiversidad. Tikalia (Gua.) 13 (2): 7-24.
6. _____ . et. al. 1996. Distribución, variabilidad y riesgo de erosión genética de algunas sapotáceas en Guatemala. Tikalia (Gua.) 14 (1): 83-107.
7. _____ . et. al. 1996. Distribución, variabilidad y riesgo de erosión genética de zapote (*Pouteria sapota*) en Guatemala. Boletín de Recursos Fitogenéticos de Guatemala (Gua.) no. 16:109 – 117.
8. _____ . et. al. 1996. Zapote (*Pouteria sapota*) e injerto (*Pouteria viridis*) dos entidades taxonómicas de sapotaceae. Boletín de Recursos Fitogenéticos (Gua.) no. 7: 1-6.
9. _____ . et. al. 1997. Variabilidad en frutales tropicales nativos de *Pouteria* (Sapotaceae) utilizando marcadores isoenzimáticos. Ciencia y Tecnología (Gua.) no. 2: 3-25.
10. _____ . et. al. 1998. Tasa de cruzamiento y estructura genética de una población de zapote (*Pouteria sapota*). Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 15 p.
11. BIDWELL, R.G.S. 1979. Fisiología vegetal. Trad. Guadalupe Gerónimo Cano y Cano. México, AGT. 784 p.
12. CASTAÑEDA, C.; AYALA, H. 1996. Vida en la zona semiárida de Guatemala. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. Cuaderno Chac no. 3. 36 p.
13. CHEVREAU, E.; LESPINASSE, Y. 1985. Inheritance of pollen enzymes polyploid origin of apple (*Malus X domestica* Borkh). Theor Application Genetic (EE.UU.) 71: 268-277.
14. CIKU. LOCAL/MALAY name:Ciku/Sapodilla Scientific Name: *Achras sapota* Linn 1999. Internet: <http://www.agrolink.moa.my/comoditi/ciku/chiku.html>.

15. CRISCI, J. V.; LOPEZ, M. F. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Washington, EE.UU, O.E.A. 128 p.
16. CRUZ, J. R. De La. 1982. Clasificación de zonas de vida de Guatemala a nivel de reconocimiento. Guatemala, Instituto Nacional Forestal. 42 p.
17. FISCHER, L. 1975. Introducción a la cromatografía en gel. Trad. Alberto Sandoval. México, Ed. Manual moderno. 210 p.
18. GAITAN AJA, J. A. 1988. Uso del sistema integrado de diagnóstico y recomendación para determinar el requerimiento del N-P-K en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) en la Unidad Docente Productiva Sabana Grande, Escuintla. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 47 p.
19. GAMEZ, R. 1993. La conservación de la biodiversidad forestal y el manejo del bosque tropical húmedo: la respuesta del INBIO al reto. In Congreso Forestal Centroamericano (1., 1993, Petén, Guatemala); Congreso Forestal de Guatemala (3., 1993, Petén, Guatemala). Guatemala, USAID. p. 53 - 57.
20. GOLA, G.; NEGRI, G.; CAPPELETTI, C. 1965. Tratado de botánica. Trad. P. Font Quer. 3 ed. Barcelona, España, Labor. 1160 p.
21. GUATEMALA. INSTITUTO GEOGRAFICO NACIONAL. 1980. Diccionario geográfico de Guatemala. Guatemala, tomo 3, p. 182-187.
22. HAMRICK, J.L.; MURAWSKI, D. 1990. The breeding structure of tropical tree populations. *Plant Species Biology* (EE.UU.) no 5: 157-165.
23. _____. 1992. Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) en central Panama. *Journal of Heredity* (EE.UU.) no. 83: 401-404.
24. KEPHART, S. R. 1990. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. *American Journal Botany* (EE.UU.) 77 (5): 693-712.
25. MURRAY, R. K.; GRANNER, D. K.; MAYES, P. A. 1992. Bioquímica de Harper Trad. María del Rosario Carsolio. 12 ed. México, Ed. Manual Moderno. 740 p.
26. NUFIO REYES, B. de J. 1996. Determinación de la variabilidad genética en especies de *Pouteria* (Sapotaceae) usando marcadores de isoenzimas. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 30 p.

Sin Publicar.
27. PAIZ TERRAZA, C. M. 1994. Caracterización de las áreas irrigadas en la cuenca del Río Hato, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 104 p.

28. PENSAMIENTO B., E. O. 1987. Diagnóstico general de la aldea Puerta de Golpe, San Agustín Acasaguastlán, El Progreso. EPSA - Diagnóstico. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 39 p.
29. RITLAND, K. 1988. Multilocus estimation program; general information. Canada, University of Toronto, Canada, Department of Botany. 5 p.
30. SANDOVAL S., A. A. 1989. Introducción a la genética general. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía. 240 p.
31. SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. comp. 1990. Isozymes in plant biology; from advances in plant. Oregon, EE.UU., Dioscorides Press. Sciences Series, v.4. 268 p.
32. STANDLEY, P. C.; WILLIAMS, L. 1966. Flora of Guatemala. Chicago, EE. UU., Chicago Natural History Museum, Fieldiana Botany. V. 24, pte 8, nos 1-3, p. 238-241.
33. STRYER, L. 1985. Bioquímica. Trad. José Maraculla. 2 ed. España, Ed. Reverté. 871 p.
34. UTRERA G., L. A.; MARTINEZ T., E. A. 1994. Caracterización "In Situ" de zapote (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearn) en Chiquimulilla y Guazacapán, Santa Rosa, Guatemala. *Tikalía* (Gua.) 12 (2): 35-50.8
35. VILLEE, C. A. 1996. Biología. Trad. Vicente Agut Armer. 6 ed. México, Ed. Interamericana. 821 p.
36. WEEDEN, N. F.; GOTTLIEB, L. 1980. Isolation of cytoplasmic enzymes from pollen. *Plant Physiology* (EE.UU.) 66: 100-103.
37. WHITE, A.; HANDLER, P. 1970. Principios de bioquímica. Trad. R. Barrera Piñero. México, McGraw-Hill. 1185 p.



vo. B°.

Miriam De La Roca

APENDICE

APENDICE I

CUADRO 9A. SOLUCIONES MADRE PARA PREPARAR GELES DE POLIACRILAMIDA

(Laemmli,1970)(26)

SOLUCIÓN 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°C en oscuridad (tiempo máximo : 30 días).

SOLUCIÓN B.

1.5 M Tris-HCl, pH 8.8

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°C.

SOLUCIÓN 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°C.

SOLUCIÓN 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°C. La temperatura ambiente antes de su uso puede ocasionar precipitación. Diluir 60 ml de Stock 5X en 240 ml de agua destilada para una corrida electroforética.

**CUADRO 10A. PREPARACION DE LAS GELES DE POLIACRILAMIDA PARA LA
CORRIDA DE ELECTROFORESIS (Laemmli,1970)(26)**

GEL DE CORRIDA (12%)

(RUNNING GEL)

0.375 M Tris, pH 8.8

Agua destilada.....	20 ml
Solución B	15 ml
Solución A	24 ml
Persulfato de amonio	0.300 ml (50 microlitros)
	(10% preparado el mismo día)
TEMED	0.040 ml

GEL DE COMPACTACIÓN (4%)

(STACKING GEL)

0.125 M Tris, pH 6

Agua destilada.....	10 ml
Solución C	4 ml
Solución A	2 ml
Persulfato de amonio	0.100 ml (50 microlitros)
	(10% preparado el mismo día)
TEMED	0.020 ml

GEL DEL PEINE (2%)

(COMB GEL)

0.125 M Tris, pH 3.0

Agua destilada.....	10 ml
Solución D	4 ml
Solución A	2 ml
Persulfato de amonio	0.100 ml (50 microlitros)
	(10% preparado el mismo día)
TEMED	0.020 ml

A P E N D I C E 2

CUADRO 11A. FÓRMULAS PARA LA TINCIÓN DE ENZIMAS (Stuber, Wendel, Goodman, Smith, 1988, citados por Soltis (31)

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.	
* Se disuelven en 2 ml de acetona por aparte y se mezclan al momento de la aplicación.		
** El pH fue corregido a 6.1 debido a que presenta mejor resolución de bandas en este pH.		
2) ALCOHOL DESHIDROGENASA (ADH)		
0.05 M Tris-HCl, pH 8.0.....	50 ml	
Alcohol etílico	0.5 ml	
MTT	5 mg	
NADP	5 mg	
PMS	1 mg	
3) ACIDO SHIKÍMICO DESHIDROGENASA (SKDH)		
0.1 m Tris-HCl, pH 8.0	5.0 ml	
Agua destilada	45.0 ml	
Acido Shikímico	25.0 ml	
MTT	7.5 ml	
NADP	5.0 ml	
PMS	1.0 ml	
4) PEROXIDASA (PER) (Vallejos, 1983, citado por Nufio (26)		
0.1 M Acetato de Sodio pH 5.0	50 ml	
* 0.025% 3-amino-9-etilcarbazol	25 mg	
0.015% Cloruro de Calcio (CaCl ₂)	15 mg	
Agua Oxigenada (30%)	0.600 ml	
* Se disuelve en 2 ml de N,N-Dimetilformamida.		

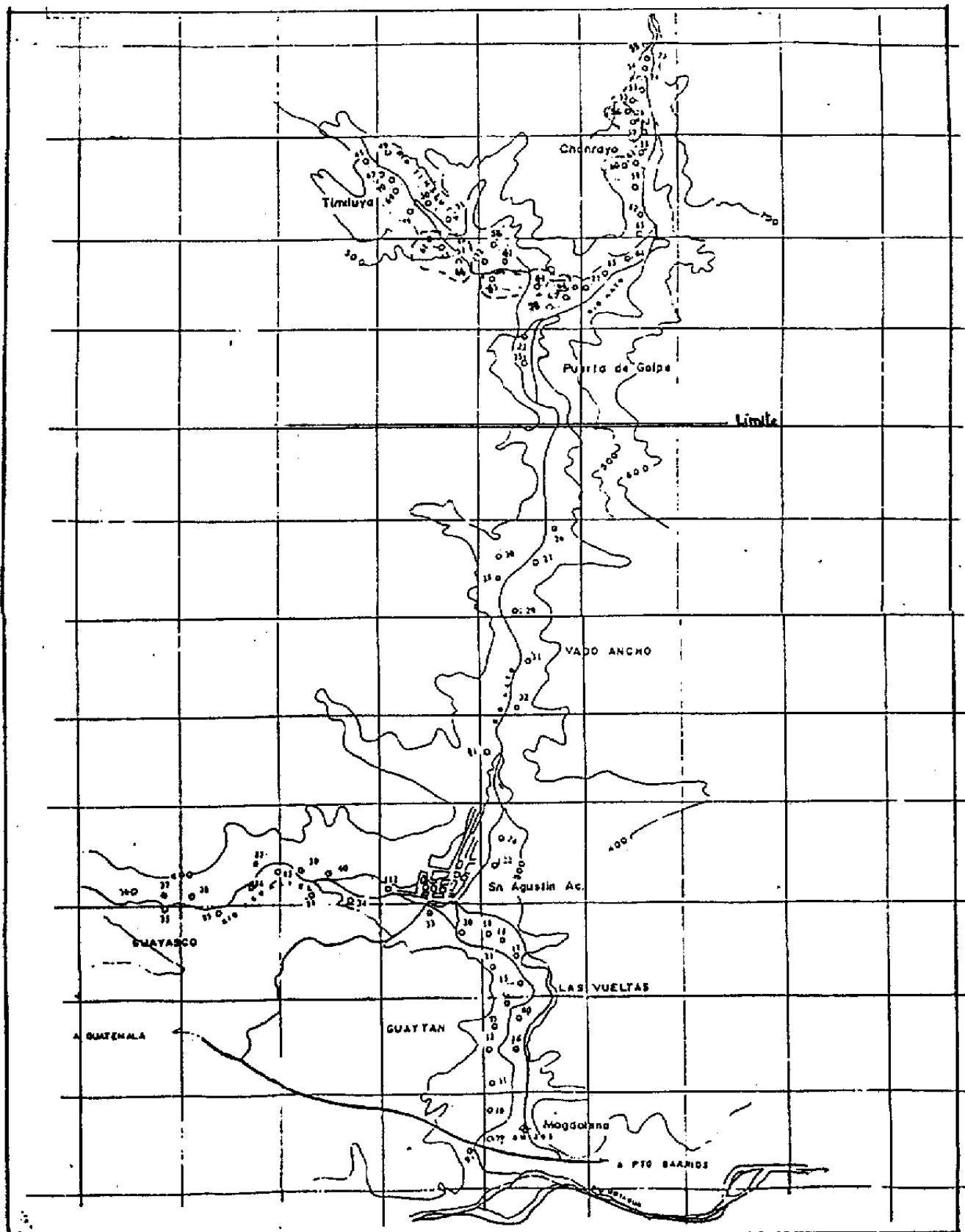
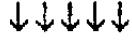


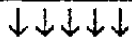
FIGURA 14A. Mapa de la cuenca del río Hato, parte Alta y parte Baja, dándose a conocer la ubicación de los 80 árboles estudiados en la investigación.

(Fuente: Azurdia, 1998) (10)

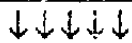
COLECTA de la muestra vegetal (CORTE de hojas tiernas del cogollo del zapote)



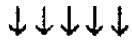
MACERACIÓN del material vegetal (0.1 gms) con BUFFER DE EXTRACCIÓN (color azul)



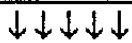
Colocación del material macerado en TUBOS DE REACCIÓN EN FRÍO.



CENTRIFUGACIÓN a 3,500 rpm (revoluciones por minuto) entre 10 a 15 minutos.



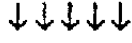
Recolección con micropipeta de 350 Microlitros de SOBRENADANTE



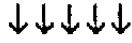
Colocación de 60 Microlitros del sobrenadante en las celdas de la GEL (COMB GEL), en las PLACAS ya preparadas y puestas en el aparato de corrida (Protean II), con BUFFER DE ELECTRODO.



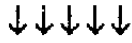
CORRIDA a 200 voltios de carga, durante 4 horas, con RECIRCULACIÓN DE AGUA FRÍA.



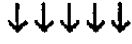
Medición y Preparación de los REACTIVOS PARA LA ISOENZIMA.



VERTIDO de la Isoenzima preparada en la GEL que fue sacada al terminar la corrida. Aquí lleva los alelos en forma de bandas y serán descubiertos al ser teñidos por la Isoenzima. Esto se realiza en recipientes plásticos.



INCUBACIÓN EN CUARTO OSCURO, hasta el apareamiento de las bandas.



LECTURA DE LOS ZIMOGRAMAS, en cuadros de distancias (en cms.) Ver anexo 5.

FIGURA 15A. Flujograma del procedimiento de corrida para la Electroforesis de Isoenzimas.

ENTRADAS Y SALIDAS DEL PROGRAMA DE ESTIMACION MULTILOCLAR (MLT) Y DIVERSIDAD DE NEI (NDD)

CUADRO 11A. ENTRADA DEL PROGRAMA DE ESTIMACION MULTILOCLAR (MLT).

Para esta página se ingresan en una hoja electrónica los datos del Número de familia y las 10 descendencias que posee. A la par de cada descendencia se colocan tres números que son los alelos que indica la parte superior de la hoja: SKDH, EST1, EST2. Por ejemplo, para la familia 23, la descendencia No. 1, tiene la siguiente información (ver ANEXO 8):

Familia		
23	1	2 2 2

Código 2: (Heterocigoto a, b)

Por tanto, la descendencia 1, de la familia 23 posee en SKDH presentes los alelos SKDH 1, SKDH 2; los alelos EST1-1 y EST1-2 y los alelos EST2-1 y EST2-2, ambos heterocigotos. Esta información fue extraída de los zimogramas de la corrida electroforética.

EJEMPLO DE PARTE DE LA ENTRADA AL PROGRAMA MLT, PARA EL ESTUDIO ISOENZIMÁTICO DE LA POBLACION DE *Boutaria sapota* EN LA PARTE ALTA DE LA CUENCA DEL RIO HATO, SAN AGUSTIN ACASAGUASTLAN.

PARTE ALTA DE LA Pop. Ge1
SKDH, EST1, EST2

Fam			Fam			Fam		
23	1	2 2 2	42	1	2 2 2	45	1	2 3 2
	2	6 2 2		2	2 2 2		2	2 3 1
	3	6 2 2		3	2 2 2		3	2 2 2
	4	2 2 2		4	2 2 2		4	2 3 2
	5	6 2 2		5	2 2 1		5	2 2 2
	6	6 2 2		6	2 2 1		6	2 2 2
	7	2 2 2		7	2 2 1		7	2 2 1
	8	2 2 2		8	2 2 3		8	2 2 2
	9	2 2 2		9	2 0 0		9	2 2 2
	10	6 1 3		10	2 2 1		10	2 2 2
25	1	2 2 2	43	1	2 2 2	46	1	4 3 3
	2	2 3 2		2	2 2 1		2	4 3 3
	3	2 1 2		3	2 2 1		3	2 3 3
	4	2 3 2		4	2 2 1		4	4 3 3
	5	2 2 2		5	2 2 1		5	4 3 3
	6	6 2 2		6	2 2 1		6	4 3 2
	7	6 1 2		7	2 2 1		7	4 2 3
	8	6 2 1		8	2 2 1		8	2 2 3
	9	2 2 1		9	2 2 1		9	2 2 3
	10	2 2 2		10	2 2 1		10	2 1 3
41	1	2 2 1	44	1	2 2 2	47	1	2 1 2
	2	2 2 1		2	2 3 1		2	2 1 2
	3	2 2 2		3	2 2 2		3	2 2 3
	4	2 2 2		4	2 2 2		4	2 2 3
	5	2 2 1		5	2 2 2		5	2 2 2
	6	1 2 2		6	2 3 1		6	2 2 2
	7	1 0 0		7	2 3 2		7	2 1 2
	8	2 0 0		8	2 3 2		8	2 1 2
	9	2 0 0		9	2 3 2		9	2 1 2
	10	2 0 0		10	2 3 1		10	2 1 2

CUADRO 12A. SALIDA DEL PROGRAMA DE ESTIMACION MULTILOCULAR (MLT). PRUEBA DE CHI CUADRADO DEL PROGRAMA DE ESTIMACION MULTILOCULAR.

SALIDA DEL PROGRAMA DE ESTIMACION MULTILOCULAR (MLT)

		EXPLICACION
Outcrossing rate of <i>Pouteria sapota</i> populatio # 1 (hig	<-----	Deplegado el titulo
Multilocus Estimates		
3 loci.	<-----	Con los tres loci, que son los tres sistemas isoenzimáticos estudiados, se analizaron 41 familias con 405 individuos. Se usaron 10 trampas para calcular el error estandar.
41 families. 405 individuals.		
Standard errors based upon 10 bootstraps. (standard errors in parentheses)		
<u>Locus</u>	<u>#scored</u>	
loc1	400	Existen 400 datos del locus 1 (SKDH) Existen 393 datos del locus 2 (EST1) Existen 385 datos del locus 3 (EST2)
loc2	393	
loc3	385	
Gene Frequency Estimates		
loc1	0.366 (0.094)	El número entre paréntesis indica el Error Estandar de cada uno de los alelos o bandas de cada locus estudiado. Por ejemplo, para el locus 1, su primera banda o alelo que es el SKDH1 tiene 0.466 ó 46.6% de frecuencia de apareamiento en los zimogramas y un error Estandar de 0.094.
loc1	0.464 (0.109)	
loc1	0.170 (0.024)	
loc2	0.537(0.085)	
loc2	0.463(0.085)	
loc3	0.536 (0.067)	
loc3	0.464 (0.067)	
Inbreeding Parameter Estimates		
Multilocus outcrossing rate = 0.810 (0.388)	<-----	En este apartado se despliegan los resultados de los parametros como lo es : Tasa de Entrecruzamiento Multilocular 0.81 Tasa de Entrecruzamiento Unilocular 0.769 Diferencia entre las Tasas Multilocular y Unilocular = 0.041 Indice de Fijación F = -0.3 Si es negativo como en este caso, indica un entrecruzamiento que favorece a individuos heterocigóticos.
Singlelocus outcrossing rate = 0.769 (0.127)		
Difference of outcrossing rates = 0.041 (0.269)		
Two-gene fixation index F = -0.300 (0.351)		

PRUEBA DEL CHI CUADRADO DEL PROGRAMA DE ESTIMACION MULTILOCULAR (MLT)

Chi square, loc1 locus.

		Parents					
Progeny		1	2	3	4	5	6
obs.		5.00	7.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1 exp.		5.73	76.51	0.00	2.39	0.00	0.00
chi2		0.09	63.15	0.00	*****	0.00	0.00
obs.		5.00	286.00	0.00	4.00	0.00	29.00
2 exp.		3.65	150.15	0.00	1.83	0.00	11.49
chi2		0.50	122.91	0.00	*****	0.00	26.66
obs.		0.00	4.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3 exp.		0.00	73.64	0.00	0.00	0.00	13.81
chi2		0.00	65.85	0.00	0.00	0.00	13.81
obs.		0.00	0.00	0.00	6.00	0.00	0.00
4 exp.		0.62	9.85	0.00	3.17	0.00	11.49
chi2		*****	9.85	0.00	2.62	0.00	11.49
obs.		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.00
5 exp.		0.00	0.00	0.00	0.78	0.00	4.70
chi2		0.00	0.00	0.00	*****	0.00	0.36
obs.		0.00	23.00	0.00	0.00	0.00	25.00
6 exp.		0.00	9.85	0.00	1.83	0.00	18.51
chi2		0.00	17.55	0.00	*****	0.00	2.28

Total chi-square = 337.03

Chi square, loc2 locus.

		Parents		
Progeny		1	2	3
obs.		20.00	23.00	0.00
1 exp.		18.28	80.64	0.00
chi2		17.00	41.20	0.00
obs.		10.00	276.00	*****
2 exp.		11.74	157.00	*****
chi2		0.26	90.20	0.11
obs.		0.00	15.00	*****
3 exp.		0.00	76.36	*****
chi2		0.00	49.31	0.08

Total chi-square = 181.32

Chi square, loc3 locus.

		Parents		
Progeny		1	2	3
obs.		*****	34.00	0.00
1 exp.		*****	59.99	0.00
chi2		0.02	11.26	0.00
obs.		49.00	155.00	10.00
2 exp.		47.44	100.50	15.06
chi2		0.05	29.55	1.70
obs.		0.00	12.00	20.00
3 exp.		0.00	40.51	14.94
chi2		0.00	20.07	1.71

Total chi-square = 64.36

CUADRO 14A. SALIDA DEL PROGRAMA DE LOS PARAMETROS DE DIVERSIDAD DE NIE (NEM).

Este programa despliega una serie de matrices las cuales interrelacionan los datos de frecuencia genética de cada alelo estudiado para cada una de las familias entre todas las demás familias.

1
Population genetics of *Pouteria sapota* population from high part

Loci used:
slah est1 est2

Nei distances

Population	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 23	0.000	0.020	0.158	0.062	0.211	0.133	0.070	0.221	0.065
2 25		0.000	0.073	0.017	0.098	0.071	0.029	0.304	0.099
3 41			0.000	0.027	0.028	0.087	0.059	0.528	0.188
4 42				0.000	0.055	0.055	0.018	0.380	0.104
5 43					0.000	0.118	0.101	0.790	0.275
6 44						0.000	0.014	0.277	0.263
7 45							0.000	0.262	0.160
8 40								0.000	0.372
9 47									0.000

Population	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 23	0.138	0.046	0.033	0.144	0.102	0.220	0.038	0.019	0.035
2 25	0.058	0.018	0.007	0.101	0.042	0.104	0.024	0.014	0.037
3 41	0.026	0.088	0.050	0.089	0.053	0.019	0.082	0.087	0.095
4 42	0.033	0.044	0.005	0.082	0.025	0.057	0.021	0.020	0.034
5 43	0.012	0.082	0.087	0.088	0.080	0.001	0.148	0.145	0.159
6 44	0.132	0.122	0.058	0.284	0.006	0.120	0.052	0.071	0.147

SALTO DE PAGINA DE LA FAMILIA No. 6 hasta LA FAMILIA No. 34 del estudio

34 72	0.063	0.021	0.008	0.015
35 73	0.503	0.225	0.200	0.135
36 74	0.003	0.046	0.041	0.087
37 75	0.000	0.071	0.058	0.108
38 76		0.000	0.014	0.033
39 77			0.000	0.008
40 78				0.000

1
Population genetics of *Pouteria sapota* population from high part

Loci used:
slah est1 est2

Nei diversities:

Total gene diversity (H_t) = 0.51052

within subpopulations (H_s) = 0.44990
between subpopulations (D_{st}) = 0.06062

Coeff. Of gene diffn. G_{st} (D_{st}/H_t) = 0.11874
Absolute gene diffn. (D_m) = 0.06217
Inter o intra pop gene div. Ratio R_{st} = 0.13820

La diversidad genética total ($H_t = 0.51052$) es la suma de la Diversidad Dentro las poblaciones ($H_s = 0.44990$) y la Diversidad Entre las subpoblaciones ($D_{st} = 0.06062$). Cuando la Diversidad dentro de las subpoblaciones es mayor que la Diversidad Entre las subpoblaciones, indica que la población posee un alto entrecruzamiento y un movimiento mayoritario del flujo de genes que se están evaluando.

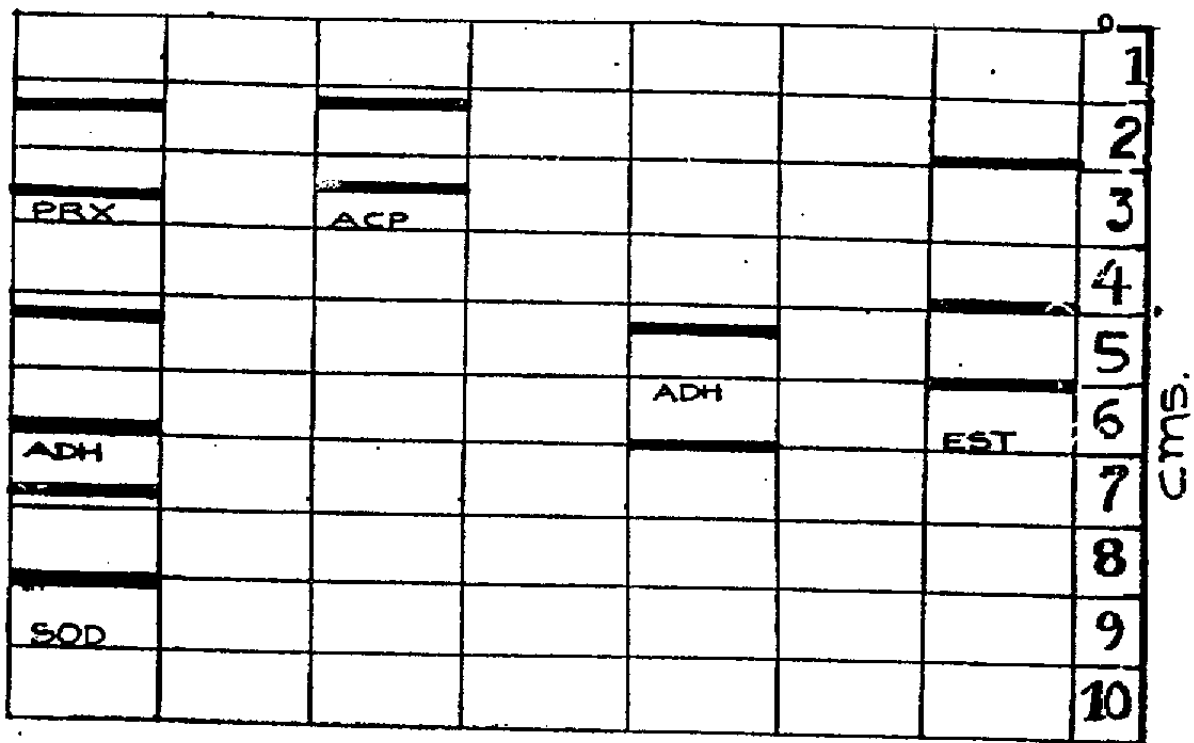


FIGURA 16A. POLIMORFISMOS REPORTADOS POR CINCO ISOENZIMAS EN HOJAS DE ZAPOTE. (Fuente: Azurdia, 1996) (6)

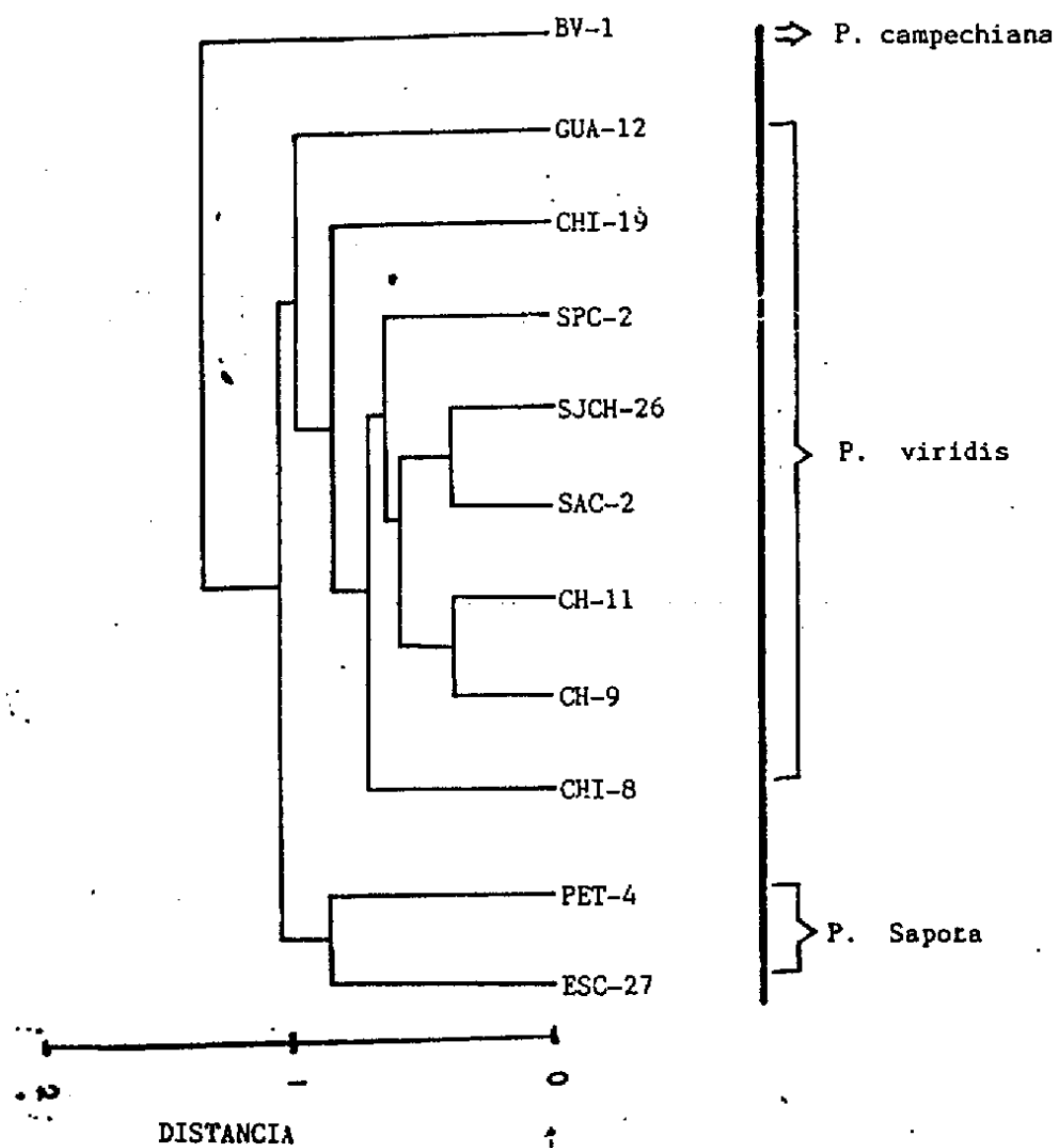


FIGURA 17A. FENOGRAMA QUE MUESTRA LAS RELACIONES EXISTENTES ENTRE ESPECIES DE *Pouteria*, BASADO EN INFORMACION ISOENZIMATICA. (Fuente: Azurdia, 1996) (6)

FIGURA 18A. Genotipo materno del zapote de la parte alta de la cuenca del río Hato, inferido para los 40 árboles madres, a partir de los análisis estadísticos de las progenies de cada familia, usando el programa MLT.

Maternal genotypes (known or inferred):

1	221
2	222
3	221
4	232
5	222
6	423
7	212
8	221
9	621
10	222
11	221
12	232
13	221
14	222
15	222
16	222
17	212
18	121
19	621
20	221
21	221
22	221
23	232
24	222
25	222
26	621
27	621
28	221
29	222
30	231
31	232
32	222
33	621
34	223
35	223
36	212
37	222
38	222
39	622
40	222

Genotipo materno	% Frecuencia
222	32.5
221	22.5
621	12.5
232	10
212	7.5
223	5
423	2.5
121	2.5
231	2.5
622	2.5

CODIGO PARA TRES ALELOS (a, b, c)	
0	Sin bandas
1	Homocigoto (a, a)
2	Heterocigoto (a, b)
3	Heterocigoto (a, c)
4	Homocigoto (b, b)
5	Heterocigoto (b, c)
6	Homocigoto (c, c)

ALELO A	*****
ALELO B	*****
ALELO C	*****

Maternal genotype inferred: 222

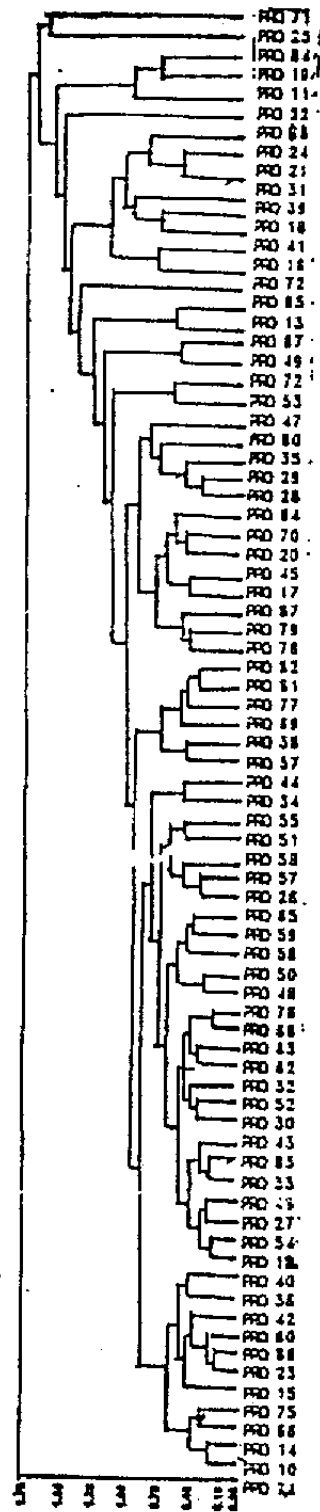


FIGURA 19A. Dendrograma agromorfológico que muestra las relaciones de parentesco entre los árboles de zapote (*Pouteria sapota*) de la cuenca del río Hato. Este dendrograma fue elaborado con datos morfológicos del programa de agrupamiento UPGMA. (Fuente: Azurdia, 1998) (10)

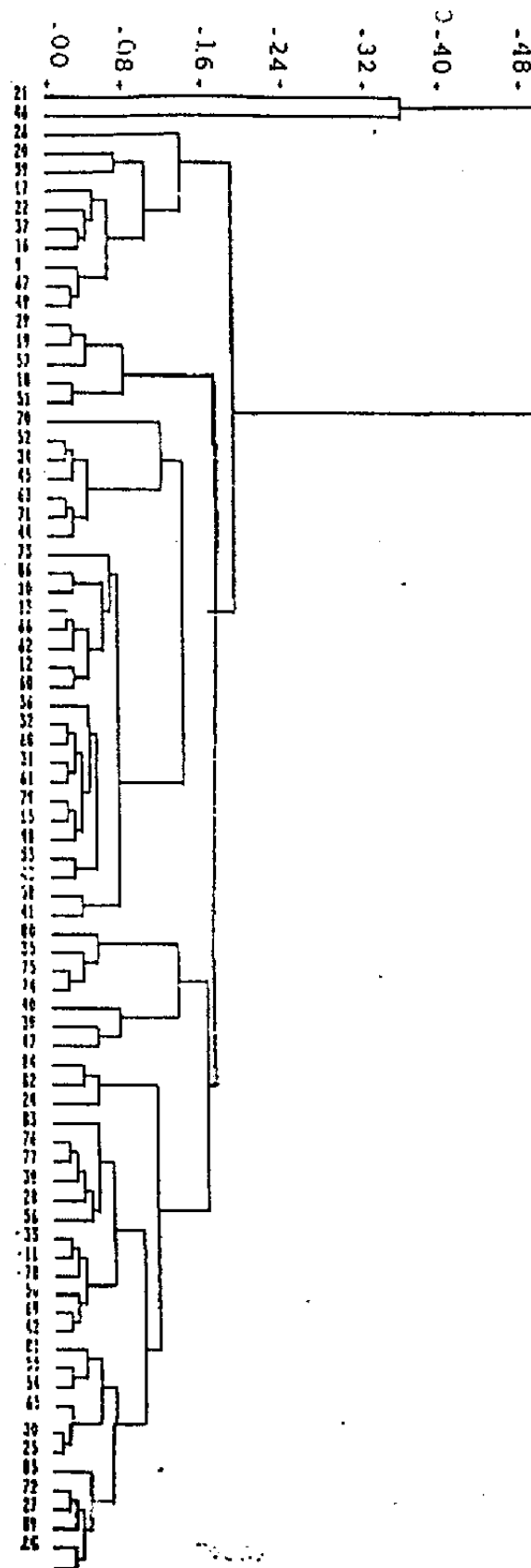


FIGURA 20A. Dendrograma isoenzimático que muestra las relaciones de parentesco entre las familias de zapote (*Pouteria sapota*) de la cuenca del río Hato. Este dendrograma fue elaborado con datos isoenzimáticos del programa MLT.
(Fuente: Azurdia, 1998). (10)

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA



Ref. Sem.025-2000

FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGRONOMICAS

LA TESIS TITULADA: "DETERMINACION DEL SISTEMA REPRODUCTIVO Y ESTRUCTURA GENETICA DE LA POBLACION DE ZAPOTE (*Pouteria sapota* (Jacq.) Moore Stearn) DE LA PARTE ALTA DE LA CUENCA DEL RIO HATO, MUNICIPIO DE SAN AGUSTIN ACASAGUASTLAN, EL PROGRESO, MEDIANTE EL USO DE MARCADORES ISOENZIMATICOS".

DESARROLLADA POR EL ESTUDIANTE: FRANCISCO ALFREDO FIGUEROA SANTIAGO

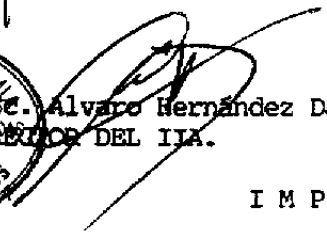
CARNET No: 9310131

HA SIDO EVALUADA POR LOS PROFESIONALES: Ing. Agr. Carlos R. Fernández Pérez
Dr. Carlos A. Orozco Castillo
Ing. Agr. Mario A. Méndez Muñóz

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.

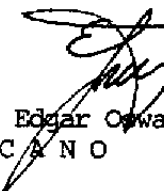

Dr. César Augusto Azurdia Pérez
A S E S O R


Dr. Luis Mejía de León
A S E S O R


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

FACULTAD DE AGRONOMIA
DE INVESTIGACIONES AGRONOMICAS
DIRECCION
ALVARO HERNANDEZ DAVILA
PERSONAL DE SAN CARLOS
COLECCION 2000

IMPRIMASE


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



cc:Control Académico
IIA.
Archivo
AH/prc

APARTADO POSTAL 1545 § 01091 GUATEMALA, C.A.
TEL/FAX (502) 476-9794
e-mail: ilusac.edu.gt § <http://www.usac.edu.gt/facultades/agronomfa.htm>