



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

**DIVERSIDAD GENÉTICA Y MORFOLÓGICA DE
KANISTÉ (*Pouteria campechiana* Kunth) Baehni EN
LA PENÍNSULA DE YUCATÁN, MÉXICO**

Tesis que presenta

JANINE ESTEFANÍA JIMÉNEZ PARRA

En opción al título de

MAESTRA EN CIENCIAS
(Ciencias Biológicas: **RECURSOS NATURALES**)

Mérida, Yucatán, México

2024

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de Janine Estefanía Jiménez Parra titulado **Diversidad genética y morfológica de Kanisté (*Pouteria campechiana* Kunth) Baehni en la península de Yucatán, México**, fue realizado en la Unidad de Recursos Naturales, en la línea de investigación de Agrobiodiversidad para la Sustentabilidad Ecológica y Cultural, en el laboratorio de Marcadores Moleculares del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección del Dr. Jaime Martínez Castillo, dentro de la opción de Recursos Naturales perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente



Dr. José Luis Hernández-Stefanoni
Director de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 27 de noviembre de 2024

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma:  _____

Nombre: Janine Estefanía Jiménez Parra

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de Recursos Naturales Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., bajo la dirección del Dr. Jaime Martínez Castillo.

PRODUCTOS ASOCIADOS

ARTÍCULO CIENTÍFICO (Enviado a la revista Fruit Research)

Diversity and genetic structure of kaniste (*Pouteria campechiana*), a tropical fruit tree native from the Yucatan Peninsula, Mexico.

ARTÍCULO DE DIVULGACIÓN

Jiménez-Parra, J.E., Ortiz-García, M.M., Martínez-Castillo, J. (2024). Kanisté en la península de Yucatán, un tesoro frutal maya. *Desde el herbario CICY*, 16: 174-179

AGRADECIMIENTOS

Al Conahcyt (Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología) por el apoyo económico otorgado mediante la Beca Nacional al CVU 1267825.

A mi director de tesis, Dr. Jaime Martínez Castillo, por su enseñanza, confianza y apoyo incondicional durante el posgrado. Su guía y compromiso fueron fundamentales para mi crecimiento académico y personal, inspirándome a enfrentar cada desafío con dedicación y perseverancia, agradezco profundamente su paciencia y orientación a lo largo de este proceso.

A los miembros de mi Comité Tutorial, Dra. Mariana Chávez Pesqueira, Dr. Rubén Humberto Andueza Noh, Dr. Daniel Potter, y al revisor de tesis, Javier Orlando Mijangos Cortés, por su valiosa disposición, tiempo y apoyo al compartir sus conocimientos, contribuyendo significativamente a la mejora de esta investigación.

A la técnica del Laboratorio de Marcadores Moleculares, Q.F.B. Matilde Margarita Ortiz García, su experiencia y conocimiento fueron cruciales para llevar a cabo un trabajo de calidad y en los plazos establecidos.

A quienes, en distintos momentos del proceso, contribuyeron a este trabajo compartiendo ideas e información valiosa para la investigación: M.C. Roger Antonio Sulub, Dra. Mónica Jiménez Rojas, Biol. Manuel Montejo, Gabriel Rolando Dzib, Mauricio Heredia.

Al personal de la Unidad de Recursos Naturales CICY por su disposición a brindarme apoyo siempre con una actitud amable, especialmente a Karla Reynoso Preisser.

A mi familia Nancy, Carmita, Karol y en especial a mi Paulita por su comprensión y motivación.

A mis amigos del posgrado: Maty, Majo, Stefy, Mayté, Roger, Manuel, Jesús, Rommel y Néstor por su apoyo y amistad.

DEDICATORIA

A mi amada hija Paula Victoria Morillo Jiménez.

ÍNDICE

CAPÍTULO I	3
1.1. ANTECEDENTES	3
1.1.1. Importancia de las especies frutales perennes tropicales	3
1.1.2. La diversidad genética como componente de la biodiversidad	4
1.1.3. Diversidad genética en especies silvestres	5
1.1.4. Diversidad genética en especies cultivadas/domesticadas	6
1.1.5. Enfoques en la conservación de la diversidad genética	6
1.1.6. Marcadores genéticos	7
1.1.6.1. Marcadores bioquímicos	7
1.1.6.2. Marcadores morfológicos	7
1.1.6.3. Marcadores moleculares	8
1.1.7. Modelo de estudio: Kanisté	10
1.1.7.1. Estudio de la diversidad morfológica y genética del kanisté	12
1.2. JUSTIFICACIÓN	14
1.3. HIPÓTESIS	15
1.4. OBJETIVO GENERAL	16
1.5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
1.6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	17
CAPÍTULO II	19

2.1. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
2.1.1. Área de estudio y características de la vegetación de la península de Yucatán	19
2.2. OBJETIVO 1. Evaluar la diversidad genética de 40 individuos de kanisté de la península de Yucatán, México.	19
2.2.2. Extracción de ADN y marcadores moleculares.....	22
2.2.3. Marcadores SSR.....	22
2.2.4. Marcadores ISSR.....	24
2.2.5. Análisis de los datos – SSR.....	25
2.2.5.1. Patrón de agrupamiento y estructura genética.....	25
2.2.5.2. Diversidad genética.	26
2.2.6. Análisis de datos - ISSR.....	26
2.2.6.1. Patrón de agrupamiento y estructura genética.....	26
2.2.6.2. Diversidad genética.	27
2.3. OBJETIVO 2: Caracterizar morfológicamente los frutos de 15 árboles de kanisté colectados en la península de Yucatán, México.	28
2.3.1. Colecta de frutos.....	28
2.3.2. Caracteres morfológicos evaluados.....	30
2.3.3. Análisis de datos.....	30
CAPÍTULO III	31
3.1. RESULTADOS.....	31

3.1.1. Objetivo: Evaluar la diversidad genética de 40 individuos de kanisté en la península de Yucatán, México.....	31
3.1.1.1. SSR	31
3.1.1.1.1. Patrón de agrupamiento y estructura genética	31
3.1.1.1.2. Diversidad genética.....	35
3.1.1.2. ISSR	36
3.1.1.2.1. - Patrón de agrupamiento y estructura genética.....	36
3.1.1.2.2. Diversidad genética.....	42
3.1.2. Objetivo: Caracterizar morfológicamente los frutos de 15 árboles de kanisté colectados en la península de Yucatán, México.	44
3.1.2.1. Variables cualitativas.....	44
3.1.2.2. Variables cuantitativas.	44
3.1.2.2.1. Análisis de correlación de las variables cuantitativas.....	48
3.1.2.2.2. El análisis de conglomerados	49
3.1.2.2.3. Análisis de componentes principales	51
CAPÍTULO IV.....	53
4.1. DISCUSIÓN.....	53
4.1.1 Diversidad genética del kanisté en la península de Yucatán, México.	53
4.1.2. Variación morfológica de frutos de kanisté colectados en la península de Yucatán.	57
CAPÍTULO V.....	60

5.1. CONCLUSIONES	61
5.2. PERSPECTIVAS	62
ANEXOS	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Características morfológicas de <i>P. campechiana</i> . A. semillas; B. flores; C. árbol; D. hojas; E. fruto. Fotografías: A, D y E) Janine Jiménez; B) Néstor Eduardo Raigoza Flores; C) Castillo-Burguete <i>et al.</i> (2024).....	11
Figura 2.1. Sitios de colecta de 40 individuos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) en la península de Yucatán, México.	21
Figura 2.2. Sitios de colecta de frutos de 15 árboles de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) en sitios antropogénicos de la península de Yucatán, México.....	28
Figura 3.1. Gráfica de Delta K usando 40 árboles de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) colectados en la península de Yucatán, México, y 18 loci de microsatélites.....	31
Figura 3.2. Coeficientes de ancestría para 40 individuos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México, utilizando 18 loci de microsatélites. A) Prueba de asignación de individuos utilizando STRUCTURE K= 2; B) Distribución geográfica de los porcentajes de ancestría estimados con K =2.....	32
Figura 3.3. Análisis de Coordenadas Principales de 40 árboles de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) colectados en la península de Yucatán, México, utilizando 18 loci de microsatélites.....	33
Figura 3.4. Análisis Neighbor-Joining de 40 árboles de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) colectados en la península de Yucatán, México, utilizando 18 loci de microsatélites.	34
Figura 3.5. Gráfica de Delta K usando 38 árboles de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) colectados en la península de Yucatán, México, y 167 loci de ISSR.....	36
Figura 3.6. Coeficientes de ancestría para 38 individuos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. A) Prueba de asignación de individuos utilizando STRUCTURE K= 2; B) Distribución geográfica de los porcentajes de ancestría estimados con K =2.....	37

Figura 3.7. Coeficientes de ancestría para 38 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. **A)** Prueba de asignación de individuos utilizando STRUCTURE K= 3; **B)** Distribución geográfica de los porcentajes de ancestría estimados con K =3..... 38

Figura 3.8. Coeficientes de ancestría para 38 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. **A)** Prueba de asignación de individuos utilizando STRUCTURE K= 4; **B)** Distribución geográfica de los porcentajes de ancestría estimados con K =4..... 39

Figura 3.9. Análisis de Coordenadas Principales de 38 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. El grupo rojo, amarillo, azul y verde corresponden al patrón de agrupamiento encontrado con STRUCTURE K= 4..... 40

Figura 3.10. Análisis Neighbor-Joining de 38 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. Los colores rojo, azul, amarillo y verde son los utilizados en STRUCTURE K= 4. 41

Figura 3.11. Variación de los rasgos cualitativos de los frutos de kanisté (*P. campechiana* (Kunth) Baehni, Sapotaceae). **A y B)** Color amarillo del mesocarpio; **C)** Forma ovoide, color amarillo (árbol 15); **D)** Forma redonda (árbol 7); **E)** Color amarillo del exocarpio; **F)** Diversidad de formas de los frutos de kanisté; **G)** Forma alargada (árbol 8); **H)** Forma cilíndrica con abultamiento en los extremos; **I)** Forma cónico fusiforme alargada; **J)** Forma redonda (árbol 10). Modificado de Jiménez-Parra *et al.*, 2024. 45

Figura 3.12. Diagramas de dispersión que muestran correlaciones positivas y significativas de variables cuantitativas de los frutos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados de 15 árboles en la península de Yucatán, México. A) Correlación entre diámetro del fruto y peso del fruto. B) Correlación entre diámetro del fruto y circunferencia del fruto. C) Correlación entre circunferencia del fruto y peso del fruto. 49

Figura 3.13. Resultados del análisis de conglomerados UPGMA de las características cuantitativas de los frutos de 15 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) presentes en hábitats antropogénicos de la península de Yucatán, México. 50

Figura 3.14. Análisis de Componentes principales (PCA) para identificar grupos basados en caracteres morfológicos de los frutos de 15 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) presentes en la península de Yucatán, México. 51

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.1. Características generales de los SSR (Srivastava <i>et al.</i> , 2023).	9
Cuadro 1.2. Características generales de los ISSR (Sarwat, 2012).	10
Cuadro 2.1. Información de 40 individuos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) colectados en la península de Yucatán, México, utilizados en el presente estudio.	20
Cuadro 2.2. Microsatélites elaborados para <i>Pouteria sapota</i> , seleccionados para el estudio de la diversidad genética del kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>).	23
Cuadro 2.3. Mezcla de reacción para PCR para los SSR.	24
Cuadro 2.4. Características de los 6 iniciadores de ISSR utilizados en este estudio.....	25
Cuadro 2.5. Mezcla de reacción de PCR para los ISSR.....	25
Cuadro 2.6. Ubicación geográfica de los sitios de colección de frutos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) evaluados en el presente trabajo.	29
Cuadro 2.7. Variables cualitativas y cuantitativas evaluadas en frutos de kanisté colectados en la península de Yucatán, México.....	30
Cuadro 3.1. Diversidad genética de 40 individuos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) en la península de Yucatán, utilizando 18 loci de microsatélites.	35
Cuadro 3.2. Diversidad genética de 38 individuos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR.	43
Cuadro 3.3. Rasgos cualitativos de frutos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) de 15 árboles presentes en sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México.	44
Cuadro 3.4. Valores obtenidos de la media, desviación estándar y coeficiente de variación de las variables caracterizadas para 150 frutos de kanisté (<i>Pouteria campechiana</i>) colectados de 15 árboles presentes en hábitats antropogénicos en la península de Yucatán, México.	46

Cuadro 3.5. Correlación de las variables cuantitativas de los frutos de kanisté (*Pouteria campechiana*) de 15 árboles presentes en hábitats antropogénicos en la península de Yucatán, México. 48

Cuadro 3.6. Comparación de medias + desviación estándar de las variables cuantitativas de los frutos de 15 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) presentes en la península de Yucatán, México, evaluadas a nivel de grupos A (A1 y A2) y B obtenidos por el análisis UPGMA. 51

ABREVIATURAS

PY: Península de Yucatán

SSR: Simple Sequence Repeat

ISSR: Inter-Simple Sequence Repeat

PCoA: Análisis de Coordenadas Principales

N-J: Neighbor Joining

PCA: Análisis de Componentes Principales

UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

JBR-RO: Jardín Botánico Regional "Roger Orellana" CICY

%P: Porcentaje de loci polimórficos

H_o : Heterocigosidad Observada

H_e : Heterocigosidad Esperada

RESUMEN

Desde los orígenes de la humanidad, las especies frutales perennes han sido muy utilizadas, principalmente, como fuente de alimento. A pesar de su gran relevancia en las áreas tropicales y subtropicales, muchas de estas especies son actualmente subutilizadas, siendo su diversidad genética poco investigada; tal es el caso del kanisté (*Pouteria campechiana*, Sapotaceae), frutal nativo de México y Centroamérica. Enmarcado en la península de Yucatán, México, este estudio tuvo dos objetivos: 1) evaluar la diversidad genética de 40 individuos de kanisté colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos, utilizando 18 loci de marcadores SSR y 167 loci de ISSR; 2) caracterizar morfológicamente 150 frutos colectados de 15 árboles de kanisté ubicados en sitios antropogénicos, mediante variables cualitativas y cuantitativas. En el objetivo 1, para ambos tipos de marcadores moleculares, los análisis de agrupamiento (STRUCTURE, PCoA y N-J) y estructura genética (FST y AMOVA) apoyaron la existencia de dos grupos genéticos principales. En el caso de SSRs, se observó un grupo integrado por individuos genéticamente puros colectados en vegetación natural de Quintana Roo y otro grupo compuesto por una mezcla de individuos colectados en sitios antropogénicos y vegetación natural; por su parte, el análisis realizado con los ISSRs reveló una subestructura genética dentro de estos grupos principales. A nivel de especie, los resultados indicaron una diversidad genética de baja (ISSR: %P = 72.46, H_E = 0.19) a media (SSR: H_O = 0.49, H_E = 0.52); mientras que los individuos colectados en vegetación natural presentaron una diversidad genética mayor, tanto con los SSR (H_O = 0.505, H_E = 0.646) como con los ISSR (%P = 88.02, H_E = 0.23), en comparación con aquellos colectados en sitios antropogénicos (SSR: H_O = 0.490, H_E = 0.395; ISSR: %P = 56.89, H_E = 0.158). Los frutos de kanisté mostraron una gran variación en sus formas (ovalado, cónico fusiforme alargado, ovoide achatado, redondo y alargado), dos colores de exocarpio (amarillo y amarillo verdoso) y dos colores del mesocarpio (amarillo y amarillo naranja); los análisis multivariados (UPGMA y PCA) formaron dos grupos, siendo las variables de peso, diámetro y circunferencia del fruto las de mayor contribución en esta separación. Los resultados de este estudio aportan bases para establecer técnicas de muestreo adecuadas que permitan coleccionar una mayor diversidad genética de esta especie, así como para desarrollar estrategias más efectivas para su conservación y manejo en la península de Yucatán, México.

ABSTRACT

Since the origins of humanity, perennial fruit species have been widely utilized, primarily as a source of food. Despite their significance in tropical and subtropical regions, some of these species are currently neglected, and there is limited research on their genetic diversity, such as *kanisté* (*Pouteria campechiana*, Sapotaceae), a fruit native to Mexico and Central America. Framed within the Yucatan Peninsula, Mexico, this study had two objectives: 1) to assess the genetic diversity of 40 *kanisté* individuals collected from natural vegetation and anthropogenic sites using 18 SSR loci and 167 ISSR loci; 2) morphological characterization of 150 fruits collected from 15 *kanisté* trees located in anthropogenic sites, utilizing qualitative and quantitative variables. In Objective 1, for both types of molecular markers, clustering analyses (STRUCTURE, PCoA, and N-J) and genetic structure assessments (FST and AMOVA) revealed the existence of two genetic groups. For SSRs, one group consisting of genetically pure individuals collected from natural vegetation in Quintana Roo, and another group formed by a mixture of individuals collected from anthropogenic sites and natural vegetation. The analysis conducted with ISSRs revealed a genetic substructure within these main groups. At the species level, the results indicated low (ISSR: %P = 72.46, H_E = 0.19) to medium (SSR: H_O = 0.49, H_E = 0.52) genetic diversity; individuals collected from natural vegetation showed higher genetic diversity with SSR markers (H_O = 0.505, H_E = 0.646) and ISSR markers (%P = 88.02, H_E = 0.23) than individuals collected from anthropogenic sites (SSR: H_O = 0.490, H_E = 0.395; ISSR: %P = 56.89, H_E = 0.158). The *P. campechiana* fruits exhibited considerable variation in shape (oval, elongated fusiform cone, flattened ovoid, round, and elongated), two exocarp colors (yellow and greenish yellow), and two mesocarp colors (yellow and orange-yellow). Multivariate analyses (UPGMA and PCA) revealed two different groups, with fruit weight, diameter, and circumference as the variables contributing most significantly to this differentiation. This study provides a basis for establishing appropriate sampling techniques to collect greater genetic diversity of this species to develop effective strategies for its conservation and management in the Yucatan Peninsula, Mexico.

INTRODUCCIÓN

Las especies frutales perennes poseen una importancia significativa a nivel mundial desde el punto de vista económico, cultural y nutricional, siendo una fuente de alimento muy utilizada en la dieta básica humana (Montes de Oca *et al.*, 2021). Existen miles de frutas tropicales y subtropicales en el mundo (Awodoyin *et al.*, 2015), la mayoría de estas consideradas como subutilizadas ya que su consumo es a nivel local.

En la península de Yucatán (PY), México, existen 31 especies frutales nativas, muchas de las cuales pueden considerarse como subutilizadas, un ejemplo de estas es el kanisté [(*Pouteria campechiana* Kunth) Baehni], especie de la familia Sapotaceae. En México, el kanisté puede encontrarse desde la parte central hasta el sureste del país (Pennington y Sarukhan, 2005). Su uso principal es el consumo del fruto el cual, además de sabroso, dulce y nutritivo, también tiene propiedades medicinales (Nur *et al.*, 2022). A pesar de estas características importantes, en las últimas décadas el consumo del kanisté se ha venido marginando en la dieta peninsular, lo cual ha provocado la disminución del número de árboles cultivados en las comunidades mayas; a esta disminución se le suma la pérdida del conocimiento ecológico tradicional relacionado a su cultivo y manejo (Duran, datos no publicados; Jimenez *et al.*, 1999).

La PY podría ser el centro de domesticación del kanisté, ya que: 1) en las selvas de esta región existen poblaciones naturales; 2) en las comunidades mayas podemos encontrar individuos cultivados cuyos frutos poseen una gran variación morfológica (Pennington y Sarukhan, 2005) que podría ser el resultado de la selección por los habitantes de la región durante más de 2000 años. A pesar de la importancia que representa la PY para el estudio y la conservación del kanisté, existe un gran vacío de información sobre la especie.

Estudiar las especies en su centro de origen y/o domesticación es importante porque estos lugares albergan la mayor diversidad genética, este conocimiento es clave para la conservación de genes esenciales, asegurando recursos valiosos para enfrentar desafíos futuros. El objetivo de este trabajo fue analizar la diversidad genética del kanisté (*P. campechiana*) en la PY, México, usando enfoques genéticos y morfológicos.

CAPÍTULO I

1.1. ANTECEDENTES

1.1.1. Importancia de las especies frutales perennes tropicales

Las especies frutales perennes tienen una importancia significativa a nivel mundial desde el punto de vista económico, cultural y nutricional, siendo una fuente de alimento utilizada en la dieta básica humana desde sus orígenes como especie (Monte de Oca *et al.*, 2021). Al respecto, existen miles de frutas tropicales y subtropicales que se cultivan en el mundo: al menos 1 000 especies reportadas en América, 1 200 en África y 500 en Asia (Awodoyin *et al.*, 2015). Cabe resaltar que más del 90% de la producción de árboles frutales en las áreas tropicales se consume localmente como fruta fresca; pero, en las últimas décadas se ha observado un aumento constante en la demanda de estas frutas en los mercados internacionales (particularmente en la Unión Europea, Estados Unidos de América y algunos países asiáticos como Japón y Corea del Sur), ya que las personas están tomando consciencia de su valor nutricional y sus aportaciones a la salud (FAO, 2010).

La característica de un consumo local de esta gran cantidad de frutas tropicales las clasifica como especies subutilizadas, categoría que abarca a especies de plantas domesticadas (o en alguna etapa de domesticación) que se utilizan para la alimentación, la medicina, el comercio o las prácticas culturales dentro de las comunidades locales, pero que no se comercializan ni se estudian ampliamente como parte de la agricultura convencional. En el área de investigación, se clasifican como subutilizadas por su potencial percibido para contribuir al conocimiento sobre nutrición, seguridad alimentaria, resistencia genética o sostenibilidad (Jain *et al.*, 2013).

Mesoamérica se reconoce como uno de los principales centros de origen, domesticación y diversidad biológica de plantas cultivadas para la alimentación humana (Vavilov, 1951; Harlan, 1971; Perales-Rivera y Aguirre-Rivera, 2008). Los centros de origen, domesticación y diversidad genética son regiones importantes para la conservación del germoplasma original de las especies, porque los ancestros silvestres de las especies cultivadas son recursos fitogenéticos importantes que pueden contribuir a resolver problemas de alimentación presentes o futuros mediante planes de mejoramiento genético (Engels *et al.*, 2006; Hernández-Verdugo *et al.*, 2006; Boege, 2009; Jamnadass *et al.*, 2009). Los centros de origen y domesticación son focos de variación morfológica y esto es un reflejo de la diversidad genética que ha surgido a lo largo del tiempo debido a la adaptación a diferentes

condiciones ambientales y a la presión selectiva ejercida por los humanos; en estas áreas, las especies suelen mostrar una mayor variabilidad morfológica en respuesta a los distintos microambientes, lo que incluye diferencias en tamaño, forma, color y otras características físicas (Délices *et al.*, 2021). Durante la selección artificial, los humanos han seleccionado ciertos rasgos morfológicos favorables, como mayor tamaño de fruto o facilidad de cosecha, lo que ha llevado a una diversificación aún mayor en algunas especies, sin embargo, este proceso también puede haber reducido la variación en otros rasgos al priorizar ciertos fenotipos (Hernández-Villarreal, 2013).

En la península de Yucatán existen al menos 31 especies de frutales nativos muchos de las cuales pueden ser clasificados como subutilizados; entre estas podemos mencionar al bonete (*Jacaratia mexicana* A. DC.), sak pah (*Byrsonima bucidaefolia* Standley), cho'och [*Pouteria hypoglauca* Standl) Baehni], nance [*Byrsonima crassifolia* (L.) HBK], caimito (*Chrysophyllum cainito* L.), y el kanisté [*Pouteria campechiana* Kunth) Baehni] (Ruenes *et al.*, 2015). Aunque son diversos los factores relacionados a esta subutilización en esta región de México, entre los más importantes podemos mencionar: 1) falta de comercialización, cuando el uso de estas especies es más para subsistencia y para venta en mercados locales, 2) cultivo de especies introducidas (p. ej. - el mango -*Mangifera indica* L.- y naranja agria -*Citrus × aurantium* L.-), y 3) preferencia en el consumo de frutas de especies introducidas (p. ej. manzana -*Malus domestica* Suckow.-, durazno -*Prunus pérsica* L.-, pera -*Pyrus communis* L.-) fácilmente disponibles en los mercados (Jimenez *et al.*, 1999).

A pesar de la gran importancia que representan las especies frutales perennes para el consumo humano, en particular para las comunidades nativas en las regiones tropicales y subtropicales, con excepción de algunas especies de gran importancia mundial como el plátano -*Musa paradisiaca* L.- y la papaya - *Carica papaya* L. -, para la gran mayoría de estas, existe un vacío de información sobre aspectos tan elementales como su diversidad genética, lo cual es alarmante. La diversidad genética, en sentido amplio, es el componente más básico de la biodiversidad que permite conocer el estado de conservación de una especie (Piñero, 2008).

1.1.2. La diversidad genética como componente de la biodiversidad

La biodiversidad es parte fundamental para la supervivencia de la humanidad; sin embargo, hoy sabemos que las actividades humanas la están alterado en todos sus niveles de manera nunca antes vista (Pérez-García, 2020). Entre las actividades humanas de mayor impacto sobre la biodiversidad están: la deforestación, agricultura intensiva, urbanización,

sobreexplotación de recursos naturales, contaminación, introducción de especies invasoras, fragmentación del hábitat y prácticas agrícolas no sostenibles (Tellería, 2013).

El término "biodiversidad" es multifacético y ha sido descrito por diferentes autores (Zalta, 2002 y Núñez *et al.*, 2003); sin embargo, existe el consenso que ésta se compone por tres elementos interrelacionados; diversidad de los ecosistemas, diversidad de las especies y diversidad genética (Schemske *et al.*, 1994). Para el tema central de este trabajo de tesis, el nivel de biodiversidad abordado es el de diversidad genética; en sentido amplio, este es el componente más básico de la biodiversidad (Piñero, 2008). Se entiende por diversidad genética a la variación de los genes dentro y entre especies; puede ser vista y comparada en tres niveles: entre individuos de una población, entre poblaciones dentro de la misma especie y entre diferentes especies (Glowka *et al.*, 1996). El paradigma central asociado a la diversidad genética es que, a medida que esta aumenta, las especies tienen una mayor capacidad para adaptarse a cambios ambientales, lo que les brinda una mayor probabilidad de supervivencia. Por el contrario, las especies con una diversidad genética limitada están más expuestas a los riesgos asociados con dichos cambios; en este sentido, existe el concepto de erosión genética, que no es otra cosa que la pérdida de genes o genotipos en las poblaciones cultivadas y silvestres a través del tiempo como resultado de la acción de factores naturales o artificiales (Zhiminaicela-Cabrera *et al.*, 2020).

1.1.3. Diversidad genética en especies silvestres

La diversidad genética que se encuentra en especies silvestres desempeña un papel crucial, ya que estas especies residen en ambientes naturales y continúan estando sujetas a la presión de la selección natural. Como resultado, su diversidad genética abarca una serie de rasgos que les confieren resistencia a condiciones como la sequía, variaciones extremas de temperatura y enfermedades diversas; si estas especies son los parientes de especies cultivadas y/o domesticadas, estas cualidades tienen el potencial de ser transmitidas a estos últimos mediante la hibridación, lo que podría ser esencial para mejorar la agricultura en el futuro (Seto *et al.*, 1998 y Sierra-Jiménez *et al.*, 2014). Sin embargo, el estudio de la diversidad genética en las especies silvestres sigue siendo limitado, ya que se ha investigado solo un reducido número de especies, lo cual resulta insuficiente considerando la vasta diversidad de especies presentes a nivel global. Dado que esta diversidad está determinada por las distintas variantes presentes en los genes de los individuos de una especie, su relevancia radica en el potencial evolutivo que ofrecen a las especies, al servir como un reservorio de posibles respuestas a los cambios en el medio ambiente, tanto físico como biológico, facilitando así su adaptación a dichos cambios (Bellón *et al.*, 2009).

1.1.4. Diversidad genética en especies cultivadas/domesticadas

En el ámbito de las especies vegetales que han sido sometidas al proceso de domesticación, es notable la amplia gama de cultivos que este proceso ha generado. Este logro no habría sido posible sin la base de diversidad genética presente en los respectivos parientes silvestres (Parra y Casas, 2016). En este proceso de domesticación es importante considerar lo que se conoce como efecto fundador por domesticación, que se refiere a la reducción de la variabilidad genética que ocurre cuando un pequeño grupo de individuos es separado de una población más grande; con el tiempo, la nueva subpoblación resultante tendrá genotipos y rasgos físicos parecidos a los del grupo inicial del que se separó, y esos genotipos y rasgos pueden ser muy diferentes respecto de la población original más grande (Ladizinsky, 1985).

Es importante mencionar que la reducción de la variabilidad genética en las especies domesticadas vs. sus parientes silvestres puede ser significativa o no, dependiendo del ciclo de vida de la especie implicada (anual o perenne). En un estudio comparativo sobre la diversidad genética de cultivos de frutas perennes y sus progenitores silvestres se encontró que las especies frutales perennes (p. ej. la manzana -*Malus domestica*-, la vid -*Vitis vinifera*-, el pistacho -*Pistacia vera*- y el olivo -*Olea europaea*-) conservan un promedio de 94.8% de la variación neutra encontrada en sus poblaciones silvestres (Miller y Gross, 2011). Este porcentaje de reducción en diversidad genética encontrado en cultivos de especies perennes es menor al observado en cultivos de especies anuales; en parte, esto se debe a que las primeras tienen ciclos juveniles prolongados y la mayoría de estas son dioicas y alógamas, lo que implica que necesitan cruzarse con otros individuos para reproducirse y con ello la existencia de flujo génico de los cultivos y sus poblaciones silvestres que constantemente introduce diversidad genética a los cultivos, esto ocurre en regiones donde los cultivos y sus poblaciones silvestres comparten distribución geográfica (Miller y Gross, 2011).

1.1.5. Enfoques en la conservación de la diversidad genética

La conservación de la biodiversidad es un campo multidisciplinario que abarca diversas áreas del conocimiento. Algunas de las principales áreas que estudian la conservación de la biodiversidad incluyen: la ecología, biología de la conservación, biogeografía y agroecología (Cardinale *et al.*, 2012). En el caso particular de la diversidad genética, la genética de poblaciones ha desempeñado un papel crucial en el desarrollo de estrategias de conservación y, en conjunto con el avance de los marcadores moleculares, ha dado origen a la disciplina conocida como genética de la conservación, la cual se dedica a evaluar el estado genético

de las poblaciones con el objetivo de preservar la diversidad genética y reducir los riesgos asociados mediante la aplicación de marcadores moleculares; comprender la diversidad y las relaciones genéticas dentro de las poblaciones es esencial para la conservación de especies amenazadas (Wuerthner y Primack, 1994; Amos y Balmford, 2001; Allendorf, 2005).

1.1.6. Marcadores genéticos

Un concepto básico en el estudio de la diversidad genética es el de marcador genético, que se define como cualquier diferencia fenotípica controlada genéticamente (Rieger *et al.*, 1942). Gale (1994) lo define como cualquier medio para identificar cualquier locus específico en un cromosoma. Una diferencia, ya sea fenotípica o genotípica, puede actuar como marcador genético si identifica en un individuo características del genotipo, del fenotipo, o de ambos y si, además, puede hacerse seguimiento a su herencia a través de varias generaciones (López y Fulton, 2004). Los marcadores genéticos pueden clasificarse en bioquímicos, morfológicos y moleculares.

1.1.6.1. Marcadores bioquímicos

Los marcadores bioquímicos están representados por las isoenzimas y aloenzimas, proteínas totales o de almacenamiento y constituyeron la primera generación de marcadores (Solís-Ramos y Andrade-Torres, 2016). Entre las ventajas del uso de estos marcadores, es que son relativamente neutrales y carecen de efectos deletéreos, pleiotrópicos y/o epistáticos (Singh *et al.*, 2024); sin embargo, presentan algunas desventajas: enfrentan problemas técnicos, no abarcan todo el genoma, ya que representan solo una fracción limitada del contenido genético, y solo detectan la variación de los genes que codifican características específicas del individuo. Además, la precisión de los datos obtenidos puede verse afectada por el polimorfismo en los tejidos donde se encuentran las isoenzimas (por ejemplo, el polimorfismo de las hojas puede diferir del de las semillas del mismo individuo), así como por el polimorfismo ontogenético. Por último, las isoenzimas son específicas para determinados sustratos (Solís-Ramos y Andrade-Torres, 2016).

1.1.6.2. Marcadores morfológicos

Los marcadores morfológicos son caracteres de un individuo que se expresan en un ambiente específico y son muy utilizados para estimar la variación morfológica en una población (Yunli *et al.*, 2020). En el caso de las especies domesticadas, cuando usamos marcadores

morfológicos es importante considerar lo que se conoce como síndrome de domesticación, el cual es una serie de modificaciones que afectan tanto a la estructura física y genética, como al funcionamiento fisiológico de la planta, entre estas modificaciones se incluyen la pérdida de la latencia de la semilla, cambios en el patrón de crecimiento, aumento en el tamaño de las semillas y/o frutos, entre otros (Ladizinsky, 1998 y Hughes *et al.*, 2007;). Por ejemplo, en la investigación de Jiménez-Rojas *et al.* (2019), se utilizaron marcadores morfológicos basados en caracteres cualitativos (color de exocarpio y mesocarpio, forma del fruto, sabor de la pulpa) y cuantitativos (tamaño del fruto, peso del fruto, peso de la pulpa, número de semillas, pH, ° Brix) del fruto de huaya cultivada y silvestre. Con base en estos marcadores, los autores concluyeron que existen mínimas diferencias entre los frutos silvestres y cultivados de esta especie.

1.1.6.3. Marcadores moleculares

Actualmente, una de las principales estrategias para estudiar la diversidad y la estructura genética de las especies cultivadas y sus parientes silvestres es el uso de marcadores moleculares. Estos marcadores son biomoléculas de ADN que pueden incluir tanto genes conocidos como fragmentos de secuencias de función desconocida. Aunque los fragmentos de ADN con función desconocida no estén directamente asociados a rasgos genéticos específicos, pueden estar relacionados con la variación genética en los organismos, proporcionando información valiosa para la identificación y el análisis de características fenotípicas (Kordrostami y Rahimi, 2015). Los marcadores moleculares se pueden clasificar de acuerdo a la técnica en la que se basan en: Hibridación (RFLP) y PCR (RAPDs, ISSR, SSR, AFLPs) (Furano, 1999) y otras técnicas que incluyen secuenciación, PCR en tiempo real y microarrays, que son utilizados para la detección de SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) (Arif *et al.*, 2010).

Uno de los marcadores moleculares más empleados en el estudio de diversidad genética son los llamados microsatélites o SSR (Secuencias Simples Repetidas), marcadores de naturaleza codominante y unilocus que están constituidos por secuencias cortas de ADN (1-6 pares de bases nucleotídicas) repetidas en tándem que se encuentran esparcidos por todo el genoma y además de naturaleza neutral que reflejan variabilidad genética no adaptativa (Oliveira *et al.*, 2006) (Cuadro 1.1). Los SSR se utilizan extensamente y se han convertido en una herramienta poderosa para estudios ecológicos y evolutivos, así como para analizar la diversidad y las relaciones genéticas (Martínez-Castillo *et al.*, 2019) y su uso ha sido reportado en diversas especies domesticadas y sus parientes silvestres, tales como cultivos

anuales como el frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) (Angioi *et al.*, 2011), el maíz (*Zea mays* L.) (Senior *et al.*, 1998 y Matsuoka *et al.*, 2002), el girasol (*Helianthus annuus* L.) (Dehmer y Friedt, 1998), el trigo (*Triticum aestivum* L.) (Sud *et al.*, 2005) y la cebada (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*) (Bengtsson *et al.*, 2017). También, se han empleado en estudios de especies de ciclo largo como la uva (*Vitis vinifera* subsp. *sativa* L.) (Grassi *et al.*, 2003), la yuca (*Manihot esculenta* subsp. *esculenta* Crantz) (Olsen y Schaal, 2001) y el mamey [*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn] (Arias *et al.*, 2015; Martínez-Castillo *et al.*, 2019); entre muchas otras.

Cuadro 1.1. Características generales de los SSR (Srivastava *et al.*, 2023).

Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
1. Multialélicos	1. Alto costo (si es necesario desarrollar los iniciadores)	1. Identificación de individuos entre cultivares
2. Altamente polimórficos	2. Requiere conocimiento previo del genoma:	2. Determinación de pureza híbrida
3. Herencia Mendeliana (Codominantes)	+ Inicialmente lentos	3. Reconstrucción de genealogías
4. Muy alta reproducibilidad	+ Inicialmente Costosos	4. Construcción de mapas genéticos.
5. Cantidades muy pequeñas de ADN	3. Alta tasa de mutación (pudiendo afectar la reproducibilidad en estudios genealógicos)	5. Estudios de diversidad genética
6. Interpretación sencillas de los resultados		6. Estudios evolutivos
7. Visualización en geles de agarosa y acrilamida		7. Pruebas de paternidad y maternidad
8. Sencillos de montar, rápidos y eficientes		8. Mapas de ligamiento (cartografía genética)
9. Número enorme de <i>Loci</i>		

Cuando no existen marcadores moleculares de naturaleza codominante, como los SSR, desarrollados específicamente para las especies de interés, una estrategia es usar marcadores de naturaleza dominante y multilocus como los ISSR (Inter-simple sequence repeats, por sus siglas en Inglés) (Cuadro 1.2). Esta técnica analiza diferencias en las secuencias de ADN que se encuentran entre los microsatélites empleando iniciadores compuestos por 15 a 20 nucleótidos, con nucleótidos adicionales en los extremos 3' o 5' del ADN, que funcionan como puntos de anclaje; son marcadores semiarbitrarios, por lo que se amplifican a partir de un iniciador complementario a la región microsatélite (Srivastava *et al.*, 2023).

Cuadro 1.2. Características generales de los ISSR (Sarwat, 2012).

Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
<ol style="list-style-type: none">1. No necesitan conocimiento previo de las secuencias de ADN.2. Pueden detectar variabilidad dentro de regiones únicas del genoma en múltiples lugares al mismo tiempo.3. Suelen revelar niveles importantes de diversidad genética.4. Dirigidos a secuencias específicas de microsatélites.5. Son especialmente eficaces para crear perfiles de ADN, especialmente en especies muy similares genéticamente	<ol style="list-style-type: none">1. Marcadores mayoritarios2. A veces se requiere realizar electroforesis en gel de poliacrilamida y usar tinción de plata para la detección.3. No se puede atribuir la ausencia de bandas a una homología genética común.4. Algunos aspectos de la diversidad genética no se pueden analizar con estos marcadores.	<ol style="list-style-type: none">1. Identifica cultivares estrechamente relacionados2. En procesos evolutivos biológicos3. Biogeografía4. Diversidad genética5. Mapeo genético

1.1.7. Modelo de estudio: Kanisté

El kanisté [*Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni] pertenece a la familia Sapotaceae. Este se distribuye de manera natural desde México hasta Panamá, en vegetación de bosque alto perennifolio y bosque medio subcaducifolio. En México, se puede encontrar en los estados de Campeche, Morelos, Puebla, Oaxaca, Michoacán, Quintana Roo, San Luis Potosí, Veracruz y Yucatán (Pennington y Sarukhan, 2005). Los individuos cultivados (aquellos que reciben algún tipo de manejo humano) se encuentran principalmente en traspatios de comunidades rurales de México y Centro América; aunque como cultivo ya se ha extendido hasta los Estados Unidos de América, India, Brasil, Australia, Camboya, Vietnam, Indonesia, Sri Lanka, Nigeria y Filipinas (León, 1987).

Las flores de kanisté son hermafroditas (Figura 1.1), aspecto que favorece la autofertilización (Morton, 1987), aunque se cree que es una especie alógama de polinización cruzada (Azurdia, 2006). No se conocen sus polinizadores, pero al ser una especie melífera, las abejas podrían desempeñar ese papel. Los dispersores de semilla del kanisté son el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*), el tepezcuintle (*Cuniculus paca*), el mono aullador (*Alouata pigra*), el murciélago zapotero (*Artibeus jamaicensis*), las ardillas (*Sciurus yucatanensis*) y diversas aves (Duarte-Ubaldo *et al.*, 2020). Los meses de floración de la especie es de diciembre a junio y fructifica de mayo a octubre (Rodríguez *et al.*, 2009).

La parte principal que se usa del kanisté es el fruto, consumido principalmente en fresco; además de sabroso y dulce, un estudio sobre análisis nutricionales y biológicos de kanisté realizados en Bangladesh, comprobó que este contiene cantidades significativas de vitamina

A (51.15 mg/100g) y vitamina C (106.42 mg/100g); además que su cascara contiene 7.46% de grasa, 4.15% de fibra dietética, 41.54% de carbohidratos (Nur *et al.*, 2022); la pulpa es rica en carotenoides y taninos (Tran *et al.*, 2021). Los extractos de hojas del árbol y semillas han demostrado tener actividades analgésicas, antimicrobianas, antiinflamatorias, gastroprotectivas y antidiabéticas entre otras (Elsayed *et al.* 2016, ChanZapata *et al.* 2018, Pai y Shenoy 2021).

Aun cuando no existen estudios formales, la PY, como parte de las Tierras Bajas Mayas, podría ser el centro de domesticación del kanisté, ya que: 1) en esta región existe una larga historia de uso de esta especie por la cultura maya, como lo refleja su mención en el libro sagrado del "Popol Vuh" (Tedlock, 1996); 2) en la PY podemos encontrar poblaciones silvestres en las selvas de la región e individuos cultivados en comunidades mayas, estos últimos con frutos que muestran una notable variación morfológica en cuanto a forma y tamaño (Pennington y Sarukhan, 2005), variación que podría ser el resultado de su selección por los habitantes de la región por más de 2000 años.

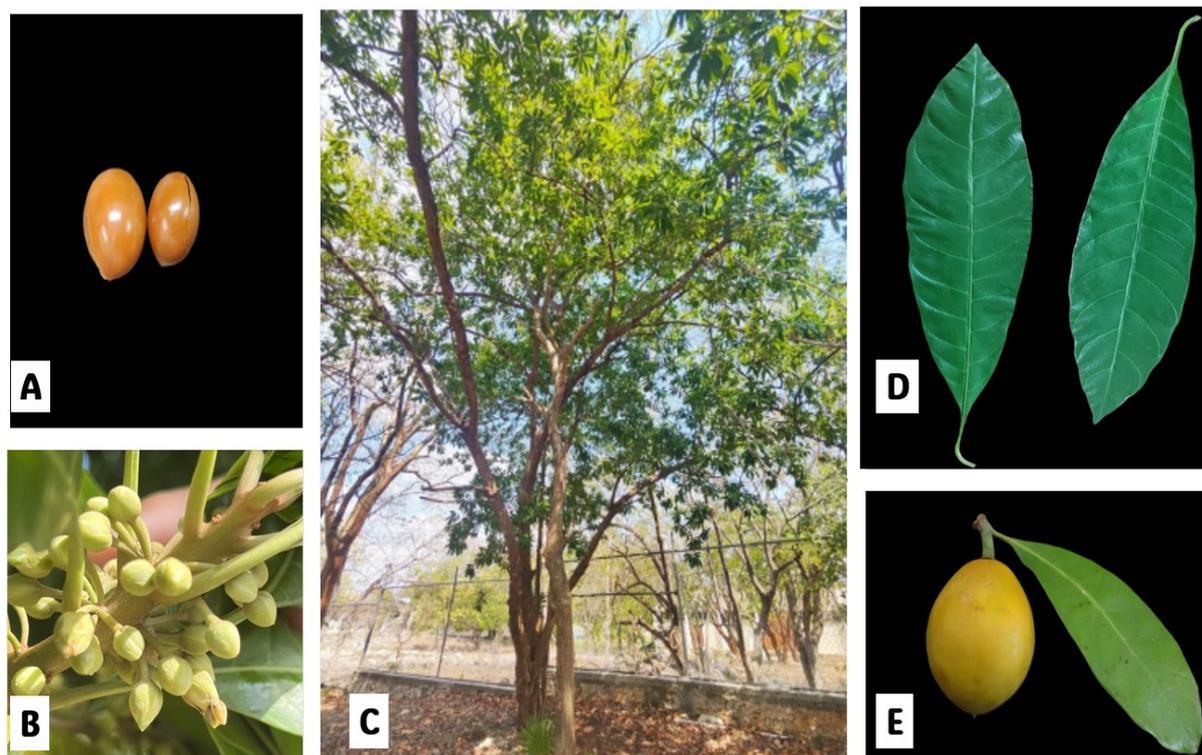


Figura 1.1. Características morfológicas de *P. campechiana*. **A.** semillas; **B.** flores; **C.** árbol; **D.** hojas; **E.** fruto. Fotografías: A, D y E) Janine Jiménez; B) Néstor Eduardo Raigoza Flores; C) Castillo-Burguete *et al.* (2024).

1.1.7.1. Estudio de la diversidad morfológica y genética del kanisté

Existen muy pocos estudios sobre la diversidad morfológica y genética del kanisté:

Benavides (1998), realizó una prospección y caracterización preliminar in situ de cinco Sapotáceas en Nicaragua: chicozapote (*Manilkara sapota* L.), caimito (*Chrysophyllum cainito* L.), zapote rojo (*Pouteria sapota*), zapote verde (*Pouteria viridis* Pittier) y zapote mico o kanisté (*Pouteria campechiana*). Este autor reportó que, generalmente, estas especies se encuentran en los huertos familiares y muy poco como plantaciones comerciales. También señaló que no se ha explorado su mercado internacional, mencionando que las semillas de las sapotaceas tienden a fermentarse después de su maduración, por lo que frecuentemente tienden a germinar dentro del fruto; además, que la cáscara delgada del fruto dificulta su almacenamiento y transporte (manejo postcosecha). En el caso del kanisté, Benavides (1998) muestreó 46 individuos y reportó frutos con exocarpio y mesocarpio amarillo-naranja, diversas formas (predominando el alargado, pero también observando ovalado, redondo, redondo achatado); peso del fruto entre 17.8 y 441.2 g, longitud del fruto entre 3.3 y 10.9 cm, el diámetro del fruto entre 2.8 y 9 cm, y número de semillas por fruto de 1 a 4. Este autor reportó que, de las especies estudiadas, el kanisté es la que presenta menor consumo en el mercado debido a que son muy dulces y empalagosos.

Quesada (2003), investigó la distribución y variabilidad del kanisté en Costa Rica, caracterizando morfológicamente 36 individuos colectados en patios de las casas y áreas cercanas. Este autor encontró una baja variabilidad en el material analizado; se identificaron dos formas predominantes de fruto: redondas-ovaladas y fusiformes; tanto la cáscara como la pulpa del fruto presentaron tonalidades amarillo oscuro y anaranjado; el promedio de peso de los frutos fue de 124.8 g, mientras que la longitud promedio alcanzó los 7.1 cm; el número de semillas osciló entre 1 y 4 por fruto. Quesada (2003) concluyó que el kanisté es una fruta poco conocida y subutilizada en Costa Rica, principalmente debido a la falta de conocimiento sobre su potencial, tanto como fruta fresca o procesada.

Para la península de Yucatán, la única investigación sobre kanisté fue un intento de tesis de pregrado dirigida por el Dr. Rafael Durán (Datos no publicados). Como parte de esa actividad, se realizó una caracterización morfológica de tres especies frutales nativas de la PY del género *Pouteria* Aubl. Una de estas especies fue el kanisté, de la cual se evaluó la variabilidad morfológica de 23 individuos silvestres y cultivados utilizando marcadores morfológicos. El documento resultante reportó, para los frutos silvestres: color del exocarpio fue amarillo-verdoso, un peso oscilando entre 6 y 17 g, el diámetro y longitud del fruto fue de 2 cm, en la base de los frutos sobresalían una punta delgada (posiblemente frutos de forma

ovalada), número de semillas de 2 a 4, peso de las semillas entre 1.3 y 2.3 g, grados Brix de 35 a 45. Por su parte, los frutos cultivados presentaron: color del exocarpio amarillo, pesos entre 48.84 a 243 g, la longitud osciló entre 4 y 8 cm, diámetro del fruto 5 cm, las semillas de 1 a 6, peso de la semilla de 0.5 a 7.36 g, grados Brix de 25 a 30; las formas de fruto que predominaron fueron alargadas, globosas y redondas. Estos resultados mostraron la existencia de diferencias claras entre las características de los frutos silvestres y cultivados presentes en la PY.

Recientemente, Granados-Vega *et al.* (2023) caracterizaron frutos, semillas, hojas de kanisté en tres zonas (un árbol por zona) de huertos familiares en Morelos, México, con diferentes altitudes: 1210 msnm, 1059 msnm (ambas en Yautepec) y 1350 msnm (en Jiutepec); el clima predominante en las tres zonas fue subhúmedo. Los valores promedio obtenidos de las tres zonas fueron: peso del fruto (146 – 261g), peso de pulpa (126.76 - 198.88g), diámetro polar del fruto (9.07 - 11.03cm), diámetro ecuatorial del fruto (5.49 - 7.29), y sólidos solubles (26.12 - 33.18). La zona 2, con mayor altitud y precipitación, presentó valores mayores en las mediciones de las variables: peso del fruto, peso de la pulpa, diámetro polar del fruto, diámetro ecuatorial del fruto y sólidos solubles; además las hojas eran más robustas, estrechas y alargadas.

Al día de hoy, el único estudio publicado sobre diversidad genética del kanisté empleando en conjunto marcadores moleculares (ISSR y RAPDs) y morfológicos, es el de Duy (2022). Este autor evaluó la diversidad genética de 30 individuos colectados en 30 huertos de cinco distritos de la provincia Tra Vinh, Vietnam. Al analizar 50 características morfológicas del árbol, hojas, flores y frutos encontraron que los frutos tienen diversas formas (redondas, ovaladas, ovoide, de corazón, rectangular/oblonga), presentan una maduración asincrónica, pulpa de color naranja, frutos maduros de color amarillo o amarillo verdoso. Los rasgos del fruto que tuvieron una mayor variación fenotípica (de acuerdo con el Índice de Shannon) fueron número de semillas por fruto ($I = 0.94$), peso del fruto ($I = 0.93$) y diámetro del fruto ($I = 0.33$). Por su parte, tanto los marcadores ISSR (4 cebadores: 25 loci y un %P = 100) y RAPD (4 cebadores: 55 loci y un %P = 100) indicaron que las muestras de kanisté evaluadas presentaron alta diversidad genética.

1.2. JUSTIFICACIÓN

El kanisté es una especie frutal perenne nativa del neotrópico que ha sido utilizada como alimento por la cultura maya durante más de 2000 años. A pesar de su importancia histórica, cultural y nutricional, con el paso del tiempo el kanisté ha sido olvidado y en la actualidad es una especie subutilizada, situación que pone en riesgo su conservación y amenaza la pérdida de su diversidad genética en la PY, región que podría ser su posible centro de domesticación, lo que hace que esta región sea crucial para su estudio. El estudio de la diversidad genética es esencial para la conservación, utilización y búsqueda de alternativas para contrarrestar la degradación del recurso genético en sus áreas de origen. Por otro lado, la diversidad morfológica del kanisté es igualmente relevante, ya que permite identificar variaciones en los frutos, como el tamaño, la forma, el color y la textura, que pueden ser aprovechadas comercialmente; esta variación morfológica también proporciona información valiosa sobre la adaptación de la especie a diferentes entornos, lo que es fundamental para promover su cultivo y consumo en la región. En el caso del kanisté, siendo la PY su centro de domesticación, esto incrementaría más la necesidad de realizar estudios que aporten información sobre su diversidad genética y morfológica que no solo permitirá obtener información clave para su conservación y aprovechamiento, sino que también que contribuya al rescate de una especie con un fuerte valor cultural. Esta investigación proporciona una base científica para la implementación de estrategias de conservación in situ y ex situ, así como para el desarrollo de programas de mejoramiento genético que permitan su revalorización como recurso alimentario en la región y su inserción en mercados comerciales.

1.3. HIPÓTESIS

1. En la península de Yucatán, México, existen poblaciones de kanisté presentes en vegetación natural de bosque alto perennifolio y bosque medio caducifolio. También, se pueden encontrar árboles en diferentes hábitats antropogénicos de la región, pero su presencia en estos últimos ambientes ha ido disminuyendo alarmantemente en las últimas décadas, aspecto que podría resultar en una erosión genética de la especie en estos ambientes. Considerando lo anterior, en el presente estudio se espera encontrar que los individuos colectados en vegetación natural presenten niveles mayores de diversidad genética en comparación con los individuos colectados en lugares antropogénicos.

2. La península de Yucatán forma parte del área de distribución natural del kanisté y podría ser parte de su posible centro de domesticación ya que los pobladores de esta región llevan haciendo un manejo y selección de sus frutos por más de 2000 años. Considerando esto, en el presente estudio se espera encontrar una gran variación morfológica en los frutos de kanisté en esta región de México.

1.4. OBJETIVO GENERAL

Analizar la diversidad genética y morfológica del kanisté [(*Pouteria campechiana* Kunth) Baehni] en la península de Yucatán, México, usando enfoques genéticos y morfológicos.

1.5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar la diversidad genética de 40 individuos de kanisté colectados en vegetación natural y en hábitats antropogénicos de la península de Yucatán, México.
2. Caracterizar morfológicamente los frutos de 15 árboles de kanisté colectados en la península de Yucatán, México.

1.6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

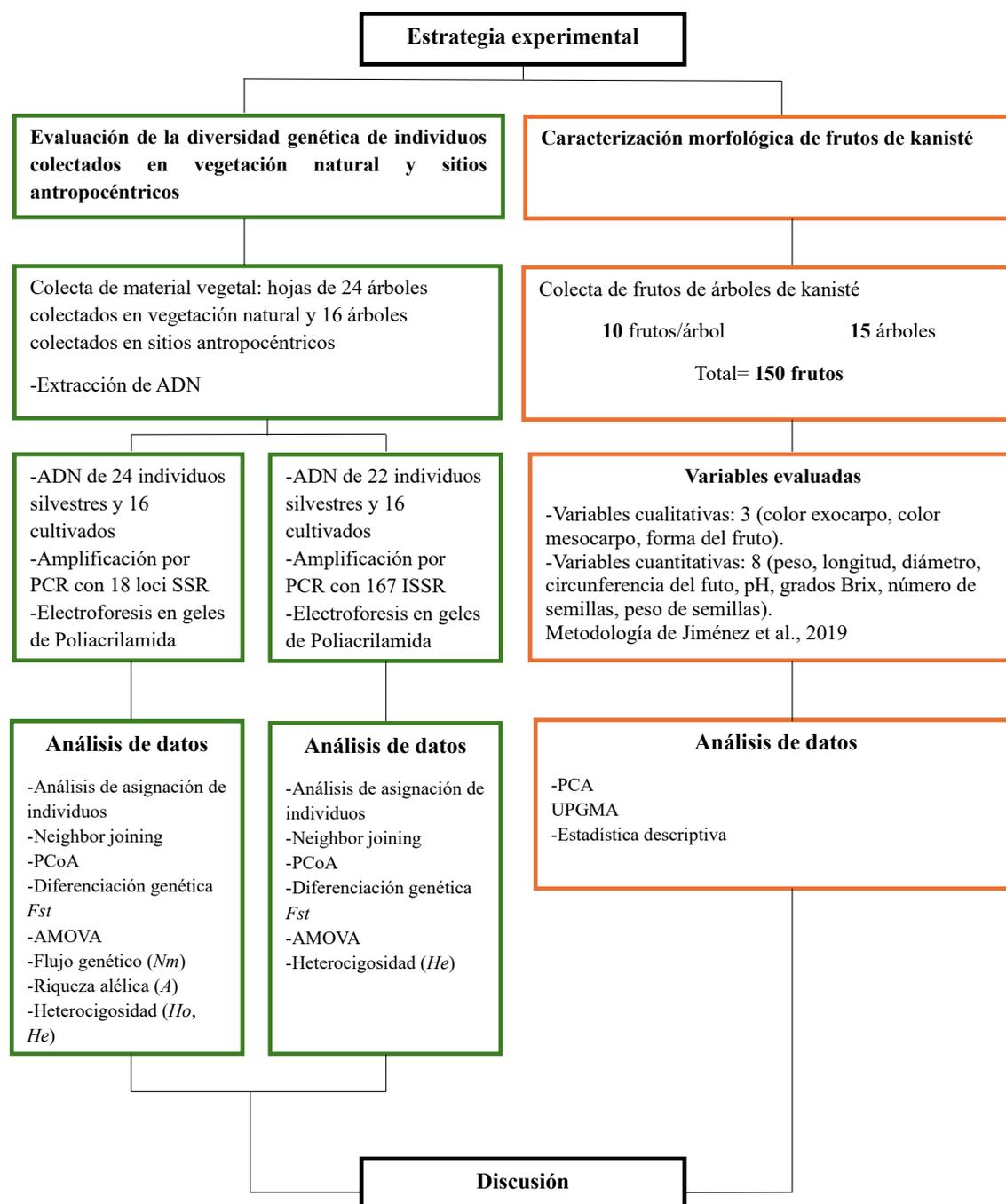


Figura 1.2. Estrategia experimental del estudio

CAPÍTULO II

2.1. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.1. Área de estudio y características de la vegetación de la península de Yucatán

El estudio se realizó en la península de Yucatán, México. La PY se localiza en el sureste de México, es una región de escaso relieve con altitudes menores a los 400 msnm; el clima predominante es subhúmedo con una precipitación anual alrededor de 1500 mm, temperaturas promedio superiores a 18 °C y humedad relativa mayor al 70% (Orellana *et al.*, 1999). La vegetación de la PY ha sido descrita por Miranda (1958), Rzedowski (1978) y Flores y Espejel (1994). Estos autores reportan que la mayor extensión de la PY está cubierta por selvas como la baja caducifolia, mediana subcaducifolia y mediana subperennifolia; además, hay presencia de bosque de pino, manglar, matorral de dunas costeras, tular y vegetación halófila. En Yucatán predominan las selvas bajas caducifolia, baja caducifolia espinosa y mediana subcaducifolia; en Campeche, la vegetación incluye selva mediana subcaducifolia, selva mediana subperennifolia, selva alta perennifolia, selva baja inundable, sabanas, petenes y manglares; en Quintana Roo, predominan la selva mediana subperennifolia y los manglares.

Para este estudio, se colectó material vegetal de árboles de kanisté en diferentes tipos de hábitats de la PY que fueron desde vegetación natural hasta sitios antropogénicos (huertos familiares en comunidades mayas, así como en camellones, escuelas y jardines botánicos de ciudades de la región). Para fines prácticos, a continuación, la metodología se presenta tomando en cuenta los dos objetivos específicos de este trabajo.

2.2. OBJETIVO 1. Evaluar la diversidad genética de 40 individuos de kanisté de la península de Yucatán, México.

2.2.1. Colecta de material vegetal

Cuando se trabaja con especies cultivadas y/o domesticadas, es común clasificar a los individuos por su naturaleza biológica en silvestres y cultivados/domesticados; sin embargo, para este estudio se decidió clasificarlos con base en el tipo de hábitats donde estos fueron colectados: vegetación natural y hábitats antropogénicos. Tal clasificación se llevó así ya que se desconoce la naturaleza biológica de los individuos colectados en hábitats antropogénicos y, en varios casos, el lugar exacto de donde estos fueron tomados. Se colectaron hojas tiernas

CAPÍTULO II

de 40 árboles: 18 individuos colectados en vegetación natural y 22 individuos colectados en hábitats antropogénicos (Cuadro 2.1, Figura 2.1). Este material vegetal fue mantenido en un ultracongelador a -80 °C en el laboratorio de Marcadores Moleculares del Centro de Investigación Científica de Yucatán para su posterior procesamiento.

Cuadro 2.1. Información de 40 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, utilizados en el presente estudio.

Clave Individuo	Estado	Localidad	Sitio de colecta	Latitud (N)	Longitud (O)
1	Yucatán	Mérida	JBR-RO	18° 6.276'	-88° 54.440'
2	Yucatán	Mérida	JBR-RO	18° 6.276'	-88° 54.440'
3	Yucatán	Mérida	JBR-RO	18° 6.276'	-88° 54.440'
4	Yucatán	Mérida	JBR-RO	18° 6.276'	-88° 54.440'
5	Yucatán	Mérida	JBR-RO	18° 6.276'	-88° 54.440'
6	Yucatán	Mérida	JBR-RO	18° 6.276'	-88° 54.440'
7	Yucatán	Kimbilá	Traspatio	20° 55.948'	-89° 7.387'
8	Yucatán	Mérida	Traspatio	20° 58.748'	-89° 36.562'
9	Yucatán	Tizimín	Traspatio	21° 8.177'	-88° 9.142'
10	Yucatán	Mérida	JBR-RO	21° 1.678'	-89° 38.410'
11	Yucatán	Mérida	Traspatio	21° 1.697'	-89° 39.112'
12	Yucatán	Holcá	Traspatio	20° 45.302'	-88° 55.607'
13	Yucatán	Holcá	Traspatio	20° 45.588'	-88° 55.480'
14	Yucatán	Mérida	Traspatio	20° 59.954'	-89° 33.210'
15	Yucatán	Mérida	Traspatio	20° 58.381'	-89° 38.613'
16	Yucatán	Mérida	JBR-RO	21° 1.698'	-89° 38.382'
30	Yucatán	Mérida	Traspatio	21° 0.760'	-89° 37.327'
19	Yucatán	Mérida	JBR-RO	21° 1.713'	-89° 38.387'
17	Yucatán	Mérida	JBR-RO	21° 1.719'	-89° 38.387'
29	Yucatán	Cholul	Banqueta	20° 38.272'	-87° 38.274'
18	Yucatán	Tzucacab	Banqueta	20° 4.928'	-89° 6.130'
31	Yucatán	Holcá	Traspatio	20° 45.440'	-88° 55.783'
20	Quintana Roo	Solidaridad	Vegetación N.	20° 33.735'	-87° 9.969'
21	Quintana Roo	Othón	Vegetación N.	18° 11.668'	-89° 0.190'
22	Quintana Roo	Solidaridad	Vegetación N.	20° 33.458'	-87° 9.714'
23	Quintana Roo	Solidaridad	Vegetación N.	20° 33.735'	-87° 9.952'
24	Quintana Roo	Solidaridad	Vegetación N.	20° 33.833'	-87° 9.968'
25	Quintana Roo	Solidaridad	Vegetación N.	20° 33.732'	-87° 9.918'
26	Quintana Roo	Solidaridad	Vegetación N.	20° 33.648'	-87° 9.969'
27	Quintana Roo	Solidaridad	Vegetación N.	20° 38.257'	-87° 38.212'
28	Quintana Roo	Solidaridad	Vegetación N.	20° 38.273'	-87° 38.212'
32	Campeche	Calakmul	Vegetación N.	18° 3.199'	-89° 25.517'
33	Campeche	Calakmul	Vegetación N.	18° 24.449'	-89° 26.366'

34	Campeche	Escárcega	Vegetación N.	18° 32.533'	-89° 55.999'
35	Campeche	Calakmul	Vegetación N.	18° 28.434'	-89° 9.034'
36	Quintana Roo	Othón	Vegetación N.	18° 24.634'	-89° 0.567'
37	Campeche	Campeche	Vegetación N.	19° 50.030'	-90° 32.069'
38	Campeche	Calakmul	Vegetación N.	18° 29.150'	-89° 15.882'
40	Campeche	Calakmul	Vegetación N.	18° 32.533'	-89° 56.467'
41	Campeche	Calakmul	Vegetación N.	18° 31.967'	-89° 40.666'

JBR-RO, Jardín Botánico "Roger Orellana" CICY. **Nota:** El individuo 39 fue eliminado del estudio.

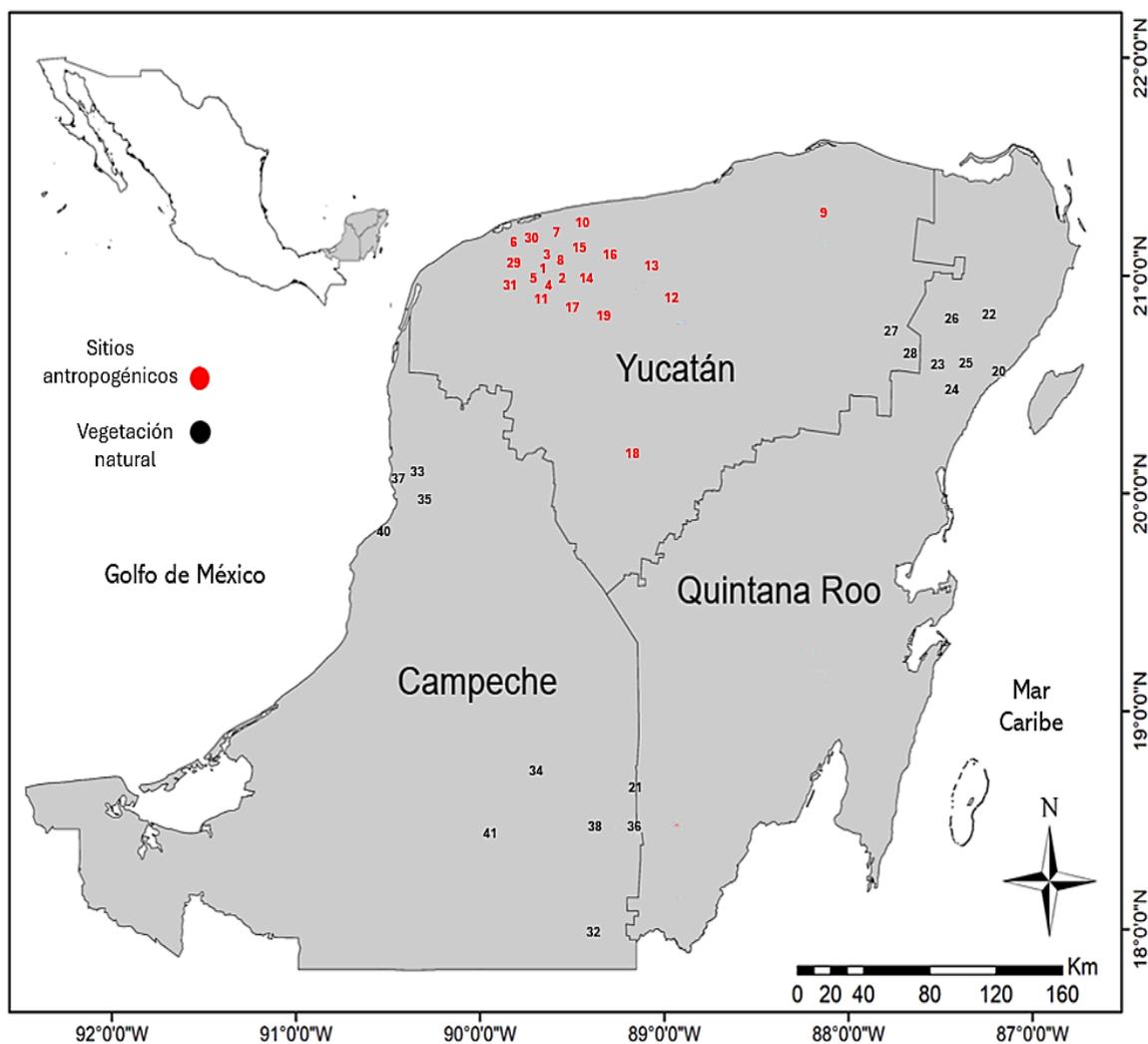


Figura 2.1. Sitios de colecta de 40 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) en la península de Yucatán, México.

2.2.2. Extracción de ADN y marcadores moleculares

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó utilizando el kit QIAGEN DNeasy Plant Mini, siguiendo las instrucciones del fabricante (Anexo 1). La calidad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%, teñidos con 1.5 µL bromuro de Etidio (10 mg / mL), en una solución amortiguadora TBE 0.5 X. La electroforesis se realizó con el equipo OWL thermoscientific 02 con una fuente poder Bio-Rad-PowerPac 300, a una carga de 85 volts durante 40 minutos. La cuantificación del ADN se realizó utilizando Qubit™ 4 Fluorómetro Invitrogen. Los geles de agarosa se observaron en un transiluminador de luz UV (Transiluminador UV, Dinco & Rhenium Industries).

2.2.3. Marcadores SSR

Se probaron 28 loci de SSRs desarrollados para mamey (Arias *et al.*, 2015) y se seleccionaron los 18 loci con la mejor amplificación y nivel de polimorfismo (Cuadro 2.2). La amplificación de los SSR se llevó a cabo utilizando el método de PCR con un volumen final de 20 µl de reacción, a la cual se le adicionaron los componentes del Cuadro 2.3. La técnica de PCR se realizó bajo las siguientes condiciones: 4 minutos a 94 °C para una desnaturalización inicial, seguido por 35 ciclos consistentes de 2 minutos a 94 °C de desnaturalización, 1 minuto a 57 a 60 °C (dependiendo de cada loci) de alineación y 1 minuto a 72 °C de extensión, y 5 minutos a 72 °C para una extensión final. Al producto de PCR se le adicionó 5 µl de formamida compuesta de (0.45% de azul de y 0.25% de xileno-cianol) y se desnaturalizó en un termociclador Veriti 96 WellThermal Cyclor (Applied Biosystems, Foster City, USA). Se cargaron 5 µl de este producto de reacción en geles de poliacrilamida al 5% (w/v; 19:1 acrilamida-bisacrilamida) con 5 M de urea y buffer TBE continuo 0.5 X a 40-W de poder os constante con una duración promedio de 1:50 horas, usando un secuenciador manual (SQ3 sequencer, Hoeffer Scientific Instruments, S. Francisco, CA). Los fragmentos obtenidos fueron visualizados en un transiluminador de luz blanca, con la técnica de tinción con plata (AgNO₃) (Christensen *et al.*, 1999) (Anexo 2) y su tamaño fue determinado visualmente usando como referencia un marcador de 10 pares de bases (Invitrogen. Life technologies, Brasil).

Cuadro 2.2. Microsatélites elaborados para *Pouteria sapota*, seleccionados para el estudio de la diversidad genética del kanisté (*Pouteria campechiana*).

Código	5'-3'	Secuencia	TM	Tamaño de fragmento (bp)
02670_a	Forward	AGGGTTCTTATGACCTTTGCATTC	59°	134-160
	Reverse	TGGACAGATGGATGTTTCTATGTATG		
00280_a	Forward	TTCGAGTTTCTCACTTTGGTTTCC	59°	156-320
	Reverse	AGTCGACTCTGTCTGAATTGATGC		
00588_a	Forward	CTCGGTAAAACCTCGGCTCAAATAC	60°	186-180
	Reverse	CTGACGAGTTCCTCCCTCCTC		
01840_b	Forward	ACTTTCATCACCACCACTCCTCTC	58°	147-159
	Reverse	AGCTTTAAGCGTCCGTTACTTGTG		
00969_a	Forward	AACCCTTCATTCTCAAGATTTCC	58°	90-270
	Reverse	ACGTCAAATTGGCAGATTTTGG		
01026_a	Forward	GATTAACGTCCAAGAAGAACACCC	58°	86-230
	Reverse	CTAGAAGCAACAAAGGACCCAAC		
01078_a	Forward	GAACCACTTACCAAGCTCCAACCTC	58°	86-100
	Reverse	GGGTATTGGAAGTAAAGAAACCAGG		
01688_a	Forward	CTGCTGATGGTCTTGATTGTGAG	58°	150-168
	Reverse	AAGCTTCTCGAGGAGAACGGTAG		
02461_a	Forward	TTGTTGTGGAGTATGTTCCCAATG	58°	147-160
	Reverse	CATGCCACAGCTACATACAAATG		
02748_a	Forward	CAGAGGTCCAGAGGCTTAGACAAG	59°	98-110
	Reverse	CATCGCAAGAGGTAGAGATGAGTG		
02496_a	Forward	TGCAAAACTCTGTGCTAGTTGATTC	58°	128-294
	Reverse	ATATTCAAAGACTTTTGGGGAGGG		
01922_a	Forward	AGAATCACCACTTCTATCACCCCC	58°	160-185
	Reverse	CTAACACGACCTGCAATTACCCTC		
03313_a	Forward	TTCACTCTTTTCCGGAATCAAAAG	58°	125-183
	Reverse	GTTTTCAACCTCCAATGTCAATCC		
02013_a	Forward	AGCAATTTGATAAGCAGCAGAAGC	58°	125-160
	Reverse	CTGACAAAGAGGAGTTGGCAGAAG		
02269_a	Forward	CTCCACACCTCCGGTCATATTTAG	58°	100-116
	Reverse	GATTTTGGCAATCCATGAAAGTTG		
03976_a	Forward	TTCGTAATGATTTGATAGTAGTTGTTGG	58°	118-130
	Reverse	AAATTTCCCTATTGCAAGGAGATG		
03767_a	Forward	AAATTTTAAGCCTTCATGCTCACC	58°	185-250
	Reverse	TACCATGCCCACTTAATCCTCTTC		
01955_a	Forward	CTTCAGCAATGTCTCATGTTAGCC	58°	106-112
	Reverse	AGACACCCTTTCTTAGCCCCATAC		

TM, Temperatura de fusión; bp, pares de bases.

Cuadro 2.3. Mezcla de reacción para PCR para los SSR.

Componente	Concentración final	1X
H2O Estéril Destilada VP		13.6
ADN template 100 ng	5 ng	1.0
10X Buffer de PCR 10X	1.0X	2.0
50 mM MgCl ₂	2Mm	0.8
10 mM dNTPs	0.2Mm	0.4
Primer FW 10 µM	0.5µM	1.0
Primer RV 10 µM	0.5µM	1.0
Taq – polimerasa 5 U/µl	1U	0.2
Volumen final		20.0µl

2.2.4. Marcadores ISSR

Se probaron 16 iniciadores de ISSR evaluados por Martínez-Castillo (2005) y Villanueva (2017) y se seleccionaron los seis más polimórficos (Cuadro 2.4). La amplificación se realizó con la técnica de PCR en un volumen final de 20 µl de reacción (Cuadro 2.5). La amplificación se realizó en un termociclador Veriti 96 WellThermal Cycler (Applied Biosystems, Foster City, USA) bajo las siguientes condiciones: 7 min a 94 °C para una desnaturalización inicial, seguido por 35 ciclos consistentes de 30 segundos a 94 °C de desnaturalización, 45 segundos a 42-54 °C (dependiendo del iniciador) de alineación y 2 minutos a 72 °C de extensión, y 5 minutos a 72 °C para una extensión final. Posteriormente, a cada producto de PCR se le agregó 6 µl de azul de bromofenol. De esta mezcla, se cargaron 7 µl en geles no desnaturalizantes de bis-acrilamida al 6%, conteniendo 3 M urea y buffer TBE 1x (100 mM Tris-borato, pH 8.0, 2 mM EDTA) (Zietkiewicz, *et al.*, 1994). La electroforesis se realizó a 1000 Voltios por 4 horas en un secuenciador manual (SQ3 sequencer, Hoeffler Scientific Instruments, S. Francisco, CA). Los productos amplificados se visualizaron en un transiluminador de luz blanca, usando la técnica de tinción con plata (Christensen *et al.*, 1999) y su tamaño fue determinado visualmente usando como referencia un marcador de 123 pares de bases (Invitrogen. Life technologies, Brasil).

Cuadro 2.4. Características de los 6 iniciadores de ISSR utilizados en este estudio

Iniciador	Secuencia de iniciador	TM
P16	YR(GACA) 3RG	42
P17	(GACAC)2	40
P30	(GACAC)3AG	54
P32	(GACA) 3RG	54
T06	(AGAG)4T	51
M3	(GACA)4	50

Cuadro 2.5. Mezcla de reacción de PCR para los ISSR

Componente	Concentración final	1X
H2O Estéril Destilada VP		13.6
ADN template 100 ng	5 ng	1.0
10X Buffer de PCR 10X	1.0X	2.0
50 mM MgCl ₂	2mM	0.8
10 mM dNTPs	0.2mM	0.4
Primer FW 10 uM	0.4µM	2.0
Taq – polimerasa 5 U/ul	1U	0.2
Volumen final		20.0 µl

2.2.5. Análisis de los datos – SSR

2.2.5.1. Patrón de agrupamiento y estructura genética.

Para evaluar cómo está organizada la diversidad genética del kanisté en la península de Yucatán, se aplicaron tres métodos: 1) Prueba de asignación de individuos con el programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000). Se usó el modelo Admixture con frecuencias alélicas correlacionadas con un periodo de quema de 200 000 y 400 000 iteraciones para permitir que la cadena de Markov Monte Carlo adquiriera estacionalidad, se corrieron 10 simulaciones independientes para cada valor de K, evaluando desde K = 1 a K = 10. Los resultados generados se utilizaron para obtener la K óptima, siguiendo el método de Evanno (Evanno *et al.*, 2005) implementado en el programa CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015). Las gráficas finales se obtuvieron con base en la K óptima y en el número de individuos estudiados. Se consideraron a los individuos parte de un grupo genético a aquellos que presentaron al menos el 80% de ancestría de ese grupo. 2) Análisis de Coordenadas Principales (PCoA), se utilizó el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). 3) Análisis de Neighbor-Joining (Saitou

y Nei, 1987), usando 1000 bootstraps y el software DARwin v6 (Perrier y Jacquemoud-Collet, 2006). Una vez evaluado el patrón de agrupamiento, se determinó la estructura genética evaluando el índice F_{ST} , Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) y flujo genético histórico (Nm). Para estos análisis se utilizó el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). Los p-valores de F_{ST} se realizaron con 1 000 permutaciones en Arlequin 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2010).

2.2.5.2. Diversidad genética.

Se estimó la diversidad genética entre grupos de individuos y entre individuos de cada grupo encontrado. Los estimadores calculados fueron: número total de alelos por locus (N_a), heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e). Se utilizó el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012).

2.2.6. Análisis de datos - ISSR

Considerando la naturaleza dominante de los marcadores ISSR, los análisis no tomaron en cuenta el equilibrio Hardy-Weinberg (H-W) evitando así los problemas comunes asociados con este tipo de marcadores (Culley y Wolfe, 2001; Lynch y Milligan, 1994).

2.2.6.1. Patrón de agrupamiento y estructura genética.

Para evaluar cómo está organizada la diversidad genética de kanisté en la península de Yucatán, se aplicaron cuatro métodos: 1) Prueba de asignación de individuos con el programa STRUCTURE (Pritchard *et al.*, 2000), usando el modelo Admixture con frecuencias alélicas correlacionadas, con 200 000 iteraciones como periodo de quema y 400 000 iteraciones posteriores al periodo de quema, 10 simulaciones independientes se corrieron para cada valor de K examinado (K = 1 a K = 10). Los resultados generados se utilizaron para obtener la K óptima, siguiendo el método de Evanno (Evanno *et al.*, 2005) implementado en el programa CLUMPAK (Kopelman *et al.*, 2015). Las gráficas finales se obtuvieron con base en la K óptima y en el número de individuos estudiados. Se consideraron a los individuos parte de un grupo genético a aquellos que presentaron al menos el 80% de ancestría de ese grupo. 2) Análisis de Coordenadas Principales (PCoA), técnica que permite explorar los patrones de agrupamiento de las muestras en el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012). 3) Análisis con Neighbor-Joining (Saitou y Nei, 1987), usando 1 000 bootstraps y el software

DARwin v6 (Perrier y Jacquemoud-Collet, 2006). 4) Para conocer la estructura genética se aplicó un Análisis Molecular de Varianza (AMOVA) jerárquico, este análisis no asume equilibrio Hardy-Weinberg y es recomendado para marcadores dominantes por sobre el uso de F_{ST} . Para este análisis se usó el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012).

2.2.6.2. Diversidad genética.

Considerando que el uso de marcadores ISSR no permite la estimación directa de las frecuencias alélicas, en este trabajo solo se calcularon el porcentaje de loci polimórficos (% P), la Heterocigosidad esperada (H_E). Para el cálculo de estos estimadores se usó el programa GenAlex 6.5 (Peakall y Smouse, 2012).

2.3. OBJETIVO 2: Caracterizar morfológicamente los frutos de 15 árboles de kanisté colectados en la península de Yucatán, México.

2.3.1. Colecta de frutos

Los frutos fueron colectados de mayo 2023 a agosto 2024, durante el periodo de fructificación reportado para la especie (Rodríguez *et al.*, 2009). Se colectaron 150 frutos de kanisté provenientes de 15 árboles (10 frutos/árbol) ubicados en sitios antropogénicos (Cuadro 2.6, Figura 2.2). Aunque algunos de estos árboles presentaron características relacionadas a individuos presentes en vegetación natural, se decidió no considerarlos a priori como silvestres.

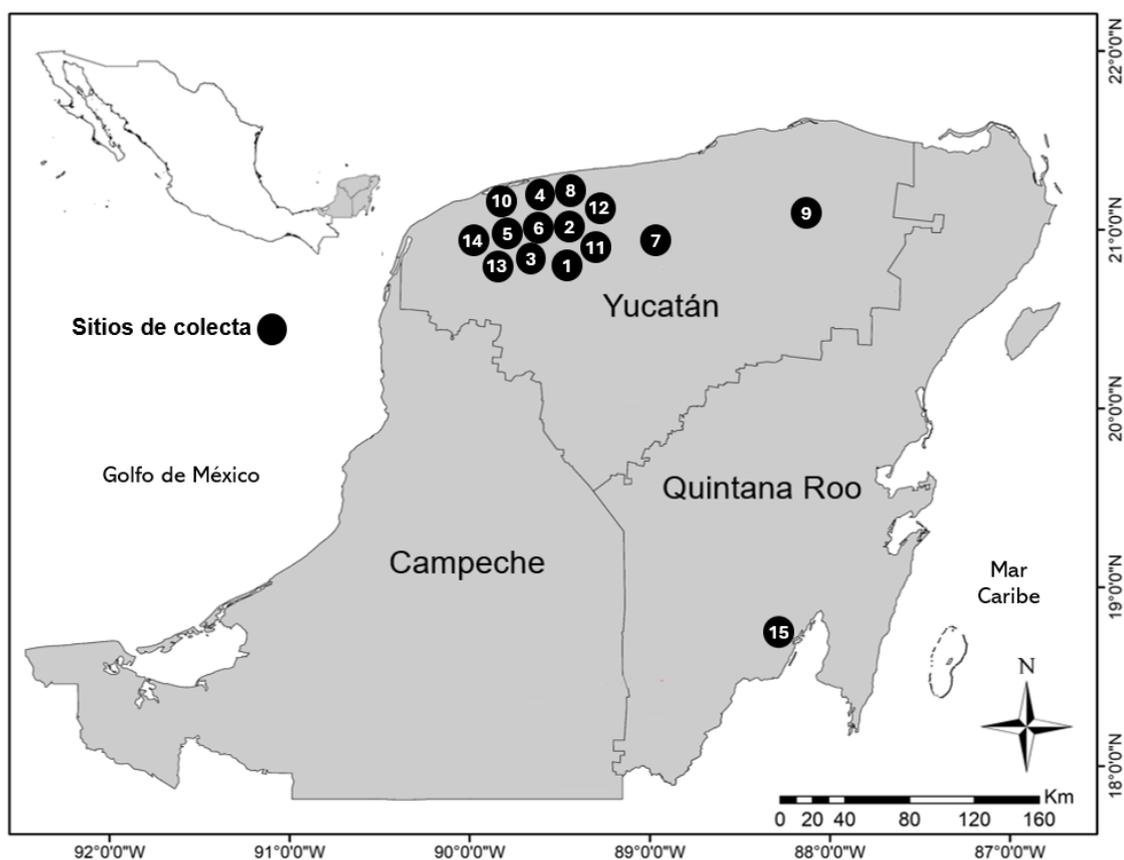


Figura 2.2. Sitios de colecta de frutos de 15 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) en sitios antropogénicos de la península de Yucatán, México

Cuadro 2.6. Ubicación geográfica de los sitios de colección de frutos de kanisté (*Pouteria campechiana*) evaluados en el presente trabajo.

Región bioclimática	Clasificación del suelo	Individuo	Estado	Localidad	Sitio de colecta	Altitud (msnm)	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)	Latitud (N)	Longitud (O)
Cálido húmedo con lluvias de verano	Leptosol	1	Yucatán	Mérida	JBR-RO	14	26.7	873.3	21° 1.719'	-89° 38.387'
		2	Yucatán	Mérida	JBR-RO	14	26.7	873.3	18° 6.276'	-88° 54.440'
		3	Yucatán	Mérida	JBR-RO	14	26.7	873.3	18° 6.276'	-88° 54.440'
		5	Yucatán	Mérida	JBR-RO	14	26.7	873.3	18° 6.276'	-88° 54.440'
		6	Yucatán	Mérida	Traspatio	14	26.7	873.3	20° 58.748'	-89° 36.562'
		10	Yucatán	Mérida	Traspatio	14	26.7	873.3	21° 0.760'	-89° 37.327'
		11	Yucatán	Mérida	Traspatio	14	26.7	873.3	21° 1.304'	-89° 37.579'
		13	Yucatán	Mérida	Traspatio	14	26.7	873.3	21° 2.488'	-89° 40.336'
		14	Yucatán	Mérida	Banqueta	14	26.7	873.3	20°57'7.0"	-89°35'44.0"
		8	Yucatán	Cholul	Banqueta	18	26	734	21°02'54.5"	-89°33'53.0"
Cálido subhúmedo intermedio	Cambisol	12	Yucatán	Conkal	Traspatio	8	26	900	21°8'30.0"	-89°31'19.9"
		4	Yucatán	Kimbilá	traspatio	30	26	870	20° 55.948'	-89° 7.387'
		7	Yucatán	Holcá	Traspatio	16	26	870	20° 45.302'	-88° 55.607'
		9	Yucatán	Tizimin	Traspatio	20	26	870	21° 8.177'	-88° 9.142'
	Litosol	15	Quintana Roo	Chetumal	Banqueta	10	26.7	1300	18°31'10.2"	-88°19'29.5"

JBR-RO, Jardín Botánico "Roger Orellana" CICY. **msnm**, metros sobre el nivel del mar. **°C**, grados centígrados. **mm**, milímetros. (Orellana *et al.*, 1999; Calvo-Irabién *et al.*, 2014; Bautista, 2021).

2.3.2. Caracteres morfológicos evaluados

Se evaluaron características cualitativas y cuantitativas de los frutos maduros (Cuadro 2.7), siguiendo la metodología de Jiménez-Rojas *et al.* (2019). Para lograr una estandarización del grado de madurez, los frutos fueron colectados cuando estos mostraban evidencias físicas de haber alcanzado la madurez fisiológica (cambio en el color del fruto), para posteriormente ser envueltos en papel periódico y almacenados a temperatura ambiente.

Cuadro 2.7. Variables cualitativas y cuantitativas evaluadas en frutos de kanisté colectados en la península de Yucatán, México.

Variables cualitativas	Variables cuantitativas
Color del exocarpio	Longitud del fruto
Color del mesocarpio	Diámetro del fruto
Forma del fruto	Circunferencia del fruto
	Peso del fruto
	Número de semillas /fruto
	Peso de las semillas
	pH del fruto
	Concentración de azúcares (° Brix)

Para la determinación de los colores del fruto se basó en la tabla de colores de Munsell (1975), para la longitud y diámetro se utilizó un Vernier digital (precisión de 0.1 mm), para la circunferencia del fruto se utilizó una cinta métrica (mm), para el peso se empleó una balanza digital (g) y analítica (precisión de 0.01 g), el pH del fruto se tomó con un potenciómetro Beckman 3.1 y los ° Brix con un refractómetro portátil Carl Zeiss Jena (° Brix, escala de 0 a 30).

2.3.3. Análisis de datos

Los datos fueron analizados con estadística descriptiva, medidas de resumen total de cada variable por árbol y análisis de correlación de las variables utilizando el programa estadístico INFOSTAT ver. 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2008). Para evaluar las relaciones morfológicas entre los frutos de los árboles de kanisté estudiados, se realizó un análisis de conglomerados con el método UPGMA y un análisis de componentes principales (PCA), ambos utilizando el programa de software PAST (Hammer *et al.*, 2001). Después de identificar los grupos principales formados por UPGMA y PCA, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey, utilizando el software estadístico INFOSTAT ver. 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2008).

CAPÍTULO III

3.1. RESULTADOS

Los resultados se presentan tomando en cuenta los dos objetivos específicos de este trabajo.

3.1.1. Objetivo: Evaluar la diversidad genética de 40 individuos de kanisté en la península de Yucatán, México.

3.1.1.1. SSR

Del conjunto de datos, ningún individuo mostró problemas de amplificación y el porcentaje de datos faltantes fue del 0%.

3.1.1.1.1. Patrón de agrupamiento y estructura genética

El método de Evanno indicó un valor óptimo de $K = 2$ (Delta $K = 1374.12$) (Figura 3.1). El análisis realizado con STRUCTURE ($K = 2$) agrupó diez de los 18 individuos colectados en vegetación natural en el grupo Rojo: cuatro colectados en Campeche (individuos 34, 37, 40 y 41) y seis en Quintana Roo (individuos 20, 22, 23, 24, 25 y 26); el resto de los individuos colectados en vegetación natural (8 individuos) se agruparon junto con todos los individuos colectados en sitios antropogénicos (22 individuos), conformando en conjunto al grupo Verde. El individuo 27 perteneciente al grupo Verde mostró una ancestría de 15% proveniente del grupo Rojo (Figura 3.2. y 3.3).

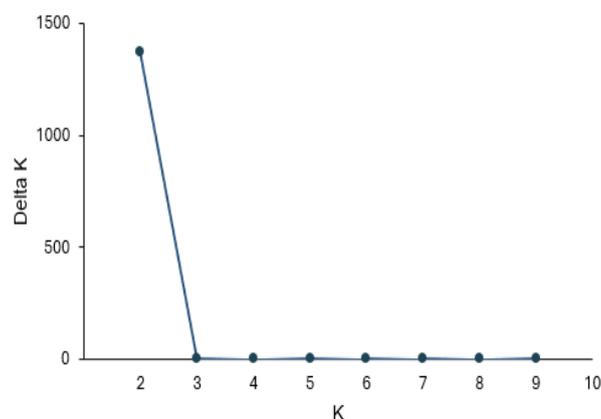


Figura 3.1. Gráfica de Delta K usando 40 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, y 18 loci de microsatélites.

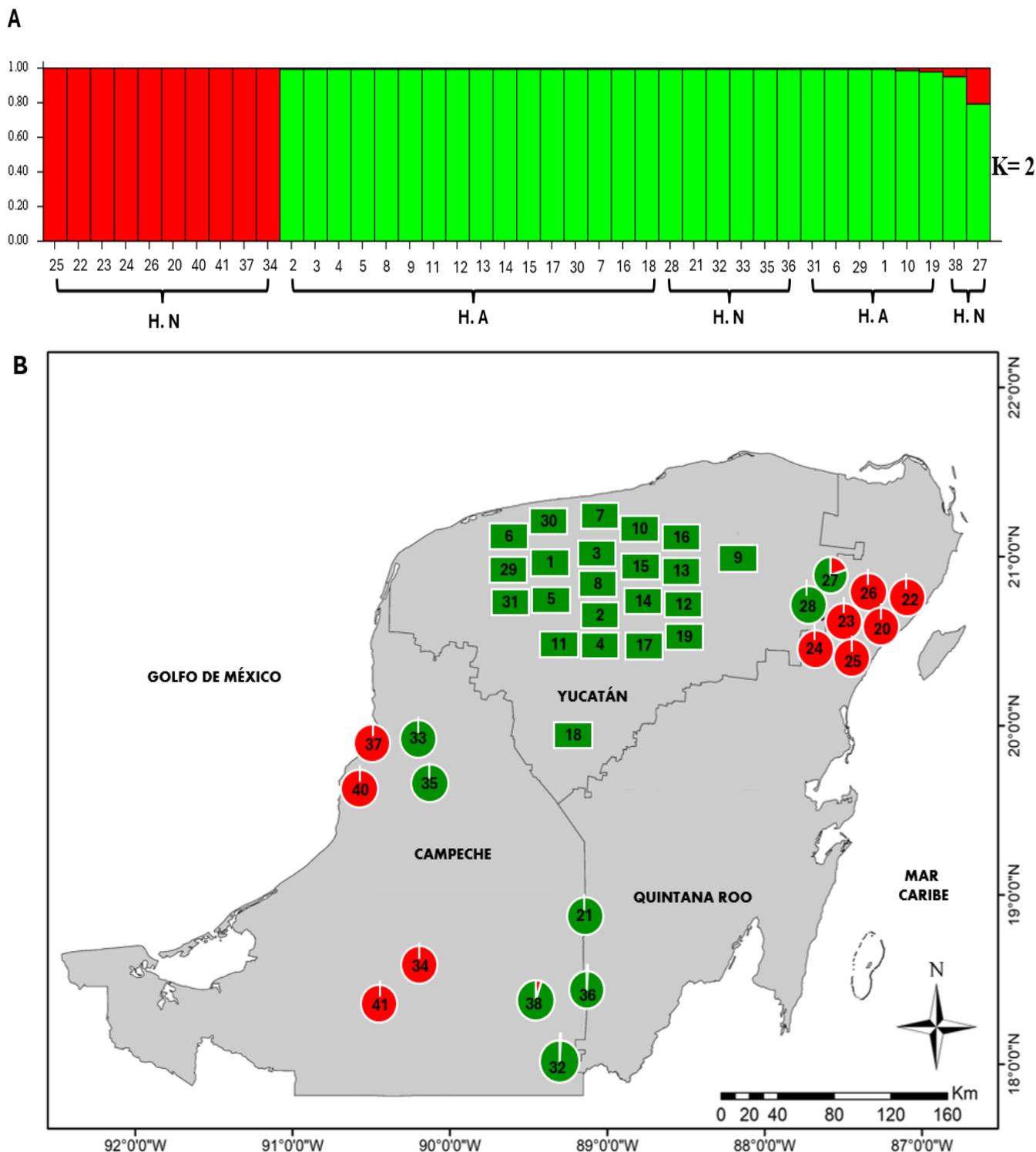


Figura 3.2. Coeficientes de ancestría para 40 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México, utilizando 18 loci de microsatélites. **A)** Prueba de asignación de individuos utilizando STRUCTURE $K = 2$; **B)** Distribución geográfica de los porcentajes de ancestría estimados con $K = 2$. Sitios de colecta: **H. N y círculos** = hábitat natural, **H. A y cuadrados** = hábitat antropogénico.

El Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) mostró la presencia de tres grupos principales (Figura 3.3); la primera y segunda coordenadas principales explicaron el 35.7% y 14.23% de la variación total, respectivamente. Por fines comparativos, los colores del PCoA corresponden a los grupos encontrados con STRUCTURE. Los dos grupos en color rojo abarcaron a 10 individuos colectados en vegetación natural, seis en Quintana Roo (agrupamiento ubicado en la parte inferior izquierda de la figura) y cuatro en Campeche (agrupamiento ubicado en la parte superior izquierda de la figura). Por su parte, el grupo verde agrupó a 8 individuos colectados en vegetación natural en Quintana Roo (2 individuos colectados en Othón, 2 individuos colectados en Solidaridad) y Campeche (4 individuos colectados en Calakmul) y a los 22 individuos colectados en sitios antropogénicos; aunque la mayoría de los primeros muestran una ubicación más alejada de los segundos.

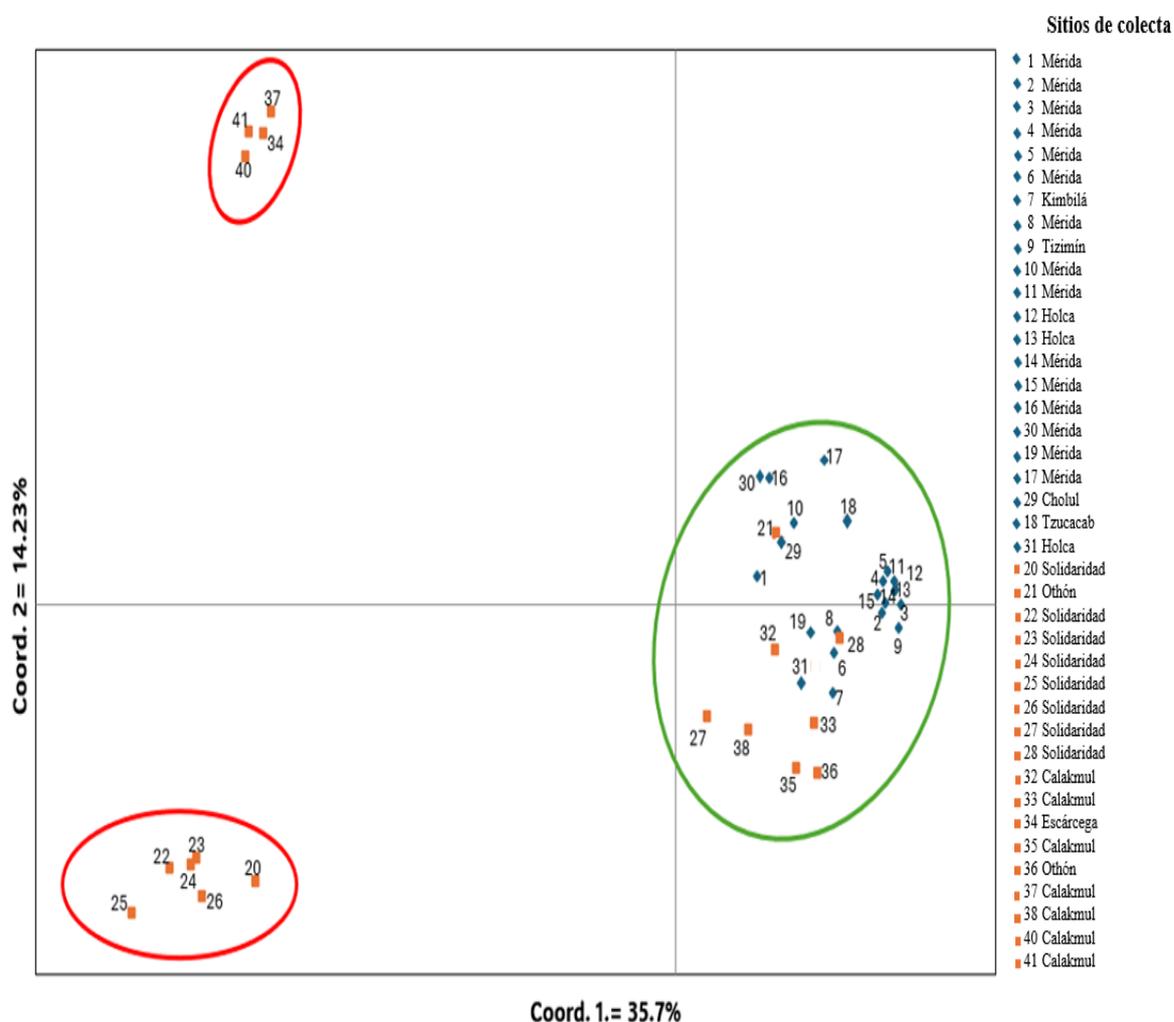


Figura 3.3. Análisis de Coordenadas Principales de 40 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, utilizando 18 loci de microsatélites. Los individuos encerrados en círculos rojos y círculo verde corresponden al patrón de agrupamiento encontrado con STRUCTURE $K = 2$ (Figura 3.2). ■ individuos colectados en vegetación natural, ◆ individuos colectados en sitios antropogénicos.

El análisis de Neighbor-Joining (N-J) mostró tres grupos principales (Figura 3.4). Con fines comparativos, en esta figura se manejaron los colores verde y rojo, correspondientes a los grupos observados con STRUCTURE. 1) el grupo uno contiene dos individuos colectados en sitios antropogénicos (30 y 29) y 16 individuos colectados en vegetación natural; dentro de este grupo se observa un subgrupo conteniendo los diez individuos colectados en vegetación natural (individuos en líneas color rojo) que corresponden al grupo Rojo de STRUCTURE. 2) El grupo dos contiene 14 individuos colectados en sitios antropogénicos. 3) El grupo tres comprende ocho individuos: dos colectados en vegetación natural y seis en sitios antropogénicos.

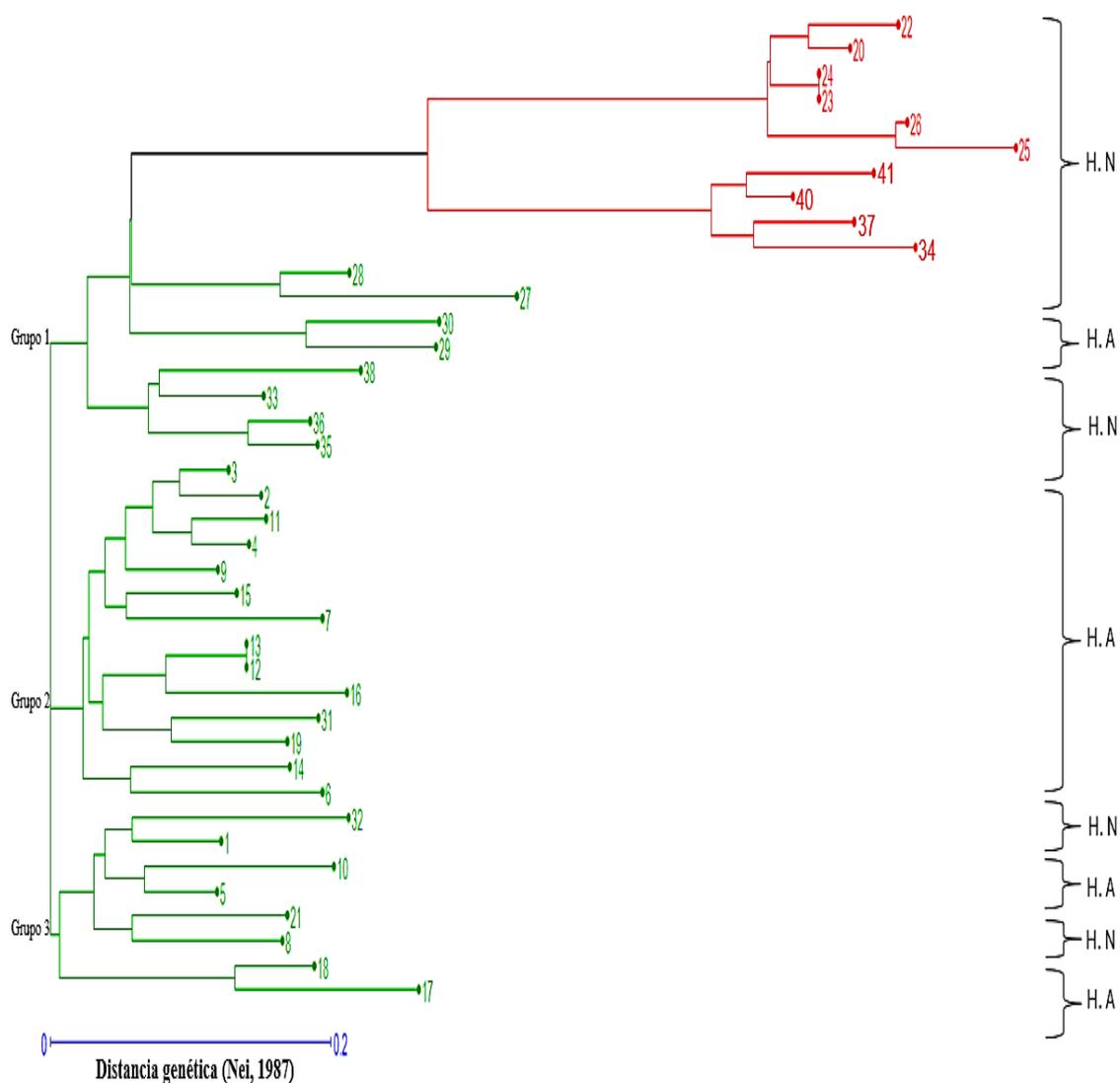


Figura 3.4. Análisis Neighbor-Joining de 40 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, utilizando 18 loci de microsatélites. Los colores rojo y verde son los utilizados en STRUCTURE K = 2 (Figura 3.2-A). Sitios de colecta: **H. N** = hábitat natural, **H. A** = hábitat antropogénico.

Aunque mostrando diferencias asociadas tal vez, a sus algoritmos, los patrones de agrupamiento generados por STRUCTURE, PCoA y N-J sugieren en conjunto la existencia de dos grupos genéticos principales a lo que a partir de ahora se los denominará como: 1) grupo Rojo, formado por diez individuos colectados en vegetación natural: 6 en Quintana Roo y 4 en Campeche. 2) grupo Verde, formado por 8 individuos colectados en vegetación natural y 22 individuos en sitios antropogénicos.

A nivel de especie, la diferenciación genética fue alta ($F_{ST} = 0.56$) y el flujo genético histórico fue bajo ($Nm = 0.20$). El AMOVA mostró que la mayor parte de la variación genética se encuentra entre los grupos genéticos observados (56% de la variación total); los p -valor mostraron diferencias significativas entre los grupos genéticos ($p = 0.0001$).

3.1.1.1.2. Diversidad genética

A nivel de especie, la riqueza alélica (N_a) fue 2.48, la heterocigosidad observada (H_o) fue 0.49, la heterocigosidad esperada (H_E) fue 0.52 y el coeficiente de endogamia (F) fue 0.0634 (Cuadro 3.1). A nivel de grupos genéticos, el grupo Rojo mostró niveles mayores de diversidad genética ($H_o = 0.52$ y $H_E = 0.53$) que el grupo Verde ($H_o = 0.48$, $H_E = 0.45$) (Cuadro 3.1). A nivel de sitios de colecta (sitios de vegetación natural Vs sitios antropogénicos), los valores de H_E que mostraron los individuos colectados en vegetación natural fue mayor ($H_E = 0.65$) a la encontrada en los individuos colectados en sitios antropogénicos ($H_E = 0.39$); los individuos colectados en ambos hábitats mostraron valores similares de heterocigosidad observada ($H_o = 0.50$ y $H_o = 0.49$, respectivamente) (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Diversidad genética de 40 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) en la península de Yucatán, utilizando 18 loci de microsatélites.

	N	$N_a \pm SD$	$H_o \pm SD$	$H_E \pm SD$	$F \pm SD$
Especie	40	2.48 \pm 0.164	0.499 \pm 0.051	0.520 \pm 0.031	0.0634 \pm 0.070
Grupos genéticos					
Rojo	10	3.00 \pm 0.18	0.525 \pm 0.065	0.534 \pm 0.042	-0.010 \pm 0.103
Verde	30	3.611 \pm 0.315	0.489 \pm 0.084	0.451 \pm 0.058	0.002 \pm 0.105
Hábitat					
Antropogénico	22	2.887 \pm 0.2677	0.490 \pm 0.089	0.395 \pm 0.058	-0.126 \pm 0.121
Vegetación natural	18	4.556 \pm 0.345	0.505 \pm 0.061	0.646 \pm 0.032	0.232 \pm 0.087

N, Número de individuos; **A**, Número promedio de alelos observados por locus; **H_o**, Heterocigosidad observada; **H_E**, Heterocigosidad esperada; **F**, Índice de fijación; **SD**, Desviación estándar.

3.1.1.2. ISSR

Del conjunto de datos, dos individuos (35 y 41) presentaron problemas de amplificación, por lo que fueron eliminados y para el análisis final se trabajaron con 38 individuos (22 individuos colectados en sitios antropogénicos y 16 individuos colectados en vegetación natural).

3.1.1.2.1. - Patrón de agrupamiento y estructura genética

El método de Evanno indicó un valor óptimo de $K=2$ (Delta $K=188.604$) para los 38 individuos analizados; sin embargo, también se observaron otros dos valores de delta K altos para $K=3$ (Delta $K=85.066$) y $K=4$ (Delta $K=69.254$) (Figura 3.5).

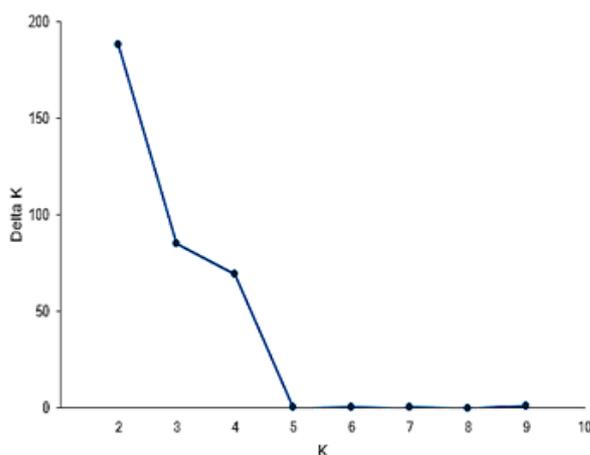


Figura 3.5. Gráfica de Delta K usando 38 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, y 167 loci de ISSR.

El análisis realizado con STRUCTURE ($K=2$) agrupó seis de los 16 individuos colectados en vegetación natural en el grupo Rojo (individuos colectados en Quintana Roo), el resto de los individuos colectados en vegetación natural se agruparon junto con todos los individuos colectados en sitios antropogénicos, conformando el grupo Verde dentro del cual se pueden observar tres individuos admixed (individuos 34, 37, 40) (Figura 3.6).

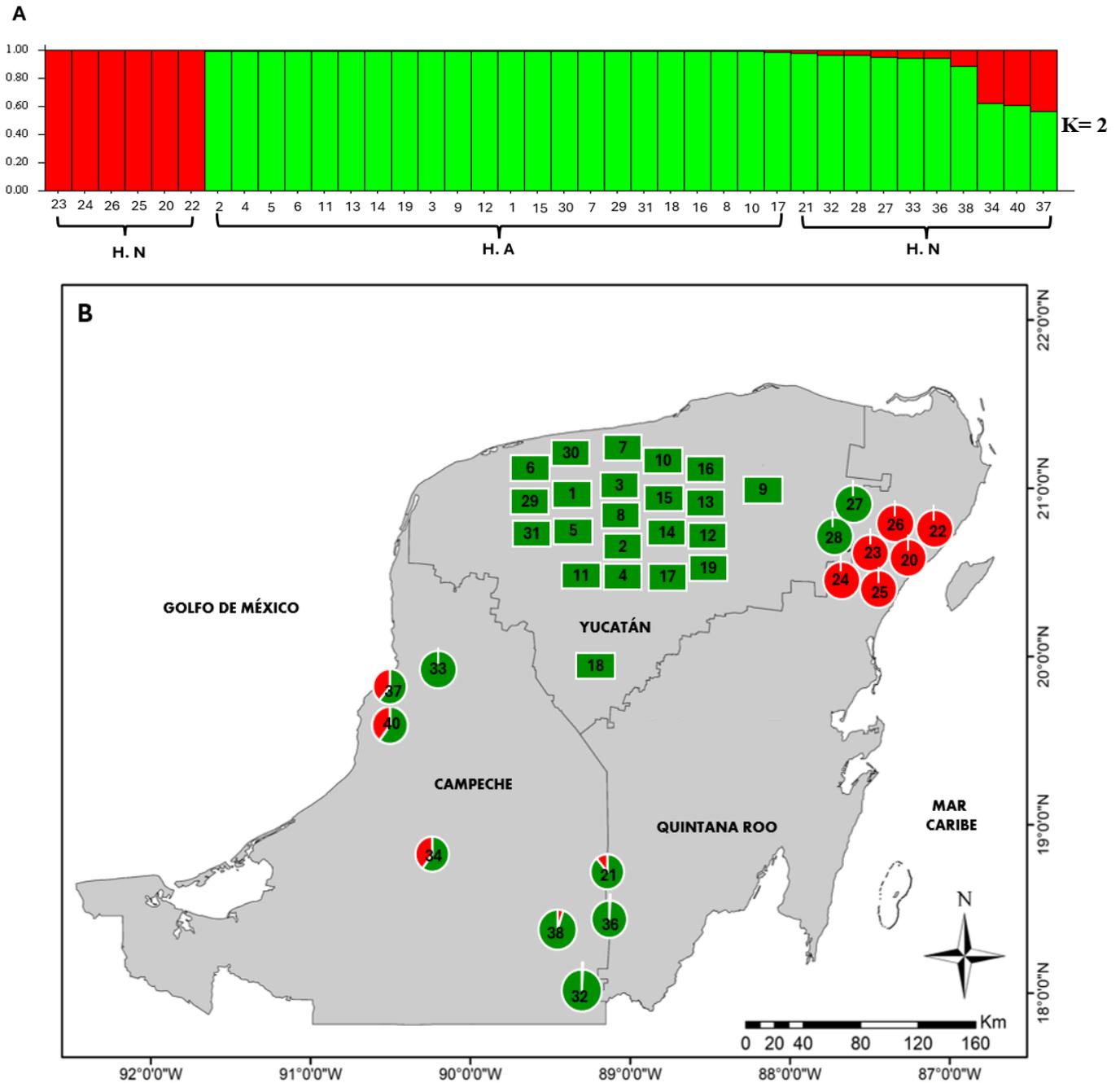


Figura 3.6. Coeficientes de ancestría para 38 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. **A)** Prueba de asignación de individuos utilizando STRUCTURE $K=2$; **B)** Distribución geográfica de los porcentajes de ancestría estimados con $K=2$. Sitios de colecta: **H.N y círculos** = hábitat natural, **H.A y cuadrados** = hábitat antropogénico.

El patrón de agrupamiento generado con $K=3$ mostró el mismo grupo Rojo que el observado con $K=2$ conformado por los seis individuos colectados en vegetación natural en Quintana Roo; también, mostró un grupo Azul (tres individuos colectados en vegetación natural en Campeche); además, se encontró un grupo Verde (formado por 22 individuos colectados en sitios antropogénicos y cuatro individuos colectados en vegetación natural). Por último, se observan los mismos individuos admixed observados con $K=2$ (Figura 3.7).

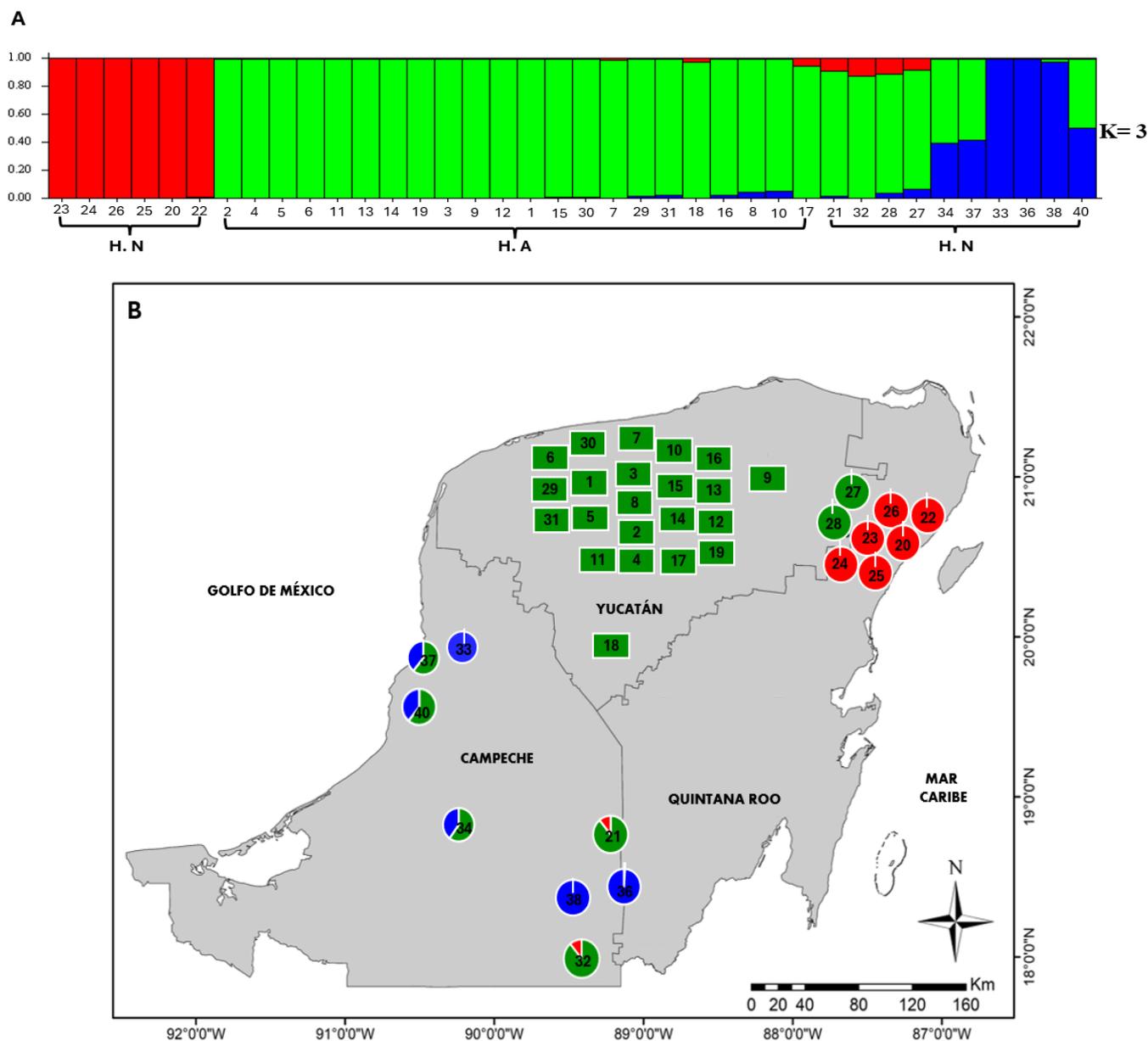


Figura 3.7. Coeficientes de ancestría para 38 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. **A)** Prueba de asignación de individuos utilizando STRUCTURE $K = 3$; **B)** Distribución geográfica de los porcentajes de ancestría estimados con $K = 3$. Sitios de colecta **H.N y círculos** = hábitat natural, **H.A y cuadrados** = hábitat antropogénico.

El análisis realizado con $K=4$ mostró el mismo grupo Rojo que el observado con $K=2$ y $K=3$; también, se encontró un grupo Amarillo con tres individuos colectados en vegetación natural de Campeche; además, un grupo Azul con 14 individuos colectados en sitios antropogénicos; también, un grupo Verde formado por tres individuos colectados en vegetación natural y nueve individuos colectados en sitios antropogénicos. Por último, se observaron tres individuos admixed colectados en vegetación natural de Campeche (Figura 3.8).

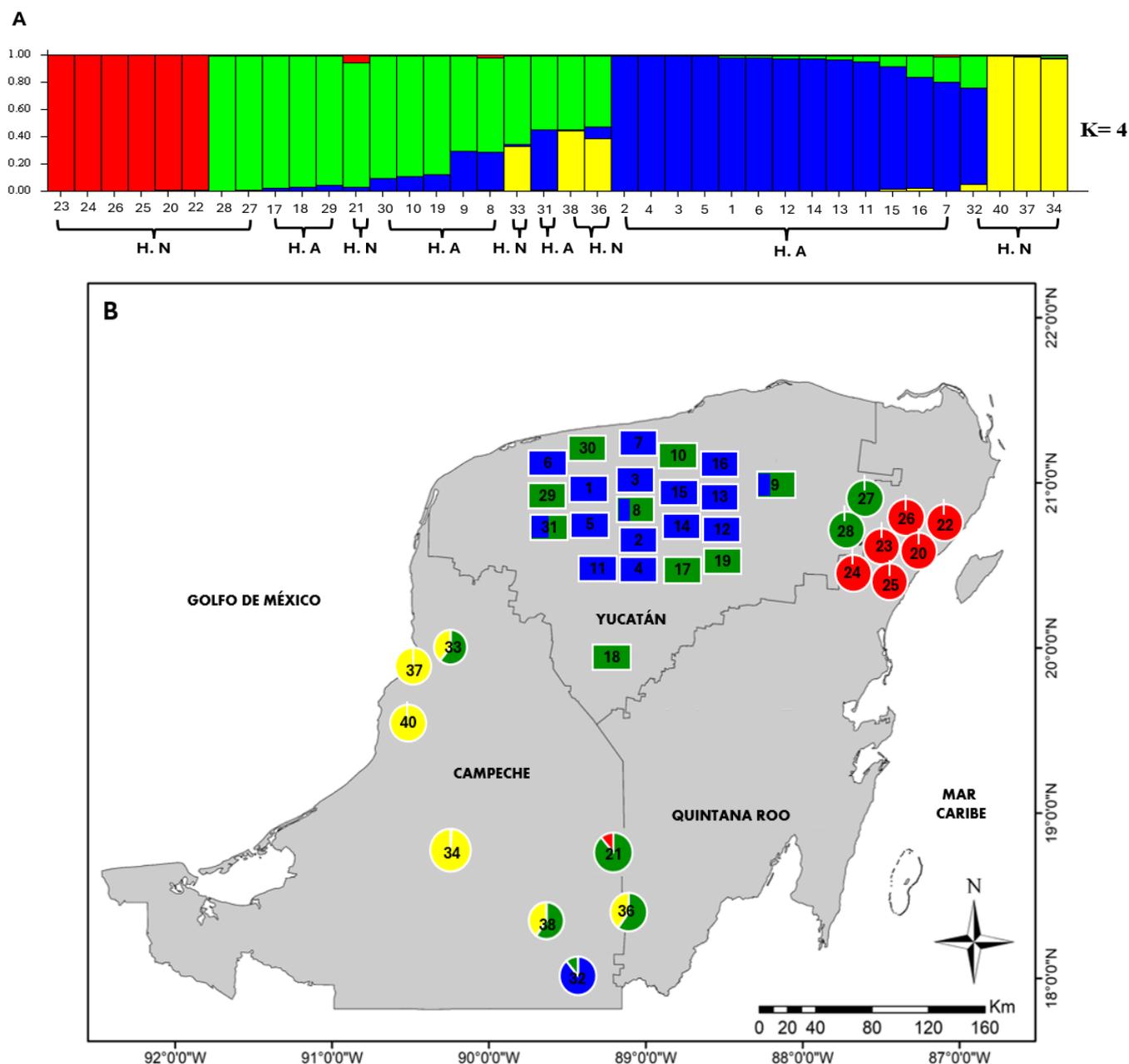


Figura 3.8. Coeficientes de ancestría para 38 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en vegetación natural y sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. **A)** Prueba de asignación de individuos utilizando STRUCTURE $K = 4$; **B)** Distribución geográfica de los porcentajes de ancestría estimados con $K = 4$. Sitios de colecta **H.N y círculos** = hábitat natural, **H.A y cuadrados** = hábitat antropogénico.

El Análisis de Coordenadas Principales (PCoA) mostró la presencia de cuatro grupos principales (Figura 3.9). La primera y segunda coordenadas principales explicaron el 29.39% y 11.70% de la variación total, respectivamente. Con fines comparativos, en esta figura se incorporaron círculos con los colores rojo, verde, amarillo y azul, correspondientes a los grupos observados con STRUCTURE (K= 4). El grupo 1 agrupó a seis individuos colectados en vegetación natural de Quintana Roo (grupo Rojo según STRUCTURE para K= 2, K= 3 y K= 4). El grupo 2 agrupó a tres individuos colectados en vegetación natural en Campeche. El grupo 3 agrupó a 14 individuos colectados en sitios antropogénicos. El grupo 4 agrupó a nueve individuos colectados en sitios antropogénicos y a tres individuos colectados en vegetación natural, además incluyó tres individuos admixed colectados en vegetación natural en Campeche.

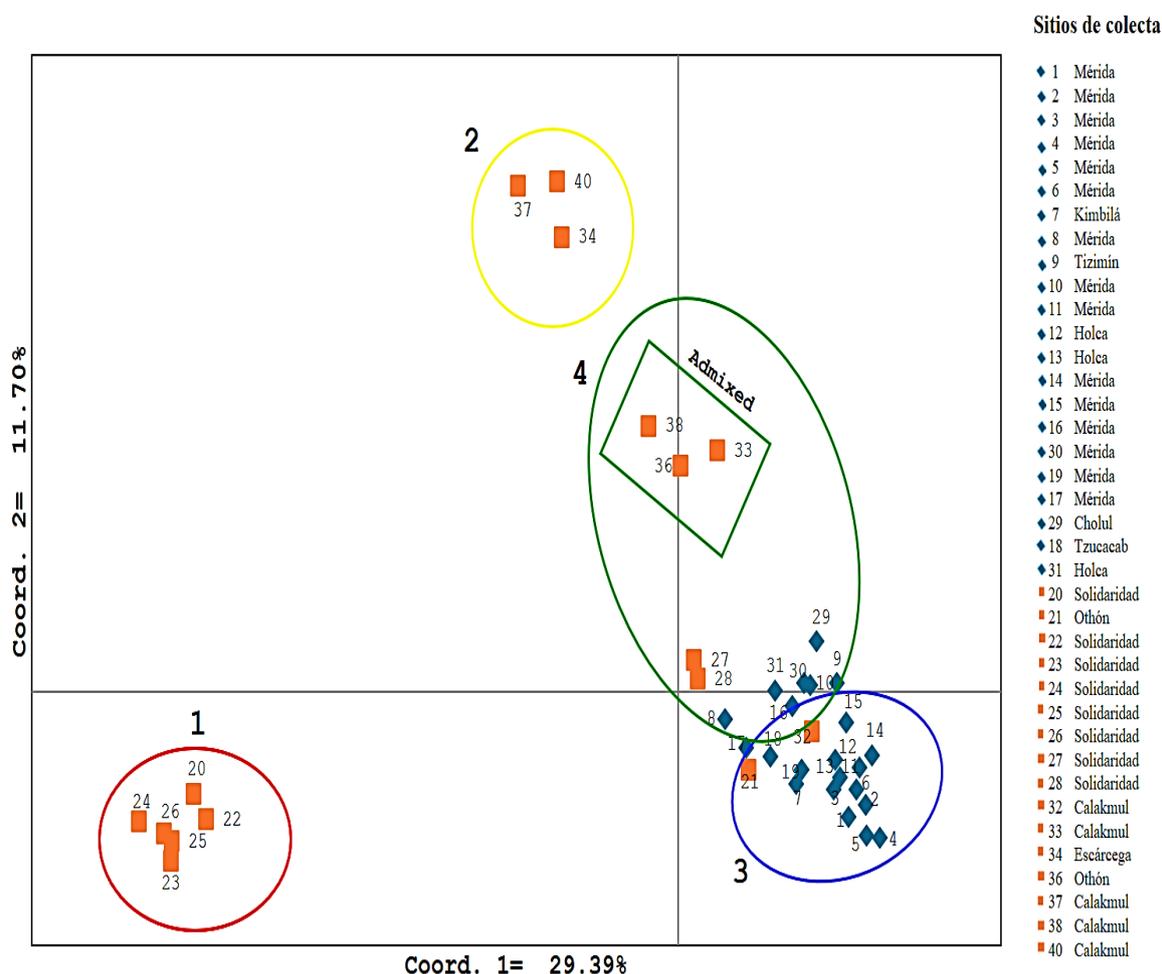


Figura 3.9. Análisis de Coordenadas Principales de 38 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. El grupo rojo, amarillo, azul y verde corresponden al patrón de agrupamiento encontrado con STRUCTURE K = 4 (Figura 3.8-A). Grupo rectangular verde = individuos admixed, ■ individuos colectados en hábitat natural, ◆ individuos colectados en hábitat antropogénico.

El análisis de Neighbor-Joining (N-J) mostró tres grupos principales (Figura 3.10). Con fines comparativos, en esta figura se manejaron los colores rojo, verde, amarillo y azul, correspondientes a los grupos observados con STRUCTURE (K = 4). El grupo uno está formado por seis individuos colectados en sitios antropogénicos y 15 individuos colectados en vegetación natural, dentro de este se observó tres subgrupos, uno rojo conformado por seis individuos colectados en Quintana Roo, otro amarillo formado por tres individuos colectados en Campeche y tres individuos admixed colectados en Campeche (líneas en color verde y amarillo: 33, 36 y 38). El grupo dos integró 13 individuos colectados en sitios antropogénicos y a un individuo (# 32) colectado en vegetación natural. Por último, el grupo tres se conformó por solo tres individuos colectados en sitios antropogénicos.

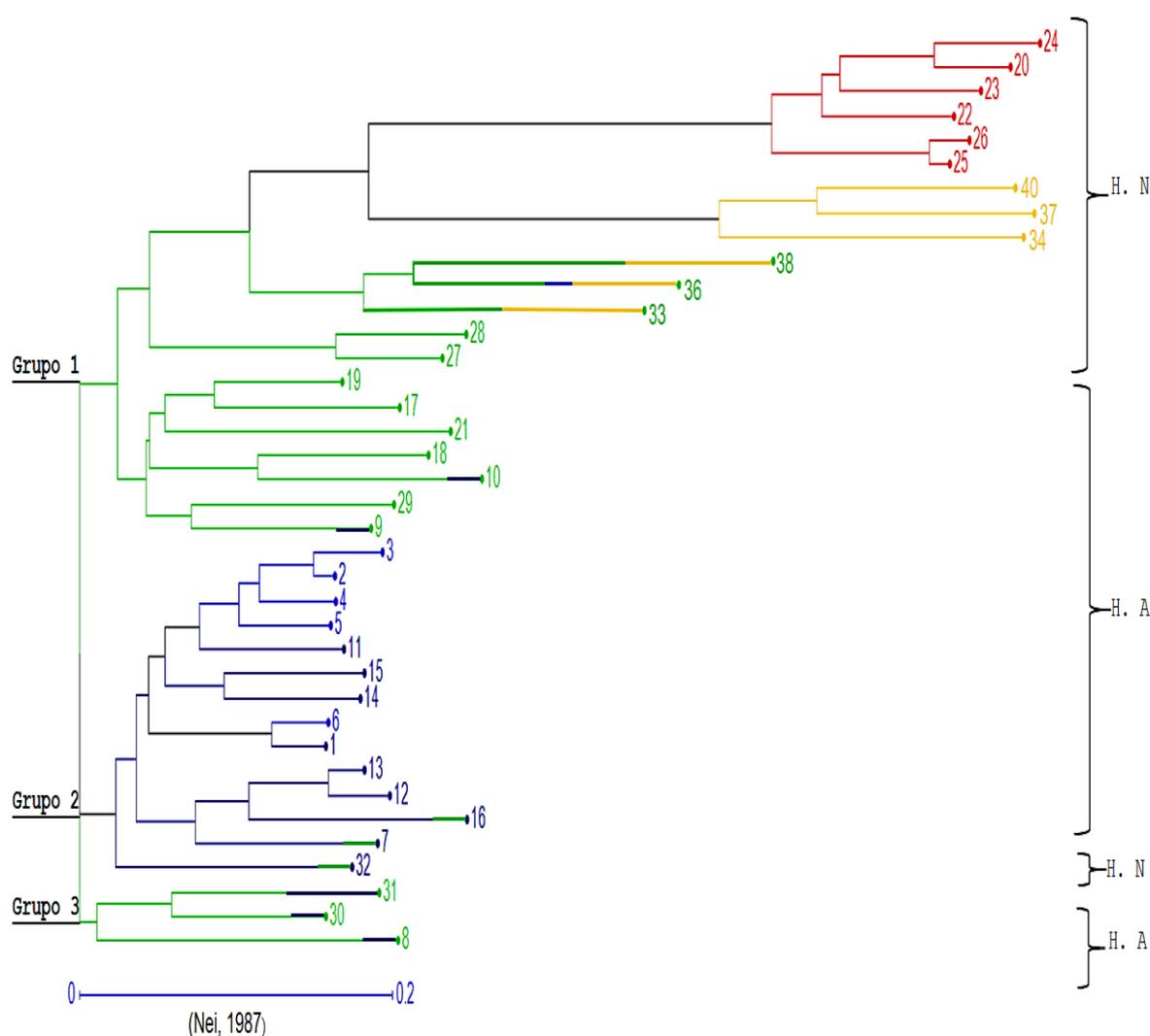


Figura 3.10. Análisis Neighbor-Joining de 38 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR. Los colores rojo, azul, amarillo y verde son los utilizados en STRUCTURE K = 4 (Figura 3.8-A). Sitio de colecta **H.A** = hábitat antropogénico, **H.N** = hábitat natural.

Aunque el valor de Delta K fue más alto para $K = 2$, sugiriendo la existencia de solo dos grupos genéticos, los resultados de los otros análisis realizados, en particular los arrojados por el PCoA sugieren la existencia de grupos menores que deben ser tomados en cuenta. Así, los patrones de agrupamiento generados por STRUCTURE, PCoA y N-J sugieren en conjunto la existencia de cuatro grupos genéticos principales que en adelante se los denominará: 1) grupo Rojo formado por seis individuos colectados en vegetación natural en Quintana Roo; 2) grupo Amarillo formado por tres individuos colectados en vegetación natural en Campeche; 3) grupo Azul formado por 14 individuos colectados en vegetación natural; y 4) grupo Verde formado por tres individuos colectados en vegetación natural y nueve individuos colectados en sitios antropogénicos. Los tres individuos admixed (# 33, # 36 y # 38) colectados en vegetación natural no fueron considerados como parte de ninguno de estos grupos.

El AMOVA indicó que el 54% de la variación se encuentra entre los grupos genéticos considerados y 44% dentro de los grupos genéticos. El grupo Amarillo mostró una alta diferenciación genética con respecto a los grupos Rojo, Azul y Verde, con valores de 0.668, 0.633 y 0.516, respectivamente; el grupo Azul y Verde mostraron una diferenciación genética de 0.228; mientras que el grupo Rojo, Azul y Verde presentaron valores de diferenciación genética muy cercanos a cero.

3.1.1.2.2. Diversidad genética

El grupo genético Verde mostró valores mayores de diversidad genética ($\%P = 54.49$, $H_E = 0.167$) que los demás grupos genéticos (Amarillo: $\%P = 22.75$, $H_E = 0.085$; Azul: $\%P = 43.71$, $H_E = 0.124$; Rojo: $\%P = 31.14$, $H_E = 0.115$). Al agrupar los individuos por hábitat de colecta, los individuos colectados en vegetación natural mostraron un incremento importante en los valores de diversidad genética en comparación con los individuos colectados en sitios antropogénicos ($\%P = 88.02$, $H_E = 0.23$ y $\%P = 56.89$, $H_E = 0.158$, respectivamente) (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2. Diversidad genética de 38 individuos de kanisté (*Pouteria campechiana*) en la península de Yucatán, México, utilizando 167 loci de ISSR.

	N	%P	$H_E \pm SD$
Especie	38	72.46	0.194 \pm 0.009
Grupos genéticos K4			
Rojo	6	31.14	0.115 \pm 0.014
Amarillo	3	22.75	0.085 \pm 0.013
Azul	14	43.71	0.124 \pm 0.014
Verde	12	54.49	0.167 \pm 0.015
Hábitat			
Antropogénico	22	56.89	0.158 \pm 0.014
Vegetación natural	16	88.02	0.230 \pm 0.012

N, Número de individuos; **%P**, Porcentaje de loci polimórficos; **H_E** , Heterocigosidad esperada; **SD**, Desviación estándar.

3.1.2. Objetivo: Caracterizar morfológicamente los frutos de 15 árboles de kanisté colectados en la península de Yucatán, México.

3.1.2.1. Variables cualitativas.

Los frutos presentaron un exocarpio color amarillo y amarillo verdoso, así como un mesocarpio de color amarillo y amarillo naranja; las formas de los frutos fueron: ovalado, cónico fusiforme alargado, ovoide achatado, redondo y alargado (Cuadro 3.3, Figura 3.11).

Cuadro 3.3. Rasgos cualitativos de frutos de kanisté (*Pouteria campechiana*) de 15 árboles presentes en sitios antropogénicos en la península de Yucatán, México.

Árbol	Color Exocarpio	Color Mesocarpio	Forma del fruto
1	Amarillo verdoso	Amarillo	Ovalado
2	Amarillo	Amarillo naranja	Cónico fusiforme alargado
3	Amarillo	Amarillo naranja	Ovoide achatado
4	Amarillo	Amarillo naranja	Redondo
5	Amarillo	Amarillo naranja	Cónico fusiforme alargado
6	Amarillo	Amarillo naranja	Cónico fusiforme alargado
7	Amarillo	Amarillo naranja	Redondo
8	Amarillo y amarillo verdoso	Amarillo	Alargado
9	Amarillo	Amarillo naranja	Redondo
10	Amarillo	Amarillo naranja	Redondo
11	Amarillo	Amarillo naranja	Redondo
12	Amarillo	Amarillo naranja	Cónico fusiforme alargado
13	Amarillo	Amarillo naranja	Cónico fusiforme alargado
14	Amarillo	Amarillo naranja	Redondo
15	Amarillo	Amarillo naranja	Ovalado

3.1.2.2. Variables cuantitativas.

El coeficiente de variación osciló de 9.03% a 83.74%; los valores de la media de la circunferencia del fruto oscilaron de 2.88 a 21.55 cm; el peso del fruto de 8.72 a 177.1 g; la longitud del fruto de 3.4 a 11.3 cm; el diámetro del fruto de 2.37 a 9.85 cm; número de semillas de 1 a 2; peso de la semilla de 0.3 a 10.13 g; el pH del fruto de 3.82 a 5.4 y la concentración de azúcar de 7.4 a 26.5 ° Brix de (Cuadro 3.4).

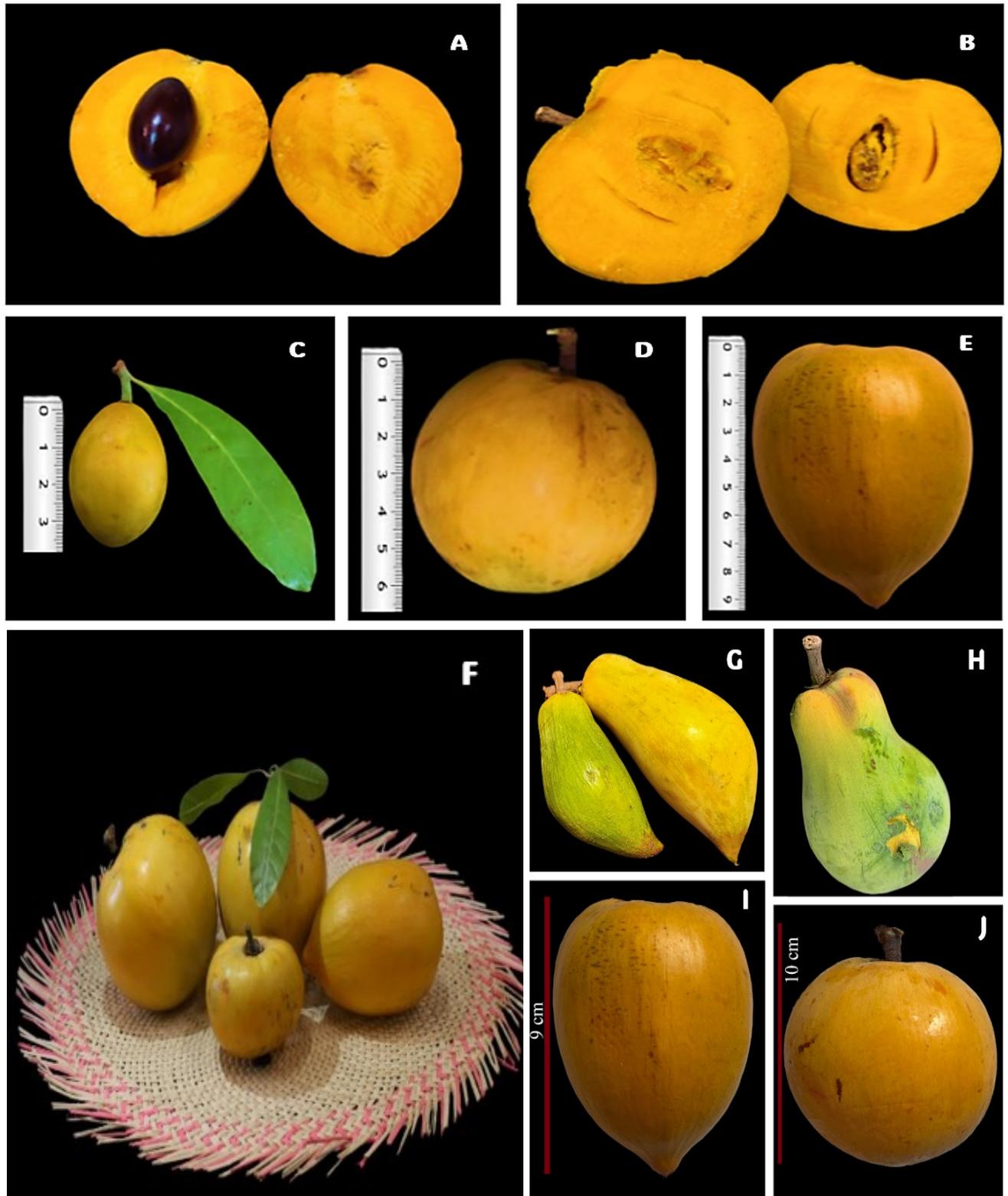


Figura 3.11. Variación de los rasgos cualitativos de los frutos de kanisté (*P. campechiana* (Kunth) Baehni, Sapotaceae). **A y B)** Color amarillo del mesocarpio; **C)** Forma ovoide, color amarillo (árbol 15); **D)** Forma redonda (árbol 7); **E)** Color amarillo del exocarpio; **F)** Diversidad de formas de los frutos de kanisté; **G)** Forma alargada (árbol 8); **H)** Forma cilíndrica con abultamiento en los extremos; **I)** Forma cónico fusiforme alargada; **J)** Forma redonda (árbol 10). Modificado de Jiménez-Parra *et al.*, 2024.

CAPÍTULO III

Cuadro 3.4. Valores obtenidos de la media, desviación estándar y coeficiente de variación de las variables caracterizadas para 150 frutos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados de 15 árboles presentes en hábitats antropogénicos en la península de Yucatán, México.

Árbol		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Total
Circunferencia del fruto (cm)	Media	10.97	19.6	20.25	21.03	17.12	9.17	20.56	12.76	21.55	15.22	16.25	20.38	16.43	16.64	2.88	16.1
	DE	2.97	1.29	1.84	1.4	1.22	1.14	1.65	1.23	1.62	3.12	2	1.39	1.33	1.86	0.2	5.3
	EE	0.94	0.41	0.58	0.44	0.39	0.36	0.52	0.39	0.51	0.99	0.63	0.44	0.42	0.59	0.06	0.4
	CV	27.08	6.56	9.11	6.65	7.13	12.42	8.03	9.62	7.53	20.52	12.31	6.82	8.11	11.19	7.1	33.3
	Min	5.8	18	17	19	15	7.5	18.5	10.9	19.5	9.5	12.8	18.7	13.6	12.7	2.5	2.5
	Max	16	22	22.5	23	18.5	10.8	23	14.6	23.8	19.8	18.5	22.5	18	18.6	3.1	23.8
Peso del fruto (g)	Media	38.39	128.19	121.13	152.77	102.6	93.76	161.3	49.8	191.1	150.9	76.95	177.1	72.2	78.3	8.72	106.9
	DE	18.81	17.99	24.9	37.08	17.06	13.37	37.95	11.01	22.68	27.22	23.79	23.21	9.6	16.19	2.93	56.2
	EE	5.95	5.69	7.87	11.73	5.4	4.23	12	3.48	7.17	8.61	7.52	7.34	3.04	5.12	0.93	4.6
	CV	48.99	14.03	20.56	24.27	16.63	14.26	23.53	22.11	11.87	18.04	30.92	13.11	13.3	20.68	33.65	52.6
	Min	14.01	101.2	91.68	109.1	81.1	75.63	117	29	155	98	31	149	54	53	3.66	3.7
	Max	66.08	156.3	158.5	229.27	125.4	120.5	220	66	227	187	103	215	84	101	12.22	229.3
Longitud del fruto (cm)	Media	4.08	7.3	4.73	6.4	6.06	7.08	6.55	11.3	7.5	9.5	5.64	8.17	4.91	6.97	3.4	6.6
	DE	0.44	0.48	0.55	0.68	0.38	0.44	0.43	0.49	0.56	1.67	0.76	0.67	0.31	0.93	0.74	2.1
	EE	0.14	0.15	0.17	0.21	0.12	0.14	0.14	0.15	0.18	0.53	0.24	0.21	0.1	0.29	0.23	0.2
	CV	10.69	6.54	11.71	10.62	6.24	6.21	6.58	4.32	7.52	17.63	13.51	8.15	6.3	13.36	21.83	31.6
	Min	3.23	6.52	3.45	4.9	5.5	6.2	5.9	10.5	6.9	6.7	4.2	7.3	4.27	5.7	2.4	2.4
	Max	4.6	8.05	5.34	7.4	6.54	7.8	7.1	12	8.6	12.1	6.5	9.33	5.23	8.5	4.6	12.1
Diámetro del fruto (cm)	Media	3.88	5.9	6.56	7.02	5.56	5.54	5.97	3.63	6.84	9.85	5.24	6.64	5.27	7.03	2.37	5.8
	DE	0.79	0.45	1.37	0.65	0.26	0.33	0.72	0.61	0.45	3.06	0.93	0.54	0.62	0.83	0.51	1.9
	EE	0.25	0.14	0.43	0.21	0.08	0.1	0.23	0.19	0.14	0.97	0.29	0.17	0.2	0.26	0.16	0.12
	CV	20.42	7.55	20.88	9.24	4.74	5.94	12.08	16.68	6.58	31.04	17.66	8.16	11.73	11.85	21.43	33.7
	Min	2.79	5.21	4.5	5.75	5.2	5.02	4.85	2.4	6.1	4.8	3	5.5	4.2	5.7	1.5	1.5
	Max	5	6.44	9.7	8.01	5.95	6.01	6.99	4.5	7.4	14.9	6.2	7.2	6.3	8.2	3	14.9
	Media	2	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1.3

Número de semillas	DE	1.14	0	0.7	0.42	0.48	0.52	0.84	0.52	0	0.52	0.47	0.32	0	0.48	0	0.6
	EE	0.36	0	0.22	0.13	0.15	0.16	0.27	0.16	0	0.16	0.15	0.1	0	0.15	0	0.1
	CV	63.07	0	43.7	35.14	37.16	36.89	35.14	36.89	0	36.89	47.14	28.75	0	37.16	0	47.4
	Min	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0
	Max	4	1	3	2	2	2	4	2	1	2	2	2	1	2	1	4
Peso de la semilla (g)	Media	2.85	0.3	4.06	3.73	6.35	6.68	10.13	9	5.4	3.5	6.13	6.35	5.44	2.9	1.29	4.9
	DE	4.18	0	5.01	4.46	0.9	1.79	7.91	2.49	1.26	1.18	4.46	2.86	2.29	0.57	0.65	4.1
	EE	1.32	0	1.58	1.41	0.28	0.56	2.5	0.79	0.4	0.37	1.41	0.9	0.72	0.18	0.2	0.3
	CV	146.57	0	123.39	119.61	14.14	26.73	78.07	27.72	23.42	33.67	72.82	45.01	42.1	19.57	50.17	83.7
	Min	0.4	0.3	0.3	0.3	5.1	4.38	0.3	5	4	2	0	3	0.3	2	0.4	0
pH del fruto	Max	14.34	0.3	15.65	10.59	7.56	9.2	25	13	8	6	13	13	8	4	2	25
	Media	4.99	3.82	4.91	4.55	5.06	4.71	4.73	4.58	4.62	5.14	4.7	5.4	4.91	4.48	4.79	4.7
	DE	0.31	0.48	0.61	0.5	0.12	0.14	0.09	0.1	0.15	0.05	0	0	0.03	0.06	0.14	0.4
	EE	0.1	0.15	0.19	0.16	0.04	0.05	0.03	0.03	0.05	0.02	0	0	0.01	0.02	0.05	0.04
	CV	6.16	12.63	12.39	10.93	2.32	3.08	2.01	2.26	3.35	1	0	0	0.64	1.41	3.03	9.0
° Brix	Min	4.6	3	3.4	3.7	4.9	4.5	4.7	4.5	4.5	5.1	4.7	5.4	4.9	4.3	4.7	3
	Max	5.5	4.5	5.7	5.2	5.3	5	5	4.7	4.8	5.2	4.7	5.4	5	4.5	5	5
	Media	7.4	24.1	23.5	20.6	24.1	22.1	19.9	8.7	19.4	18.5	10.3	26.5	18.4	20.6	14.2	18.5
	DE	1.35	5.3	4.03	2.67	3.93	2.38	1.66	1.25	0.97	1.08	0.48	3.37	0.84	0.97	0.42	6.2
	EE	0.43	1.68	1.28	0.85	1.24	0.75	0.53	0.4	0.31	0.34	0.15	1.07	0.27	0.31	0.13	0.5
° Brix	CV	18.24	22	17.17	12.99	16.3	10.76	8.36	14.39	4.98	5.84	4.69	12.73	4.58	4.69	2.97	33.2
	Min	6	15	17	16	18	18	18	7	18	17	10	20	18	20	14	6
	Max	11	29	30	25	30	25	22	10	20	20	11	30	20	22	15	30

DE. Desviación estándar; **EE.** Error estándar; **CV.** Coeficiente de variación; **Min.** Valores mínimos; **Max.** Valores máximos; **cm.** Centímetros; **g.** gramos.

3.1.2.2.1. Análisis de correlación de las variables cuantitativas

Se encontró una correlación positiva moderada y significativa entre el diámetro y el peso del fruto ($r = 0.76$); la regresión lineal mostró un coeficiente de determinación R^2 de 0.58, indicando que el 58% de la variabilidad en el peso del fruto puede ser explicada por su diámetro y el 42% restante se debe a otros factores (Figura 3.12.A). Se observó una correlación positiva moderada y significativa entre el diámetro y la circunferencia del fruto ($r = 0.63$); la regresión lineal arrojó un $R^2 = 0.39$, indicando que el 39% de la variabilidad en la circunferencia del fruto es explicada por el diámetro y el 61% restante por otros factores (Figura 3.12.B). La correlación entre la circunferencia del fruto y peso del fruto fue positiva y fuerte ($r = 0.82$); la regresión lineal arrojó un $R^2 = 0.67$ (Figura 3.12.B).

Cuadro 3.5. Correlación de las variables cuantitativas de los frutos de kanisté (*Pouteria campechiana*) de 15 árboles presentes en hábitats antropogénicos en la península de Yucatán, México.

Variable (1)	Variable (2)							
	Longitud del fruto	Diámetro del fruto	Peso del fruto	Peso de la semilla	Número de semillas	pH del fruto	° Brix	Circunferencia del fruto
Longitud del fruto								
Pearson	1	0.4	0.38	0.39	-0.38	-0.09	0.06	0.25
p-valor	0	0.14	0.17	0.15	0.16	0.75	0.82	0.37
Diámetro del fruto								
Pearson	0.4	1	0.76	-0.04	-0.1	0.12	0.54	0.63
p-valor	0.14	0	0	0.9	0.71	0.66	0.04	0.01
Peso del fruto								
Pearson	0.38	0.76	1	0.22	0	0.06	0.65	0.82
p-valor	0.17	0	0	0.44	1	0.83	0.01	0
Peso de la semilla								
Pearson	0.39	-0.04	0.22	1	0.14	0.31	-0.07	0.21
p-valor	0.15	0.9	0.44	0	0.61	0.26	0.81	0.45
Número de semillas								
Pearson	-0.38	-0.1	0	0.14	1	0.17	-0.14	0.12
p-valor	0.16	0.71	1	0.61	0	0.55	0.61	0.67
pH del fruto								
Pearson	-0.09	0.12	0.06	0.31	0.17	1	0.02	-0.1
p-valor	0.75	0.66	0.83	0.26	0.55	0	0.96	0.72
° Brix								
Pearson	0.06	0.54	0.65	-0.07	-0.14	0.02	1	0.52
p-valor	0.82	0.04	0.01	0.81	0.61	0.96	0	0.05
Circunferencia								
Pearson	0.25	0.63	0.82	0.21	0.12	-0.1	0.52	1
p-valor	0.37	0.01	0	0.45	0.67	0.72	0.05	0

Los números en **negrita** presentaron correlaciones positivas y significativas

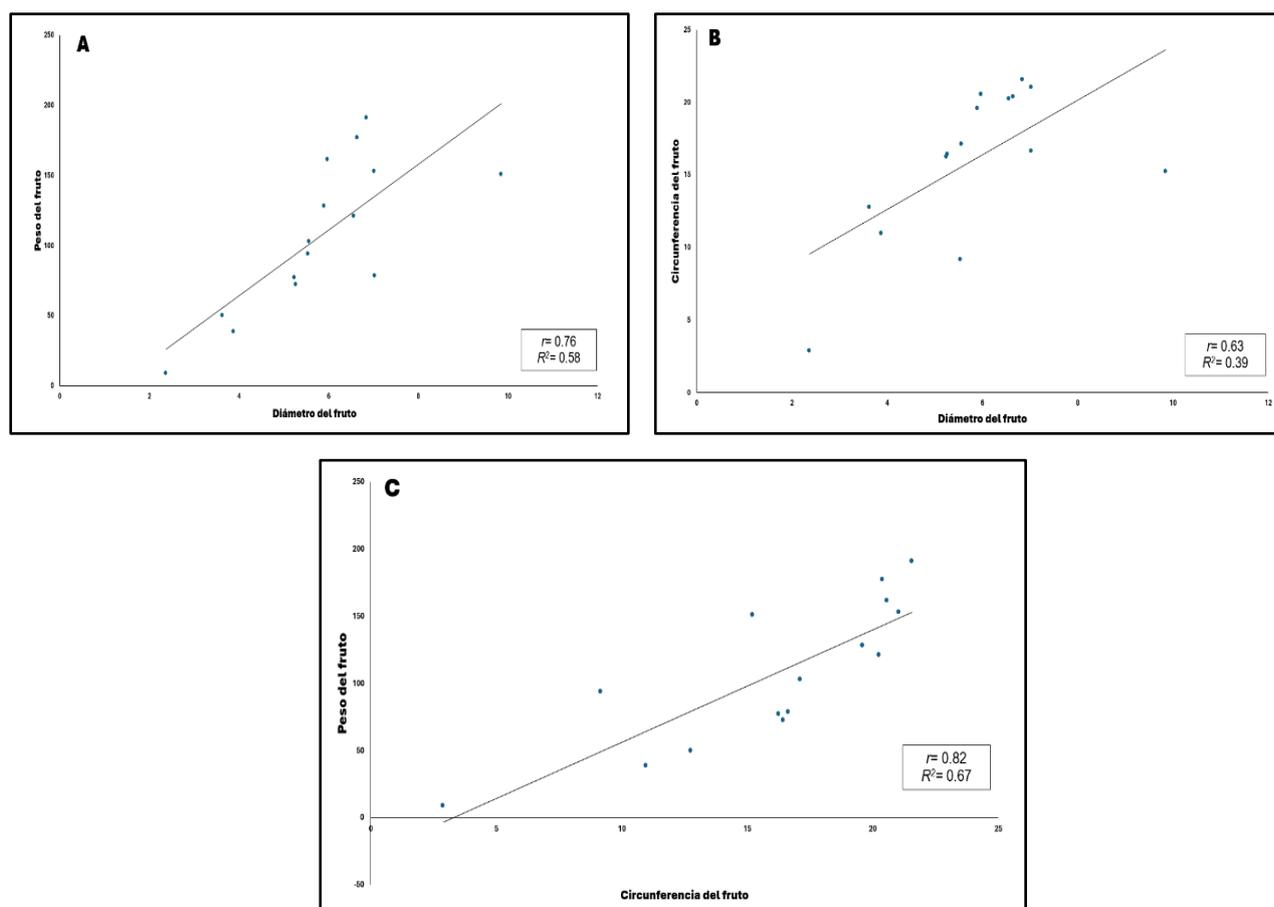


Figura 3.12. Diagramas de dispersión que muestran correlaciones positivas y significativas de variables cuantitativas de los frutos de kanisté (*Pouteria campechiana*) colectados de 15 árboles en la península de Yucatán, México. A) Correlación entre diámetro del fruto y peso del fruto. B) Correlación entre diámetro del fruto y circunferencia del fruto. C) Correlación entre circunferencia del fruto y peso del fruto.

3.1.2.2.2. El análisis de conglomerados

El UPGMA realizado permitió identificar dos grupos principales (denominados A y B) (Figura 3.13):

- 1) El Grupo A quedó compuesto por los frutos de 10 árboles de kanisté, dividido en dos subgrupos. Subgrupo A1; este incluyó a los árboles 2, 3, 5, 6, 11, 13 y 14, los cuales comparten la misma región bioclimática (cálido húmedo con lluvias de verano). Subgrupo A2; este comprendió a los árboles 1 y 8, colectados en Mérida y Cholul, los cuales comparten la misma región bioclimática (cálido húmedo con lluvias de verano), así como el árbol 15 colectado en Chetumal, en un clima cálido subhúmedo intermedio. Los frutos de los árboles del subgrupo A1 presentaron valores promedio

de circunferencia del fruto, peso del fruto, diámetro del fruto, longitud del fruto y ° Brix mayores a los valores del subgrupo A2 (Cuadro 3.6).

- 2) El Grupo B se formó por cinco árboles: los árboles 4, 7 y 9 que comparten la misma región bioclimática (cálido subhúmedo intermedio); los árboles 10 y 12, que comparten el clima cálido húmedo con lluvias de verano. Este grupo mostró valores promedio mayores al grupo A, con excepción de los ° Brix (Cuadro 3.6).

Las variables longitud del fruto, número de semillas, pH del fruto y peso de las semillas, mostraron valores promedio similares en ambos grupos.

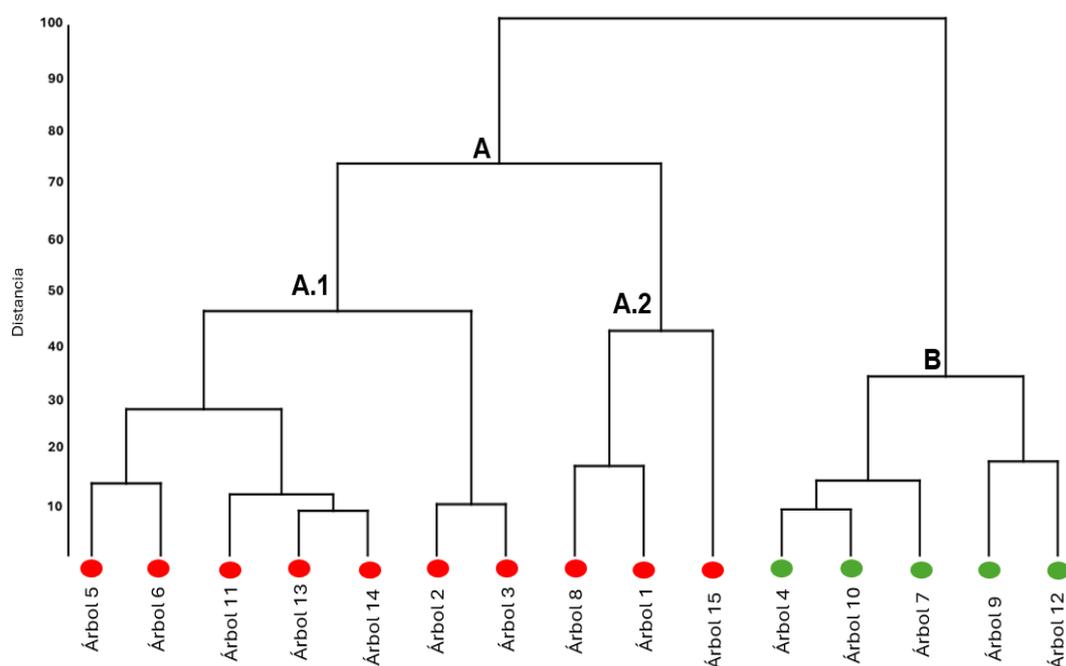


Figura 3.13. Resultados del análisis de conglomerados UPGMA de las características cuantitativas de los frutos de 15 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) presentes en hábitats antropogénicos de la península de Yucatán, México.

A nivel de grupos obtenidos por el análisis de UPGMA, el análisis de varianza detectó diferencias significativas en cuatro variables con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$. Al realizar la comparación de medias (Cuadro 3.6), se observó que el diámetro del fruto varió de 3.29 a 7.26 cm, el peso del fruto osciló entre 32.30 a 166.63 cm, la concentración de azúcares presentó un intervalo de variación de 10.10 a 20.98 ° Brix y la circunferencia del fruto varió de 8.87 a 19.75 cm.

Cuadro 3.6. Comparación de medias + desviación estándar de las variables cuantitativas de los frutos de 15 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) presentes en la península de Yucatán, México, evaluadas a nivel de grupos A (A1 y A2) y B obtenidos por el análisis UPGMA.

Variables morfológicas	Significancia $p \leq 0.05$	Grupos		
		A.1	A.2	B
Longitud del fruto (cm)	Ns	6.10 ± 0.78	6.26 ± 1.20	7.62 ± 0.93
Diámetro del fruto (cm)	*	5.87 ± 0.39 B	3.29 ± 0.60 A	7.26 ± 0.47 B
Peso del fruto (g)	***	96.16 ± 7.74 B	32.30 ± 11.83 A	166.63 ± 9.16 C
Peso de la semilla (g)	Ns	4.55 ± 1.06	4.38 ± 1.62	5.82 ± 1.25
Número de semillas	Ns	1.14 ± 0.17	1.33 ± 0.25	1.20 ± 0.20
pH del fruto	Ns	4.66 ± 0.14	4.79 ± 0.21	4.89 ± 0.17
° Brix	*	20.44 ± 1.59 B	10.10 ± 2.43 A	20.98 ± 1.88 B
Circunferencia del fruto (cm)	*	16.49 ± 1.38 B	8.87 ± 2.11 A	19.75 ± 1.63 B

* significativo; *** altamente significativo; *ns* no significativo.

3.1.2.2.3. Análisis de componentes principales

Los dos primeros componentes del análisis de componentes principales (PCA) explicaron el 58.6% de la variación total: el primer componente (39.5%) y el segundo componente (21.1%). El diagrama de dispersión del PCA (Figura 3.14) respaldó las observaciones del dendrograma generado por el UPGMA al identificar los grupos A y B (Figura 3.13).

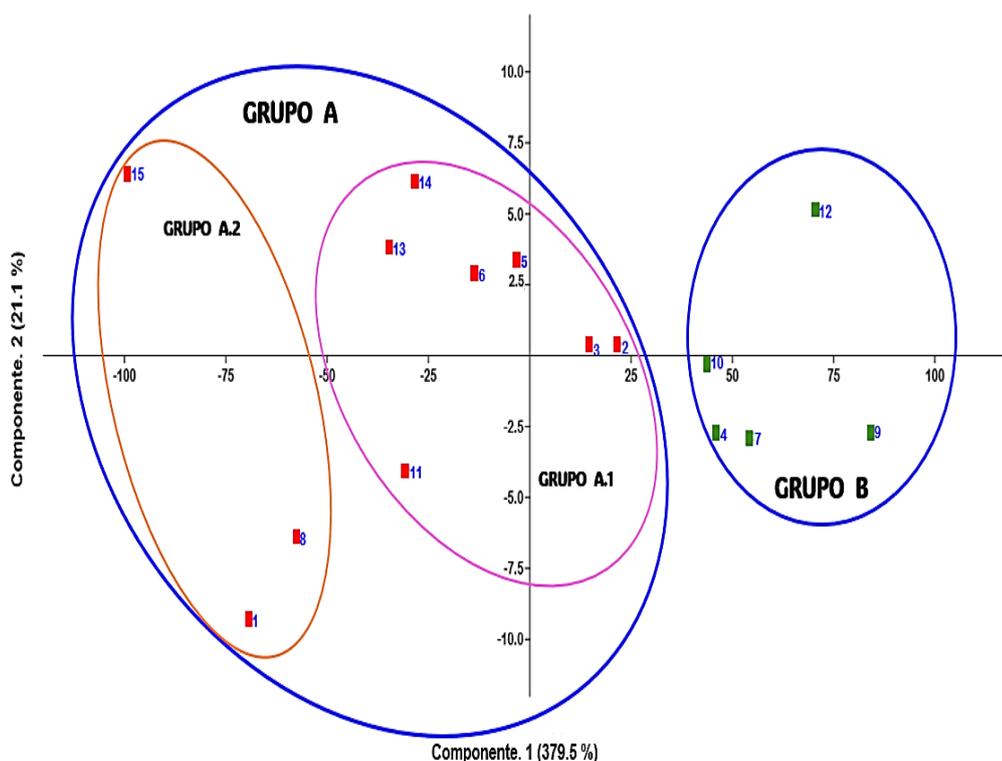


Figura 3.14. Análisis de Componentes principales (PCA) para identificar grupos basados en caracteres morfológicos de los frutos de 15 árboles de kanisté (*Pouteria campechiana*) presentes en la península de Yucatán, México.

CAPÍTULO IV

4.1. DISCUSIÓN

A pesar de la gran importancia que han tenido las especies frutales perennes desde los orígenes de la humanidad, aún existe un vacío de información muy grande en la gran mayoría de estas, en particular en las especies nativas de los trópicos y subtrópicos del mundo, regiones en donde se encuentra la mayor riqueza de estas especies (Awodoyin *et al.*, 2015). La península de Yucatán, en el neotrópico mexicano, no está exenta de esta problemática; para esta región, se reportan al menos 31 especies de frutales nativas, muchas de las cuales son especies subutilizadas (Ruenes *et al.*, 2015). Son contados los estudios publicados sobre la diversidad morfológica y genética de las especies nativas de la PY; entre estos podemos mencionar los trabajos con huaya india (*Melicoccus oliviformis* Kunth) de Jiménez-Rojas *et al.* (2018, 2019, 2021), mamey [(*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn] de Martínez-Castillo *et al.* (2019) y acelora (*Malpighia glabra* L.) de Esquivel-Chi *et al.* (2024). Entendiendo la necesidad de generar información base para el manejo y conservación de las especies de frutales nativas de la PY, en este trabajo se estudió la diversidad genética y morfológica del kanisté (*P. campechiana*) integrando, en la manera de lo posible, individuos colectados en un rango de tipos de hábitats que fueron desde vegetación natural y huertos familiares en comunidades mayas, hasta áreas urbanas de algunas ciudades de la región.

4.1.1 Diversidad genética del kanisté en la península de Yucatán, México.

A falta de marcadores moleculares específicos desarrollados para kanisté, en este estudio se emplearon 18 loci de SSR desarrollados para mamey (*P. sapota*) y 167 loci de ISSR. Para ambos marcadores, se usó la misma metodología (con algunas excepciones aplicadas a marcadores dominantes como los ISSR) para analizar el patrón de agrupamiento, estructura y diversidad genética de los individuos colectados.

Los resultados generados por STRUCTURE para los SSRs mostraron la existencia de dos grupos genéticos principales, aunque el PCoA y el N-J sugirieron la existencia de una subestructura en el conjunto de datos, en particular para los individuos colectados en vegetación natural. Mientras la existencia de dos grupos principales parece estar más relacionada a la naturaleza biológica de los árboles colectados en vegetación natural (individuos silvestres) y vegetación antropogénica (individuos cultivados y/o domesticados), la subestructura de los datos parece estar más asociada al origen geográfico de los individuos

colectados en vegetación natural. Esta subestructura encontrada con los SSR es apoyada con el uso de los marcadores ISSR, los cuales mostraron más claramente la existencia de cuatro grupos genéticos. Nuevamente, el valor más alto de Delta K fue para K= 2, pero en esta ocasión los ISSRs detectaron también valores relativamente altos para K= 3 y K= 4; se ha señalado que evaluar diferentes valores de K puede facilitar la detección de diferentes procesos genéticos y demográficos, garantizando así una mejor interpretación biológica de los datos (Meirmans, 2015). Este resultado de STRUCTURE para los marcadores ISSRs es apoyado por los resultados generados con el PCoA y el N-J, que indican la presencia de subgrupos dentro de los grupos principales. Un resultado interesante al utilizar ISSRs es que, no importando el valor de K evaluado ni el tipo de análisis (STRUCTURE, PCoA, N-J), siempre se observó un grupo de 6 individuos colectados en vegetación natural de Quintana Roo que representan, tal vez, a los individuos realmente silvestres; estos seis individuos también formaron parte del grupo Rojo generado con SSR, mostrando que sin importar el tipo de marcador empleado, estos individuos poseen una composición genética única.

Profundizando un poco más en la comparación de los resultados arrojados por ambos marcadores moleculares, se observaron algunas diferencias en los patrones de agrupamiento generados. Por un lado, los SSR mostraron un grupo Rojo integrado por 10 individuos genéticamente puros colectados en vegetación natural de Quintana Roo y Campeche, mientras que los ISSR incluyeron en el grupo Rojo solo a seis de los individuos genéticamente puros colectados en vegetación natural de Quintana Roo; cabe señalar que tres individuos colectados en Campeche presentes en el grupo Rojo formado por los SSR, resultaron ser otro grupo (Amarillo) al ser evaluados con ISSR (Figuras 3.8 y 3.9). Los SSRs también mostraron un grupo Verde conformado por todos los individuos colectados en sitios antropogénicos y algunos colectados en vegetación natural, mientras que los ISSRs agruparon a estos individuos en un grupo Azul formado por individuos colectados en sitios antropogénicos y un grupo Verde formado por la mayoría de individuos colectados en sitios antropogénicos y algunos colectados en vegetación natural, además se detectaron tres individuos admixed colectados en vegetación natural. Estas diferencias en los patrones de agrupamiento generados por ambos marcadores moleculares, indican la existencia de una estructura genética más compleja que, al parecer, es mejor capturada por los ISSRs y que podría ser resultado de la historia evolutiva (selección –natural y humana-, hibridación, dispersión geográfica) del kanisté en la PY; así, los ISSRs podrían estar capturando patrones de variabilidad genética que ocurren dentro de los grupos genéticos principales que los SSRs no pueden identificar. Aunque el uso de marcadores ISSR para estimar la diversidad genética ha sido cuestionado debido a su naturaleza dominante (Lynch y Milligan, 1994), estos han demostrado ser una herramienta muy eficiente para evaluar la estructura genética cuando se

utiliza una gran cantidad de loci (Laakili *et al.*, 2018; Shakoore *et al.*, 2022; Atsbeha *et al.*, 2024).

Tomando en cuenta los resultados de diversidad genética encontrados con los SSR e ISSRs podemos decir que, a nivel de especie, la diversidad genética del kanisté en la PY es de baja a media. En las especies de árboles, la diversidad genética está determinada por sus características ecológicas e historias de vida, así como por los eventos geológicos del pasado que han definido su distribución geográfica y variación genética actual (Loveless y Hamrick, 1984; Chávez-Pesqueira y Núñez-Farfán, 2016; Gamba y Muchhala, 2020). Considerando que el kanisté es una especie alógama (Azurdia, 2006), esto promueve la variación genética mediante el flujo de genes y la recombinación genética, similar a lo que ocurre en especies con reproducción cruzada (Bizoux *et al.*, 2009). Además, la longevidad del kanisté puede alcanzar muchos años (en especies del género *Pouteria*, esta oscila entre 50 y 100 años; Morton, 1987), contribuyendo así a mantener tasas altas de diversidad genética (Martínez-Ramos y Álvarez-Buylla, 1995); esta longevidad también garantiza la coexistencia de múltiples generaciones dentro de un grupo o población, lo que permite que diferentes alelos o genotipos sean favorecidos durante su establecimiento (López-Barrera *et al.*, 2021).

Cuando el análisis de diversidad genética se llevó a cabo a nivel de grupos genéticos, los resultados fueron contrastantes entre los marcadores SSR e ISSR. Por un lado, los SSR mostraron una mayor diversidad genética en el grupo Rojo (Cuadro 3.1). Se reconoce que la vegetación natural suele ser más heterogénea en comparación con áreas modificadas por humanos, lo que puede fomentar la coexistencia de diferentes genotipos y alelos; además, las poblaciones presentes en vegetación natural tienden a tener mayor diversidad genética debido a que están expuestas a diversas condiciones ambientales y presiones selectivas (Kislev *et al.*, 2006 y Lev-Yadun *et al.*, 2006). En un ambiente silvestre, es menos probable que ocurra endogamia, ya que los individuos tienen la oportunidad de cruzarse con otros que no están estrechamente relacionados, lo que contribuye a la diversidad genética (Miller y Gross, 2011). Por otro lado, los ISSR mostraron una mayor diversidad genética (Cuadro 3.2) en el grupo Verde que integró a tres individuos colectados en vegetación natural y a nueve individuos colectados en ambientes antropogénicos. Estos resultados contrastantes en diversidad genética mostrados por ambos marcadores pueden ser consecuencia de las diferencias existentes entre estos. Los ISSRs, al ser marcadores dominantes, solo permiten detectar la presencia o ausencia de alelos y pueden mostrar mayor polimorfismo al cubrir áreas más variables del genoma (Demeke *et al.*, 1996). En contraste, los SSRs son más precisos y tienen la ventaja de proporcionar información codominante, permitiendo una caracterización más detallada de la variabilidad genética a nivel de alelos; sin embargo, los

SSRs pueden detectar menos polimorfismo en algunas especies debido a la conservación de sus secuencias repetitivas (Ghislain *et al.*, 2006 y Srivastava *et al.*, 2023). Además, para los ISSRs existe gran similitud genética entre el grupo Rojo y Verde, por lo que podría indicar que estos grupos comparten una base genética similar.

Interesantemente, cuando el análisis de diversidad genética se realizó considerando la clasificación hecha a priori de los individuos (agrupados en sitios de vegetación natural vs hábitats antropogénicos), ambos marcadores mostraron niveles mayores de diversidad genética en el grupo integrado por los sitios de vegetación natural (Cuadro 3.1, Cuadro 3.2). Este resultado puede deberse al tamaño de muestra (número de individuos por grupo genético) que puede afectar los niveles de diversidad genética. Otra posible explicación a la existencia de niveles menores de diversidad genética en el grupo que contiene individuos colectados en sitios antropogénicos es lo reportado por los habitantes de las comunidades mayas de la PY, quienes señalaron que cada vez se siembran menos árboles de kanisté en sus comunidades, lo que podría estar generando una erosión genética en el acervo cultivado del kanisté de esta región de México. También, aunque en este trabajo no se abordó la domesticación del kanisté, es posible que la diferencia en niveles de diversidad genética encontrada en este estudio entre sitios de colecta sea consecuencia de un efecto fundador por domesticación (Ladizinsky, 1985); aunque no existen estudios formales, la presencia de poblaciones naturales y cultivadas de kanisté en la PY (Pennington y Sarukhan, 2005), así como su larga historia de uso en la cultura maya (Tedlock, 1996), podrían ser evidencias de que la PY es el área de domesticación de este frutal.

Actualmente, solo existe un estudio realizado en kanisté que usó marcadores moleculares. Duy (2022) evaluó la diversidad genética de 30 individuos colectados en 30 huertos de cinco distritos de la provincia Tra Vinh, en Vietnam; este autor reportó un $%P = 100$ usando 25 loci de ISSRs (valor mayor al encontrado en el presente trabajo) y 55 loci de RAPDs. Existen varias explicaciones para explicar por qué este autor encontró un $%P$ mayor en las muestras cultivadas de kanisté en Vietnam, en comparación con el encontrado en el presente trabajo en muestras colectadas en vegetación natural y sitios antropogénicos en el área de distribución natural de la especie. Una de las posibles razones es que, aunque se desconoce el origen de las semillas que dieron lugar a las muestras en Tra Vinh, es posible que estas semillas hayan sido introducidas desde diferentes regiones geográficas, lo que favorecería una mayor variabilidad genética; al respecto, Miller y Gross (2011) han señalado que poblaciones cultivadas que representan los descendientes de cruces controlados entre individuos geográfica y genéticamente distintos, pueden producir nuevas variantes que llevan combinaciones novedosas de alelos, que no se encuentran en la naturaleza. Estas diferencias

también podrían deberse a una combinación de prácticas de selección y condiciones de cultivo en los diferentes sitios de colecta de Vietnam. Cabe señalar que Duy no reportó valores de heterocigosidad esperada (H_E) obtenidos con estos marcadores, lo que limita la posibilidad de realizar una comparación más detallada entre ambos estudios.

En los últimos años, varios estudios realizados dentro de la familia Sapotaceae han reportado altos niveles de diversidad genética en especies silvestres usando marcadores SSR: *Manilkara huberi* (Ducke) Standl ($H_E = 0.86$, Azevedo *et al.*, 2007; $H_E = 0.78$, Rennó, 2007); *Manilkara zapota* (L) P. Royen ($H_E = 0.951$, González–Hernández *et al.*, 2012); *Pouteria reticulata* (Engl.) Eyma ($H_E = 0.71$, Schroeder *et al.*, 2014); *Manilkara maxima* ($H_E = 0.67$, Ganzhorn *et al.*, 2015) y *Argania spinosa* L. Skeels ($H_E = 0.67$, Yatrib *et al.*, 2017). Nuestros resultados obtenidos con SSR, se acercan más a los reportados para mamey (*P. sapota*) por Martínez-Castillo *et al.* (2019) para el sureste de México (incluida la PY), quienes encontraron valores de $H_E = 0.39$. Comparando con estudios realizados en Sapotaceae usando marcadores ISSRs, los niveles de diversidad genética del kanisté encontrados en el presente estudio fueron similares a los reportados para Mahua (*Madhuca indica* J. F. Gmel.) ($H_E = 0.211$; Nimbalkar *et al.*, 2018); por su parte, Quijano y Prieto (2020), reportaron un $\%P = 71$ para lúcuma [*Pouteria lúcuma* (Ruiz & Pav.) Kuntze], valor muy cercano al reportado en el presente estudio para kanisté.

4.1.2. Variación morfológica de frutos de kanisté colectados en la península de Yucatán.

Los análisis UPGMA y PCA mostraron la formación de dos grupos principales (Figura 3.13 y 3.14), lo cual puede atribuirse a diversos factores. Se ha indicado que las zonas climáticas pueden influir en el desarrollo y maduración de los frutos, dado que factores como la temperatura, humedad, altitud y luz pueden inducir variaciones morfológicas, favoreciendo así una gran variabilidad en sus características (Dussi, 2007; Atkin *et al.*, 2006; Bayuelo-Jiménez *et al.*, 2010; Sander *et al.*, 2020; Granados-Vega *et al.*, 2023).

Los frutos de los árboles del grupo B mostraron, en promedio, los valores más altos en variables cuantitativas como peso, diámetro, circunferencia del fruto y concentración de azúcares, los cuales caen dentro de los rangos reportados en frutos cultivados por Durán (Datos no publicados) en la PY, Benavides (1998) en Nicaragua, Quesada (2003) en Costa Rica y Granados-Vega *et al.* (2023) en Morelos, México. Las formas observadas en los frutos fueron principalmente cónico-fusiforame alargado y redondo, coincidiendo en esta última con lo reportado por Durán (Datos no publicados), Benavides (1998), Quesada (2003) y Duy (2022), excepto Granados-Vega *et al.* (2023), quienes documentaron frutos de forma subglobosa. En este estudio, tanto el exocarpio como el mesocarpio de los frutos evaluados

fueron de color amarillo, similar a lo observado en estudios previos donde los frutos fueron colectados en traspatios y recibieron cierto manejo directo. Se ha señalado que factores como el tipo de suelo, la precipitación y las prácticas agronómicas influyen notablemente en el desarrollo y producción de frutos; mayor disponibilidad de agua, incremento en la materia orgánica del suelo y uso de fertilizantes o abonos tienden a aumentar tanto el tamaño de los frutos, así como la cantidad de estos producida por planta (Aleza *et al.*, 2018; Ouédraogo *et al.*, 2020).

En el presente estudio, el subgrupo A2 incluyó frutos con valores promedio menores en peso, diámetro, circunferencia del futo y concentración de azúcares en comparación con el grupo B (Cuadro 3.6). Durán (datos no publicados) ha reportado características morfológicas específicas para frutos silvestres y cultivados de kanisté colectados en la PY; los frutos del subgrupo A2 aquí evaluados muestran las mismas características morfológicas de frutos silvestres observadas por este autor, a pesar de haber sido colectados en sitios antropogénicos (banquetas). Esto sugiere que estos árboles podrían ser silvestres *ex situ*; aunque también podría ser que las características en estos frutos pueden estar reflejando condiciones de estrés, donde el suelo y las condiciones de manejo difieren notablemente de los traspatios en donde se colectaron los frutos del grupo B. En cuanto a los ° Brix, los resultados del presente estudio indican que los frutos son menos dulces que los silvestres reportados por Durán (Datos no publicados); esta diferencia en la dulzura puede tener implicaciones en la aceptación del fruto. Las formas de los frutos evaluados fueron ovaladas y alargadas, el exocarpio presentó dos colores (amarillo y amarillo verdoso) y el mesocarpio de color amarillo; estas son características compartidas con los frutos evaluados por Durán (Datos no publicados).

Los frutos del subgrupo A1 presentaron, en promedio, valores intermedios en peso, diámetro y circunferencia en comparación con los frutos del subgrupo A2 y del grupo B. Estos valores, al igual que los observados en el grupo B, se encuentran dentro del rango reportado para frutos cultivados en estudios previos (Durán, Datos no publicados; Benavides, 1998; Quesada, 2003; Granados-Vega *et al.*, 2023). Los frutos de este subgrupo y del grupo B fueron colectados en traspatios y en el JBRO, donde reciben algún tipo de manejo, a diferencia de los frutos del subgrupo A2. Esto sugiere que los frutos evaluados en este estudio podrían reflejar una influencia significativa del manejo humano en lugar de estar determinados únicamente por el ambiente. Las formas que presentaron los frutos de este grupo fueron cónico fusiforme alargado, ovoide achatado y redondo; el color del exocarpio fue amarillo y del mesocarpio fue amarillo naranja.

Este estudio evidenció un rango de variabilidad en las características de los frutos de kanisté que, en su mayoría, es comparable con los datos reportados por otros autores. Sin embargo, se presentan diferencias significativas en algunas variables cuantitativas, como el peso del fruto, diámetro del fruto, circunferencia del fruto y concentración de azúcares ($^{\circ}$ B). Esta variabilidad en los frutos puede estar influenciada por factores climáticos (temperatura, precipitación, tipo de suelo) y en gran medida por las prácticas de manejo (riego, deshierbe, fertilización, abono, podas) en los diferentes sitios de colecta (Avakoudjo *et al.*, 2022; Donhouedé *et al.*, 2023; Gomes *et al.*, 2000). Se considera que la forma de los frutos, así como el color del exocarpio y mesocarpio, son indicadores morfológicos de gran importancia ya que son características que hacen atractivo al fruto para el consumidor (Rodríguez-Medina *et al.*, 2009). En el caso del kanisté, las diferencias observadas en el color del exocarpio y mesocarpio en este y estudios anteriores son mínimas y, en general, se limitan a pequeñas variaciones de tonalidad en los colores reportados. Esta consistencia en los tonos probablemente se deba a la estabilidad genética de estos rasgos, combinada con factores ambientales propios de las zonas de cultivo que no generan grandes variaciones cromáticas (Gao *et al.* 2011). Aunque el color es un rasgo morfológico fundamental en la apariencia del fruto, estas variaciones sutiles sugieren una posible selección artificial que ha favorecido una gama específica de colores que resultan atractivos y constantes para los consumidores (Hernández-Villarreal, 2013). De este modo, las tonalidades homogéneas permiten que, pese a la variabilidad en las condiciones de cultivo, el fruto mantenga una apariencia similar y responda a las preferencias visuales del consumidor. Así, aunque no se conoce el grado exacto de domesticación del kanisté, el manejo y selección de este frutal por la cultura maya durante más de 2000 años, sugiere que algunas características observadas en los frutos actuales podrían estar influenciadas por selección y manejo humano, ya sea intencionado o incidental, lo cual podría resultar en cambios característicos del síndrome de domesticación. Esta tendencia ha sido documentada en otras especies domesticadas (Baker, 1972; Purugganan y Fuller, 2009; Parker *et al.*, 2010).

Se observó una correlación positiva entre el diámetro y el peso del fruto, lo cual indica que, a medida que aumenta el diámetro, el peso del fruto también tiende a incrementarse. De manera similar, se encontró una correlación positiva entre el diámetro y la circunferencia del fruto: a mayor diámetro, mayor circunferencia. La circunferencia del fruto también mostró una correlación positiva con su peso. En relación con estos hallazgos, Durán (Datos no publicados) identificó una correlación positiva entre el peso del fruto y el peso de las semillas, pero correlaciones negativas entre la cantidad de mesocarpio y el número de semillas, así como entre el peso del fruto y el número de semillas. Esto sugiere que los frutos más grandes no necesariamente contienen más semillas, pero sí semillas de mayor tamaño, lo cual

también fue observado en este análisis. El resto de los estudios antes citados no realizaron análisis de correlación que permitan una comparación directa con estos resultados.

Por otra parte, se encontró una correlación débil entre el pH y los ° Brix, lo que sugiere que las variaciones en el pH no están estrechamente relacionadas con los cambios en los ° Brix, que miden el contenido de azúcar o dulzura. En un estudio sobre los cambios físicos, químicos, fisiológicos y funcionales durante el crecimiento de los frutos cultivados de mamey (*P. sapota*), Saucero-Hernández (2018) reportó que el pH durante el desarrollo del fruto osciló entre 5.1 y 5.8, y en la fase postcosecha se situó entre 5 y 6; esto muestra que no se identificó un patrón de comportamiento claro, ya que los ° Brix aumentaron tanto en la cosecha como en la postcosecha de los frutos. Tanto lo reportado por este autor para el mamey, como los hallazgos del presente trabajo, sugieren que el pH no es un buen indicador de los cambios durante el desarrollo y maduración de los frutos de estas dos especies de sapotáceas.

CAPÍTULO V

5.1. CONCLUSIONES

En este estudio, la diversidad genética del kanisté se organizó en dos grupos principales: uno compuesto por individuos colectados en áreas de vegetación natural y otro integrado por individuos colectados tanto en sitios antropogénicos como en vegetación natural.

A nivel de especie, el kanisté mostró un nivel de diversidad genética de baja a media; los individuos colectados en áreas de vegetación natural presentaron mayores niveles de diversidad genética en comparación con aquellos colectados en sitios antropogénicos; esto último apoya la hipótesis 1. Este resultado podría deberse a una erosión genética de la especie en ambientes antropogénicos, ya sea como resultado de una disminución en el número de individuos sembrados en estos ambientes y/o a un efecto fundador por domesticación.

La diversidad morfológica de los frutos de kanisté colectados en la PY se estructuró en dos grupos principales. Los árboles del grupo B mostraron promedios más altos en peso, circunferencia, diámetro y longitud de los frutos, siendo que tres de estos árboles se encuentran en un clima cálido subhúmedo intermedio. En contraste, los frutos del subgrupo A2 presentaron los promedios más bajos en estas variables, aspecto que podría ser resultado de su naturaleza silvestre.

Las formas de los frutos incluyeron tipos ovalados, cónicos fusiformes alargados, ovoides achatados y redondos, el exocarpio presentó dos colores, amarillo y amarillo verdoso, el mesocarpio presentó dos colores, amarillo y amarillo naranja. Esta alta variabilidad morfológica en características cualitativas y cuantitativas del fruto, similar a lo encontrado por Duran (Datos no publicados) para la PY y lo reportado por otros autores para Centro América, apoyaría la hipótesis 2. La diversidad morfológica observada en los frutos de kanisté parece estar influenciada por factores climáticos, así como por la selección y manejo humano.

5.2. PERSPECTIVAS

Los resultados de este estudio son especialmente valiosos, ya que representan el primer análisis de la diversidad genética del kanisté (*Pouteria campechiana*) en la PY, abarcando tanto áreas de vegetación natural como sitios antropogénicos. Esta información servirá de base para diseñar programas que identifiquen áreas clave para la conservación ex situ e in situ del kanisté. Además, estos hallazgos permitirán en el futuro enriquecer la diversidad genética en los cultivos modernos, facilitar la colección y selección de germoplasma de alta calidad genética para planes de reforestación o para aumentar su valor comercial. Sin embargo, reconociendo las limitaciones del presente estudio, para comprender mejor las bases genéticas del kanisté en su posible centro de domesticación y fortalecer futuros planes de conservación, se recomienda llevar a cabo nuevos estudios que incluyan los siguientes puntos:

1. Colecta ampliada: realizar una colecta exhaustiva que abarque el mayor número posible de individuos de vegetación natural y sitios antropogénicos de la PY.
2. Estudios integrados: incorporar análisis genéticos, morfológicos y etnobotánicos, para una visión más completa de la diversidad genética y características biológicas de la especie.
3. Estudio de domesticación: iniciar investigaciones sobre los procesos de domesticación del kanisté que contemplen no solo estudios moleculares, sino también estudios etnobotánicos y morfológicos para conocer los móviles de selección, ya que actualmente no existe información al respecto.

Estos estudios contribuirán a una base sólida para la conservación y uso sostenible de esta especie.

BIBLIOGRAFÍA

- Aleza, K., Villamor, G. B., Nyarko, B. K., Wala, K., & Akpagana, K. (2018). Shea (*Vitellaria paradoxa* Gaertn C. F.) fruit yield assessment and management by farm households in the Atacora district of Benin. *PLoS ONE*, 13(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190234>
- Allendorf, F. W. (2005). Evolutionary Conservation Biology. *BioScience*, 55(3). [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2005\)055\[0285:caer\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2005)055[0285:caer]2.0.co;2)
- Amos, W., & Balmford, A. (2001). When does conservation genetics matter? In *Heredity* (Vol. 87, Issue 3). <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00940.x>
- Angioi, S. A., Rau, D., Nanni, L., Bellucci, E., Papa, R., & Attene, G. (2011). The genetic make-up of the European landraces of the common bean. *Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation*, 9 (2). <https://doi.org/10.1017/S1479262111000190>
- Arias, R. S., Martínez-Castillo, J., Sobolev, V. S., Blancarte-Jasso, N. H., Simpson, S. A., Ballard, L. L., Duke, M. v., Liu, X. F., Irish, B. M., & Scheffler, B. E. (2015). Development of a large set of microsatellite markers in zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) and their potential use in the study of the species. *Molecules*, 20(6). <https://doi.org/10.3390/molecules200611400>
- Arif, I. A., Bakir, M. A., Khan, H. A., al Farhan, A. H., al Homaidan, A. A., Bahkali, A. H., al Sadoon, M., & Shobrak, M. (2010). A brief review of molecular techniques to assess plant diversity. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 11, Issue 5). <https://doi.org/10.3390/ijms11052079>
- Atkin, O. K., Loveys, B. R., Atkinson, L. J., & Pons, T. L. (2006). Phenotypic plasticity and growth temperature: Understanding interspecific variability. *Journal of Experimental Botany*, 57(2 SPEC. ISS.). <https://doi.org/10.1093/jxb/erj029>
- Atsbeha, G., Tesfaye, K., Mekonnen, T., Haileselassie, T., & Kebede, M. (2024). Genetic diversity and population structure analysis of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasms as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(6). <https://doi.org/10.1007/s10722-023-01791-6>
- Avakoudjo, H. G. G., Mensah, S., Idohou, R., Koné, M. W., & Assogbadjo, A. E. (2022). Effects of climate and protection status on growth and fruit yield of *Strychnos spinosa*

-
- Lam., a tropical wild fruit tree in West Africa. *Trees - Structure and Function*, 36(3).
<https://doi.org/10.1007/s00468-022-02276-2>
- Avendaño-Gómez, A., Lira-Saade, R., Madrigal-Calle, B., García-Moya, E., Soto-Hernández, M., & de Vivar-Romo, A. R. (2015). MANAGEMENT AND DOMESTICATION SYNDROMES OF CAPULIN (*Prunus serotina* Ehrh ssp. capuli (Cav.) Mc Vaugh) IN COMMUNITIES OF THE STATE OF TLAXCALA. *Agrociencia*, 49(2).
- Awodoyin, R. O., Olubode, O. S., Ogbu, J. U., Balogun, R. B., Nwawuisi, J. U., & Orji, K. O. (2015). Indigenous Fruit Trees of Tropical Africa: Status, Opportunity for Development and Biodiversity Management. *Agricultural Sciences*, 06(01).
<https://doi.org/10.4236/as.2015.61004>
- Azevedo, V. C. R., Kanashiro, M., Ciampi, A. Y., & Grattapaglia, D. (2007). Genetic structure and mating system of *Manilkara huberi* (Ducke) A. Chev., a heavily logged Amazonian timber species. *Journal of Heredity*, 98(7).
<https://doi.org/10.1093/jhered/esm074>
- Azurdia C. (2006). Tres especies de zapote en América tropical. Southampton Centre for Underutilized Crops, Universidad de Southampton. USA, 216 pp.
- Baker, H. G. (1972). Human influences on plant evolution. *Economic Botany*, 26(1).
<https://doi.org/10.1007/BF02862259>
- Bañuelos, E. García, J. González-Iturbide, F. Herrera, & J. Vidal, Eds.; Primera). UADY
Bautista, F. (2021). Los territorios kársticos de la península de Yucatán: caracterización,
- Bayuelo-Jiménez, J. S., Rivera-Alcántar, N., & Ochoa, I. (2010). Evaluation of promising sapotaceae species for fruit production in Michoacan, Mexico. *Acta Horticulturae*, 864. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.864.6>
- Bellón, M. R., Barrientos-Priego, A. F., Colunga-GarcíaMarín, P., Perales, H., Reyes-Agüero, J. A., Rosales-Serna, R., & Zizumbo-Villareal, D. (2009). Diversidad y conservación de recursos genéticos en plantas cultivadas. *Capital Natural de México*, 2.
- Benavides, A. (1998). Prospección y caracterización preliminar in situ de cinco especies de sapotaceas en Nicaragua. Nicaragua: La Calera. Universidad Nacional Agraria.

-
-
- Bengtsson, T., Åhman, I., Bengtsson, T., Manninen, O., Veteläinen, M., Reitan, L., Alsheikh, M., Gertsson, B., Tuvešson, S., Jalli, M., Jahoor, A., Jensen, J. D., Orabi, J., Backes, G., Krusell, L., Hjortshøj, R. L., Helgadóttir, Á., Göransson, M., Sveinsson, S., ... Orabi, J. (2017). Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium in Nordicspring barley (*Hordeum vulgare* L. subsp. *vulgare*). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64(8). <https://doi.org/10.1007/s10722-017-0493-5>
- Bizoux, J. P., Daïnou, K., Bourland, N., Hardy, O. J., Heuertz, M., Mahy, G., & Doucet, J. L. (2009). Spatial genetic structure in *Milicia excelsa* (Moraceae) indicates extensive gene dispersal in a low-density wind-pollinated tropical tree. *Molecular Ecology*, 18(21). <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04365.x>
- Boege, E. (2009). Centros de origen, pueblos indígenas y diversificación del maíz. *Ciencias*, 92 (92–93).
- Calvo-Irabién, L. M., Parra-Tabla, V., Acosta-Arriola, V., Escalante-Erosa, F., Díaz-Vera, L., Dzib, G. R., & Peña-Rodríguez, L. M. (2014). Phytochemical diversity of the essential oils of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) populations along an edapho-climatic gradient. *Chemistry and Biodiversity*, 11(7). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201300389>
- Campos-Muzquiz, L. G., de León García, P. G., Flores-Gallegos, A. C., Castillo-Godina, R. G., & Rodríguez Herrera, R. (2023). Caracterización morfológica y determinación de la diversidad genética de aguacate criollo *Persea americana* Mill de Parras, Coahuila. *Biotecnia*, 25(3). <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i3.1919>
- Cardinale, B. J., Duffy, J. E., Gonzalez, A., Hooper, D. U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., MacE, G. M., Tilman, D., Wardle, D. A., Kinzig, A. P., Daily, G. C., Loreau, M., Grace, J. B., Larigauderie, A., Srivastava, D. S., & Naeem, S. (2012). Biodiversity loss and its impact on humanity. In *Nature* (Vol. 486, Issue 7401). <https://doi.org/10.1038/nature11148>
- Castillo-Burguete, M.T., Solís-Montero, V., Martínez-Natarén, D. A. (2024). Sabores exquisitos que se van perdiendo: el kanisté en el camino del olvido. *Desde el herbario CICY*, 16: 180-184
- Chan-Zapata, I., Canul-Canche, J., Fernández-Martín, K., Martín-Quintal, Z., Torres-Romero, J. C., Lara-Riegos, J. C., Ramírez-Camacho, M. A., & Arana-Argáez, V. E. (2018). Immunomodulatory effects of the methanolic extract from *Pouteria*

campechiana leaves in macrophage functions. *Food and Agricultural Immunology*, 29(1). <https://doi.org/10.1080/09540105.2017.1386163>

Chávez-Pesqueira, M., & Núñez-Farfán, J. (2016). Genetic diversity and structure of wild populations of *Carica papaya* in Northern Mesoamerica inferred by nuclear microsatellites and chloroplast markers. *Annals of Botany*, 118(7). <https://doi.org/10.1093/aob/mcw183>

Christensen, M., Sunde, L., Bolund, L., & Ørntoft, T. F. (1999). Comparison of three methods of microsatellite detection. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 59(3). <https://doi.org/10.1080/00365519950185698>

Culley, T. M., & Wolfe, A. D. (2001). Population genetic structure of the cleistogamous plant species *Viola pubescens* Aiton (Violaceae), as indicated by allozyme and ISSR molecular markers. *Heredity*, 86(5). <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00875.x>

Dehmer, K. J., & Friedt, W. (1998). Development of molecular markers for high oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Industrial Crops and Products*, 7(2–3). [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(97\)00063-0](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(97)00063-0)

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW (2008) InfoStat, versión 2008. Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Córdoba, Argentina, Grupo InfoStat

Donhouedé, J. C. F., Marques, I., Salako, K. V., Assogbadjo, A. E., Ribeiro, N., & Ribeiro-Barros, A. I. F. (2023). Genetic and morphological diversity in populations of *Annona senegalensis* Pers. occurring in Western (Benin) and Southern (Mozambique) Africa. *PeerJ*, 11. <https://doi.org/10.7717/PEERJ.15767>

Duarte-Ubaldo I.E., Vargas-Magaña J.J. y Encalada-Mena L.A. (2020). “k’anisté” tree (*Pouteria campechiana*), the conservation of biodiversity and other ecosystem services In: Niño N., Valencia M. y García M. Eds. Sustentabilidad, Turismo y Educación. pp. 136-157. Handbooks vol. 2. ECORFAN-Mexico, Guerrero

Dussi, M.C. (2007). Intercepción y distribución lumínica en agroecosistemas frutícolas. In *Árboles Frutales: Ecofisiología, Cultivo y Aprovechamiento*; Sozzi, G.O., Ed.; Universidad de Buenos Aires: Buenos Aires, Argentina, pp. 200–241.

-
-
- Duy, L. Q. (2022). General characteristics of canistel (*Pouteria campechiana*) in Tra vinh province based on morphological features. *Journal of Southwest Jiaotong University*, 57(4). <https://doi.org/10.35741/issn.0258-2724.57.4.19>
- Elsayed, A. M., El-Tanbouly, N. D., Moustafa, S. F., Abdou, R. M., & el Awdan, S. A. W. (2016). Chemical composition and biological activities of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(16).
- Engels, J. M. M., Ebert, A. W., Thormann, I., & de Vicente, M. C. (2006). Centres of crop diversity and/or origin, genetically modified crops and implications for plant genetic resources conservation. In *Genetic Resources and Crop Evolution* (Vol. 53, Issue 8). <https://doi.org/10.1007/s10722-005-1215-y>
- Esquivel-Chi, M. C., Andueza-Noh, R. H., Ruíz-Sánchez, E., Gamboa-Angulo, M., Garruña, R., Herrera-Gorocica, A. M., Potter, D., Hernández-Núñez, E., & Dzib, G. R. (2024). Morphological characterization of *Malpighia glabra* L. fruits in two bioclimatic regions from Yucatán state. *Revista Polibotanica*, 58, 209-223. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.58.15>
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14(8). <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Excoffier, L., & Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3). <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- FAO. (2010). *Statistical yearbook*. <http://www.fao.org/3/am081m/am081m00.htm>
- Flores JS, Espejel I. (1994). Tipos de vegetación de la península de Yucatán. In: Flores JS, ed. *Etnoflora Yucatanense*. Mérida: Universidad Autónoma de Yucatán.
- Furano, A. v. (1999). DNA Markers: Protocols, Applications, and Overview. Edited by Gustavo Caetano-Anollés and Peter M. Gresshoff. *Analytical Biochemistry*, 274(1). <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4248>
- Gale, M. D. (1994). Genetic markers, maps and wheat breeding. *J. R. Agríc. Soc. Engl.*, 155:162-176.

-
- Gamba, D., & Muchhala, N. (2020). Global patterns of population genetic differentiation in seed plants. *Molecular Ecology*, 29(18). <https://doi.org/10.1111/mec.15575>
- Ganzhorn, SM., Thomas, WW., Gaiotto, FA., Lewis, JD. (2015). Spatial genetic structure of *Manilkara máxima* (Sapotaceae), a tree species from the Brazilian Atlantic forest. *J Trop Ecol* 31:437–447
- Gao, Q. H., Wu, P. te, Liu, J. R., Wu, C. sen, Parry, J. W., & Wang, M. (2011). Physico-chemical properties and antioxidant capacity of different jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) cultivars grown in loess plateau of China. *Scientia Horticulturae*, 130(1). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.005>
- Garrido-Garduño, T., & Vázquez-Domínguez, E. (2013). Genetic, spatial and connectivity methods of analysis in landscape genetics. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(3). <https://doi.org/10.7550/rmb.32500>
- Gascuel, O., & Steel, M. (2006). Neighbor-joining revealed. In *Molecular Biology and Evolution* (Vol. 23, Issue 11). <https://doi.org/10.1093/molbev/msl072>
- Ghislain, M., Andrade, D., Rodríguez, F., Hijmans, R. J., & Spooner, D. M. (2006). Genetic analysis of the cultivated potato *Solanum tuberosum* L. Phureja Group using RAPDs and nuclear SSRs. *Theoretical and Applied Genetics*, 113(8). <https://doi.org/10.1007/s00122-006-0399-7>
- Glowka, L., Burhenne, F., & Synge, H. (1996). Guía del Convenio sobre la Diversidad Biológica, UICN Gland y Cambridge. xii + 179pp.
- Gomes, J. E., Perecin, D., Martins, A. B. G., & Almeida, E. J. de. (2000). Variabilidade fenotípica em genótipos de acerola. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(11). <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2000001100012>
- González-Hernández, Dolores, García-Pérez, Eliseo y Guntin-Marey, Pablo. (2012). Caracterización genética de *Manilkara zapota* de Veracruz, México, con marcadores SSR. *Agrociencia*, 46 (7), 663-675.
- Granados-Vega, K. M., Evangelista-Lozano, S., Escobar-Arellano, S. L., Rodríguez-García, T., Pérez-Bárcena, J. F., & Cruz-Castillo, J. G. (2023). Harvest Season and Morphological Variation of *Canistel* (*Pouteria campechiana*) Fruit and Leaves Collected in Different Zones of Mexico. *Horticulturae*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/horticulturae9111214>

-
-
- Grassi, F., Labra, M., Imazio, S., Spada, A., Sgorbati, S., Scienza, A., & Sala, F. (2003). Evidence of a secondary grapevine domestication centre detected by SSR analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, 107(7). <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1321-1>
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1).
- Harlan, J. R. (1971). Agricultural origins: Centers and noncenters. *Science*, 174(4008). <https://doi.org/10.1126/science.174.4008.468>
- Hernández-Salinas, G., Soto-Estrada, A., García-Pérez, E., Pérez-Vázquez, A., Rocandio-Rodríguez, M., & Córdova-Téllez, L. (2019). In situ morphological variation of *Carica papaya* L. native to Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(1). <https://doi.org/10.35196/rfm.2019.1.47-55>
- Hernández-Verdugo, S., González-Rodríguez, A., Sánchez-Peña, P., Casas, A., & Oyama, K. (2006). ESTRUCTURA Y DIFERENCIACIÓN GENÉTICA DE POBLACIONES SILVESTRES Y DOMESTICADAS DE CHILE DEL NOROESTE DE MÉXICO ANALIZADA CON ISOENZIMAS Y RAPDs. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29(Especial_2). https://doi.org/10.35196/rfm.2006.especial_2.25
- Hernández-Villarreal, A. (2013). Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos MORPHOLOGICAL. *REVISTA BIO CIENCIAS*, 2(3). Délices, G., Leyva-Ovalle, O. R., Mota-Vargas, C., Núñez-Pastrana, R., Andrés-Meza, P., & Herrera-Corredor, J. A. (2021). Morphological Characterization of Wild Populations of *Solanum Lycopersicum* Var. *Cerasiforme* in the Tomato Domestication Area. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 33(4). <https://doi.org/10.9755/ejfa.2021.v33.i4.2684>
- Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T. J., Underwood, N., & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. In *Ecology Letters* (Vol. 11, Issue 6). <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x>
- Hughes, C. E., Govindarajulu, R., Robertson, A., Filer, D. L., Harris, S. A., & Bailey, C. D. (2007). Serendipitous backyard hybridization and the origin of crops. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(36). <https://doi.org/10.1073/pnas.0702193104>

-
- Jain, S. M., & Gupta, S. D. (2013). Biotechnology of neglected and underutilized crops. In *Biotechnology of Neglected and Underutilized Crops* (Vol. 9789400755000). <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5500-0>
- Jamnadass, R., Lowe, A., & Dawson, I. K. (2009). Molecular markers and the management of tropical trees: The case of indigenous fruits. *Tropical Plant Biology*, 2(1). <https://doi.org/10.1007/s12042-008-9027-9>
- Jimenez-Osornio, J., Ruenes-Morales, M. del R., & Montañez-Escalante, P. I. (1999). Agrodiversidad de los solares de la península de Yucatán. *Red de Gestión de Recursos Naturales, Segunda Ed* (14).
- Jiménez-Parra, J.E., Ortíz-García, M.M., Martínez-Castillo, J. (2024). Kanisté en la península de Yucatán, un tesoro frutal maya. *Desde el herbario CICY*, 16: 174-179
- Jiménez-Rojas, M. I., Martínez-Castillo, J., Potter, D., Dzib, G. R., Ballina-Gómez, H. S., Latournerie-Moreno, L., & Andueza-Noh, R. H. (2019). Morphological diversity of Huaya India fruits (*Melicoccus oliviformis* Kunth) in the Maya Lowlands. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 66(2). <https://doi.org/10.1007/s10722-018-00731-z>
- Kislev, M. E., Hartmann, A., & Bar-Yosef, O. (2006). Response to Comment on “Early Domesticated Fig in the Jordan Valley.” *Science*, 314(5806). <https://doi.org/10.1126/science.1133748>
- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., & Mayrose, I. (2015). Clumpak: A program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5). <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>
- Kordrostami, M., & Rahimi, M. (2015). Molecular markers in plants: Concepts and applications. In *Genetics in the Third Millennium* (Vol. 13, Issue 2).
- Krichen, L., Audergon, J. M., & Trifi-Farah, N. (2014). Variability of morphological characters among Tunisian apricot germplasm. *Scientia Horticulturae*, 179. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.054>
- Laakili, A., Belkadi, B., Medraoui, L., Alami, M., Yatrib, C., Pakhrou, O., Makhloufi, M., el Antry, S., Laamarti, A., & Filali-Maltouf, A. (2018). Diversity and spatial genetic structure of natural Moroccan *Quercus susber* L. assessed by ISSR markers for

-
-
- conservation. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24(4).
<https://doi.org/10.1007/s12298-018-0538-z>
- Ladizinsky, G. (1985). Founder effect in crop-plant evolution. *Economic Botany*, 39(2).
<https://doi.org/10.1007/BF02907844>
- Ladizinsky, G. (1998). Plant Evolution under Domestication. In *Plant Evolution under Domestication*. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-4429-2>
- León, J. (1987). Botánica de los cultivos tropicales. Instituto Interamericano para la Cooperación Agrícola (IICA). San José, Costa Rica. 445 p.
- Lev-Yadun, S., Ne'eman, G., Abbo, S., & Flaishman, M. A. (2006). Comment on "Early domesticated fig in the Jordan Valley". In *Science* (Vol. 314, Issue 5806).
<https://doi.org/10.1126/science.1132636>
- López, C., & Fulton, T. (2004). Tecnologías de Marcadores Moleculares para Estudios de Diversidad Genética de Plantas: Módulo de Aprendizaje. *International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI)*.
- López-Barrera, G., Ochoa-Zavala, M., Quesada, M., Harvey, N., Núñez-Farfán, J., González-Rodríguez, A., Rocha-Ramírez, V., & Oyama, K. (2021). Genetic imprints of *Brosimum alicastrum* Sw. in Mexico. *American Journal of Botany*, 108(9).
<https://doi.org/10.1002/ajb2.1725>
- Lynch, M., & Milligan, B. G. (1994). Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*, 3(2). <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1994.tb00109.x>
- manejo y riesgos. (Primera). Asociación Mexicana de Estudios sobre el Karst.*
- Mars, M., & Marrakchi, M. (1999). Diversity of pomegranate (*Punica granatum* L.) germplasm in Tunisia. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 46(5).
<https://doi.org/10.1023/A:1008774221687>
- Martínez-Castillo, J., Blancarte-Jasso, N. H., Chepe-Cruz, G., Nah-Chan, N. G., Ortiz-García, M. M., & Arias, R. S. (2019). Structure and genetic diversity in wild and cultivated populations of Zapote mamey (*Pouteria sapota*, Sapotaceae) from southeastern Mexico: its putative domestication center. *Tree Genetics and Genomes*, 15(4). <https://doi.org/10.1007/s11295-019-1368-z>
-

-
- Martínez-Castillo, Jaime. (2005). *Diversidad intraespecífica de Phaseolus lunatus L. e intensificación de la agricultura tradicional en la península de Yucatán, México* (Tesis de Doctorado, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C). Retrieved from <https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/306>
- Martínez-Ramos, M., & Álvarez-Buylla, E. (1995). Ecología de las poblaciones de plantas en una selva húmeda de México. *Botanical Sciences*, 56. <https://doi.org/10.17129/botsci.1469>
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M. M., Sanchez, J. G., Buckler, E., & Doebley, J. (2002). A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(9). <https://doi.org/10.1073/pnas.052125199>
- Meirmans, P. G. (2015). Seven common mistakes in population genetics and how to avoid them. In *Molecular Ecology* (Vol. 24, Issue 13). <https://doi.org/10.1111/mec.13243>
- Miller, A. J., & Gross, B. L. (2011). From forest to field: Perennial fruit crop domestication. In *American Journal of Botany* (Vol. 98, Issue 9). <https://doi.org/10.3732/ajb.1000522>
- Miller, A. J., & Schaal, B. A. (2006). Domestication and the distribution of genetic variation in wild and cultivated populations of the Mesoamerican fruit tree *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae). *Molecular Ecology*, 15(6). <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.02834.x>
- Miranda F. 1958. Estudios acerca de la vegetación. In: Beltran E, ed. Los Recursos Naturales del Sureste y su Aprovechamiento. Tomo II: 215-271. Ciudad de México: Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables.
- Morton J. F. (1987). Fruits of warm climates. Miami, Florida. Julia F. Morton, USA 505 pp
- Moustafa, S., Hegazi, G., Gabr, M., El-Mekawey, M., & Belal, A. (2017). GENETIC DIVERSITY OF NATURAL POPULATIONS OF *Moringa peregrina* IN EGYPT. *Sinai Journal of Applied Sciences*, 6(2). <https://doi.org/10.21608/sinjas.2017.78692>
- Munsell Colour Company. (1975). Munsell Soil Colour Charts. In *Geoderma* (Vol. 48, Issue 199).
- Nimbalkar, S. D., Jade, S. S., Kauthale, V. K., Agale, S., & Bahulikar, R. A. (2018). Genetic diversity in the candidate trees of *Madhuca indica* J. F. Gmel. (Mahua) revealed by

-
-
- inter-simple sequence repeats (ISSRs). 3 *Biotech*, 8(3).
<https://doi.org/10.1007/s13205-018-1168-4>.
- Núñez, I., González-Gaudiano, É., & Barahona, A. (2003). La biodiversidad: Historia y contexto de un concepto. *Interciencia*, 28(7).
- Nur, M. A., Khan, M., Biswas, S., Hossain, K. M. D., & Amin, M. Z. (2022). Nutritional and biological analysis of the peel and pulp of *Pouteria campechiana* fruit cultivated in Bangladesh. *Journal of Agriculture and Food Research*, 8.
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100296>
- Oliveira, E. J., Pádua, J. G., Zucchi, M. I., Vencovsky, R., & Vieira, M. L. C. (2006). Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. In *Genetics and Molecular Biology* (Vol. 29, Issue 2). <https://doi.org/10.1590/S1415-47572006000200018>
- Olsen, K. M., & Schaal, B. A. (2001). Microsatellite variation in cassava (*Manihot esculenta*, Euphorbiaceae) and its wild relatives: Further evidence for a southern Amazonian origin of domestication. *American Journal of Botany*, 88(1).
<https://doi.org/10.2307/2657133>
- Orellana, R., Balam, M., Bañuelos, I., García, E., González-Iturbide, J., Herrera, F., & Vidal, J. (1999). *Atlas de procesos territoriales de Yucatán* (R. Orellana, M. Balam, I.
- Ouédraogo, S., Bondé, L., Ouédraogo, O., Ouédraogo, A., Thiombiano, A., & Boussim, I. J. (2020). To What Extent Do Tree Size, Climate and Land Use Influence the Fruit Production of *Balanites aegyptiaca* (L) Delile in Tropical Areas (Burkina Faso)? *International Journal of Fruit Science*, 20(3).
<https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1619216>
- Padulosi, S., & Hoeschle-Zeledon, I. (2004). ¿A qué denominamos especies subutilizadas? *LEISA Revista de Agroecología*.
- Pai, A., & Chandrakala Shenoy, K. (2021). In-vitro antidiabetic activity of methanolic extract of leaves and fruits of *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni. *Biomedicine* (India), 41(4). <https://doi.org/10.51248/V41I4.732>
- Parra, F., & Casas, A. (2016). Origen y difusión de la domesticación y la agricultura en el Mundo. In *Domesticación en el continente americano* (Vol. 1).

-
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). GenALEX 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
- Pennington T. y Sarukhan J. (2005). Árboles Tropicales de México. Manual para la identificación de especies. México: FCE-UNAM. 523 pp.
- Perales-Rivera, H. R. y J. R. Aguirre-Rivera 2008. Biodiversidad humanizada. In: Soberón, J., G. Halffter y J. Llorente-Bousquets (comps.). Capital natural de México, Vol. 1: Conocimiento actual de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F., México. Pp. 565-603.
- Pérez-García, J. N. (2020). Causas de la pérdida global de biodiversidad. *Revista de La Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*. <https://doi.org/10.47499/revistaaccb.v1i32.219>
- Perrier, X., & Jacquemoud-Collet, J. (2006). DARwin. Retrieved October 30, 2017, from Retrieved October 30, 2017, from <http://darwin.cirad.fr/feedback.php>
- Piñero, D. (2008). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. In *Capital Natural de México: Vol. I* (Issue March 2016).
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2). <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Purugganan, M. D., & Fuller, D. Q. (2009). The nature of selection during plant domestication. In *Nature* (Vol. 457, Issue 7231). <https://doi.org/10.1038/nature07895>
- Quesada, P. (2003). Distribución y variabilidad del zapotillo (*Pouteria campechiana*) en Costa Rica. Costa Rica.
- Quijano, C., & Prieto, Z. (2020). Genetic variability in *Pouteria lucuma* using ISSR markers. *Manglar*, 17(1). <https://doi.org/10.17268/manglar.2020.002>
- Rennó, AVC. (2007). Desenvolvimento e aplicações de microsátélites, análise de cpDNA e modelagem computacional para estudos de estrutura e dinâmica genética de macaranduba –*Manilkara huberi* (Ducke) Standl. Sapotáceas. Dissertação. Universidade de Brasília, Brasil.

-
- Rieger, R., A. Michealis & M. M. Green (1982). Diccionario de Genética y Cito genética Clásica y Molecular. Alhambra, Madrid.
- Rodríguez Velázquez, J., Sinaca Colín, P., & Jamangapé García, G. (2009). Frutos y semillas de árboles tropicales de México. In *Frutos y semillas de árboles tropicales de México*. <https://doi.org/10.22201/iies.0000002e.2009>
- Rodríguez-Medina, N. N.; Rohde, W.; González-Arencibia, C.; Ramírez-Pérez, M.; Fuentes-Lorenzo, J. L.; Román-Gutiérrez, M. A.; Xiqués-Martín, X.; Becker, D. y Velázquez-Palenzuela, J. B. (2003). Caracterización morfológica, bioquímica molecular de cultivares de aguacatero (*Persea americana* Mill) en Cuba. In: V Congreso Mundial del Aguacate. Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Granada, Málaga. 1:47-53
- Román Montes de Oca, E., García Flores, A., & Licea Resendiz, J. E. (2021). Importancia de los árboles frutales de traspatio como estrategia de vida en comunidades rurales en México. *Bioagrocencias*, 14 (1). <https://doi.org/10.56369/bac.3785>
- Ruenes R., Escalante P., Ancona J. y Ek I. (2015). Los frutales abandonados y subutilizados en la península de Yucatán. México: Gráfica Peninsular. 39 pp
- Rzedowski, J. (1978). Capítulo 11. Bosque tropical subcaducifolio. In *Vegetación de México*.
- Sander, N. L., da Silva, C. J., Duarte, A. V. M., Zago, B. W., Galbiati, C., Viana, I. G., de Arruda, J. C., Dardengo, J. E., Poletine, J. P., Siqueira Leite, M. H., de Souza, M. H. S., de Oliveira, R. F., Guimarães, T. S., da Silva, V. P., & Barelli, M. A. A. (2020). The influence of environmental features on the morphometric variation in *Mauritia flexuosa* L.F. fruits and seeds. *Plants*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/plants9101304>
- Sarwat, M. (2012). ISSR: A reliable and cost-effective technique for detection of DNA polymorphism. *Methods in Molecular Biology*, 862. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-609-8_9
- Saucero-Hernández, R. (2018). *Cambios físicos, químicos, fisiológicos y funcionales durante el crecimiento del fruto de zapote mamey (Pouteria sapota (Jacq.) H. E. Moore & Stearn)*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Schemske, D. W., Husband, B. C., Ruckelshaus, M. H., Goodwillie, C., Parker, I. M., & Bishop, J. G. (1994). Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. *Ecology*, 75(3). <https://doi.org/10.2307/1941718>

-
- Schroeder, J. W., Tran, H. T., & Dick, C. W. (2014). Fine scale spatial genetic structure in *Pouteria reticulata* (Engl.) Eyma (Sapotaceae), a dioecious, vertebrate dispersed tropical rain forest tree species. *Global Ecology and Conservation*, 1. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2014.07.002>
- Senior, M. L., Murphy, J. P., Goodman, M. M., & Stuber, C. W. (1998). Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Science*, 38(4). <https://doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183X003800040034x>
- Seto, S. W., Lam, H. Y., Lau, W. S., Au, A. L. S., Lam, T. Y., Chim, S. S. C., Ngai, S. M., Chan, S. W., Leung, T. Y., Yeung, J. H. K., Kong, S. K., Leung, G. P. H., Lee, S. M. Y., & Kwan, Y. W. (1998). La diversidad biológica de México: Estudio de País. *European Journal of Pharmacology*, 605(1–3).
- Shakoor, A., Zaib, G., Zhao, F., Li, W., Lan, X., & Esfandani-Bozchaloyi, S. (2022). Retraction: ISSR markers and morphometry determine genetic diversity and population structure in *Hedera helix* L. (Czech J. Genet. Plant Breed., (2022), 58(2), (73-82), 10.17221/93/2021-CJGPB). In *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* (Vol. 58, Issue 4). <https://doi.org/10.17221/73/2022-CJGPB>
- Sierra Jiménez, C. L., Sosa Ramírez, J., Cortés-Calva, P., Solís Cámara, A. B., Íñiguez Dávalos, L. I., & Ortega-Rubio, A. (2014). México país megadiverso y la relevancia de las áreas naturales protegidas Mexico a megadiverse country and the importance of natural protected areas. *Investigación y Ciencia*, 60.
- Singh, R. B., Singh, S. P., Mishra, N., Singh, R. K., & Sharma, M. L. (2024). Evaluation of genetic diversity using biochemical markers in sugarcane germplasm collection. *Vegetos*, 37(4). <https://doi.org/10.1007/s42535-023-00708-z>
- Smulders, M. J. M., Bredemeijer, G., Rus-Kortekaas, W., Arens, P., & Vosman, B. (1997). Use of short microsatellites from database sequences to generate polymorphisms among *Lycopersicon esculentum* cultivars and accessions of other *Lycopersicon* species. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(2). <https://doi.org/10.1007/s001220050409>
- Solís-Ramos, L. Y., & Andrade-Torres, A. (2005). ¿Qué son los marcadores moleculares? *La Ciencia y El Hombre*, 18(1): 41-46.

-
-
- Srivastava, S., Aspak, Mukherjee, S., Datta, S., Burman, S., Rana, M., Kumar, R., Komala, K., Karnwal, A., Kumar, S., Shukla, M., & Kumar, R. (2023). Microsatellite markers for crop improvement: A review. In *Journal of Applied and Natural Science* (Vol. 15, Issue 3). <https://doi.org/10.31018/jans.v15i3.4615>
- Srivastava, S., Aspak, Mukherjee, S., Datta, S., Burman, S., Rana, M., Kumar, R., Komala, K., Karnwal, A., Kumar, S., Shukla, M., & Kumar, R. (2023). Microsatellite markers for crop improvement: A review. In *Journal of Applied and Natural Science* (Vol. 15, Issue 3). <https://doi.org/10.31018/jans.v15i3.4615>
- Sud, S., Bains, N. S., & Nanda, G. S. (2005). Genetic relationships among wheat genotypes, as revealed by microsatellite markers and pedigree analysis. *Journal of Applied Genetics*, 46(4).
- Tedlock D. (1996). *Popol Vuh: The Definitive Edition of the Mayan Book of the Dawn of Life and The Glories of Gods and Kings*. Simon & Schuster. New York, USA. 71 pp.
- Tellería, J. L. (2013). Pérdida de biodiversidad. Causas y consecuencias de la desaparición de las especies. *Memorias de La Real Sociedad Española de Historia Natural*, 10.
- Tran, H. X., Huynh, H. L., & Nguyen, T. T. (2021). Effect of Hydrolysis on Tannin and Carotenoid Contents, and Antioxidant Activity of *Pouteria campechiana*. *International Journal of Agricultural Sciences*, 4(1). <https://doi.org/10.25077/ijasc.4.1.1-7.2020>
- Vavilov, N. I. 1951. Estudios sobre el origen de las plantas cultivadas. Traducción del trabajo aparecido en *Bulletin of Applied Botany and Plant Breeding* XVI (2), Leningrado, 1926. ACME Agency, Soc. de Resp. Ltda. Buenos Aires, Argentina. Pp. 1-126.
- Vihotogbé, R., van den Berg, R. G., & Sosef, M. S. M. (2013). Morphological characterization of African bush mango trees (*Irvingia species*) in West Africa. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(4). <https://doi.org/10.1007/s10722-013-9969-0>
- Villanueva, S. (2017). Estructura genética de *Vanilla planifolia* Andrews silvestre en la península de Yucatán, México: Implicaciones para la conservación de la especie. (Tesis de Doctorado, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C). Retrieved from <https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/855>
- Wuerthner, G., & Primack, R. B. (1994). Essentials of Conservation Biology. *Journal of Range Management*, 47(4). <https://doi.org/10.2307/4002555>

-
- Yatrib, C., Belkadi, B., Medraoui, L., Pakhrou, O., Alami, M., el Mousadik, A., Ferradous, A., Msanda, F., el Modafar, C., Souda-Kouraichi, S. I., & Filali-Maltouf, A. (2017). Genetic diversity and population structure of the endangered argan tree (*Argania spinosa* L. Skeels) in morocco as revealed by SSR markers: Implication for conservation. *Australian Journal of Crop Science*, 11(10). <https://doi.org/10.21475/ajcs.17.11.10.pne602>
- Yunli, W., Yangyang, W., Wenlong, X., Chaojie, W., Chongshi, C., & Shuping, Q. (2020). Genetic diversity of pumpkin based on morphological and SSR markers. *Pakistan Journal of Botany*, 52(2). [https://doi.org/10.30848/PJB2020-2\(6\)](https://doi.org/10.30848/PJB2020-2(6))
- Zalta, E. N., Nodelman, U., Allen, C., & Lanier Anderson, R. (2002). Stanford Encyclopedia of Philosophy Environmental Ethics. *First Published Mon Jun*, 3(21).
- Zhiminaicela-Cabrera, J. B., Quevedo-Guerrero, J. N., Herrera Reyes, S. N., Sánchez Quinche, A. R., & Bermeo-Gualan, L. Y. (2020). Estudio Etnobotánico de plantas medicinales e importancia de conservar las especies vegetales silvestres del cantón Chilla, Ecuador *Ethnoscintia - Brazilian Journal of Ethnobiology and Ethnoecology*, 5 (1). <https://doi.org/10.18542/ethnoscintia.v5i1.10296>
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2). <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>

ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de extracción de ADN usando el Plant Mini Kit QIAGEN siguiendo el manual del fabricante

Pasos previos

- Precaliente un baño de agua o bloque de calentamiento a 65 ° C.
- Cuando haya alcanzado la temperatura se coloca el buffer AE.
- Se hace hielo.
- Se etiquetan los tubos Eppendorf de 1.5 ml.

Protocolo

1. Macerar las hojas en un polvo fino bajo nitrógeno líquido usando un mortero y pistilo de mano, adicionar una pizca de PVP y pasar el polvo fino en un tubo de 2 ml
2. Añadir 1000 µl del Buffer de AP1 y mezclar perfectamente hasta homogenizar
3. Añadir 5 µl de betamercapto
4. Adicionar 0.5 µl de Rnasa (100 µg/ml) e incubar 5 minutos a temperatura ambiente
5. Incubar una hora a 65 °C (mezclar por inmersión cada 5 minutos)
6. Adicionar 130 µl de Buffer P3 e incubar 5 minutos en hielo. Nota: se dejó una hora a -20 °C
7. Centrifugar a 14 000 rpm por 25 minutos. Nota: recolectar 700 µl del sobrenadante, pasar a un tubo Eppendorf y centrifugar a 14 000 rpm por 5 minutos
8. Transferir el sobrenadante a un tubo lila y centrifugar a 14 000 rpm por 2 minutos
9. Transferir 550 µl del sobrenadante a un tubo Eppendorf de 1.5 ml
10. Agregar 1.5 volúmenes de Buffer AW1 por cada 100 µl del sobrenadante, luego mezclar. Ejemplo $600 \times 1.5 = 900$ µl de W1
11. Transferir 600 µl de la mezcla del paso anterior a un tubo blanco y centrifugar a 8000 rpm por un minuto
12. Se retira la columna, se desecha el sobrenadante y el tubo colector se seca con papel, se coloca de nuevo la columna.
13. Se repite el paso 11 con lo que sobró de la muestra obtenida del paso 10.
14. Se retira la columna se desecha el sobrenadante y la columna se coloca en un nuevo tubo colector
15. Agregar 500 µl del Aw2 y centrifugar a 8000 rpm por un minuto, desechar el sobrenadante
16. Se repite el paso 15 y centrifugar a 14 000 rpm por dos minutos

-
17. Transferir la columna blanca a un tubo Eppendorf de 1.5 ml y agregar 75 μ l de buffer AE directamente con la membrana, incubar 5 minutos a temperatura ambiente, centrifugar a 8000 rpm por un minuto
 18. Guardar en refrigeración -20 °C hasta el momento de uso

Anexo 2. Protocolo de la técnica de tinción con plata (AgNO_3) para revelar los geles de poliacrilamida

1. Sumergir el gel en una solución de ácido acético al 10% (200 ml de ácido acético y 1800 ml de agua destilada) en agitación por 20 minutos.
2. Lavar el gel 2 veces con agua destilada durante 2 minutos por cada lavado, agitación
3. Sumergir el gel en una solución de nitrato de plata (AgNO_3) durante 20 minutos, en agitación.
(2 L de agua destilada + 2 g de AgNO_3 + 3 ml de formaldehído)
4. Dar una lavada rápida al gel pasándolo por una bandeja con agua destilada
5. Revelar agitándolo manualmente en una bandeja con una solución de carbonato de sodio (2 L de agua destilada fría + 60 g de NaCO_3 + 3 ml de formaldehído + 60 μl de tiosulfato de sodio) primero usando 1 litro y luego el litro restante.
6. Una vez reveladas las bandas, detener el revelado sumergiendo el gel en ácido acético al 10% por 3 segundos aproximadamente.
7. Lavar el gel con agua destilada por 20 minutos en agitación

Anexo 3. Variabilidad morfológica de los frutos de *Pouteria campechiana* en la península de Yucatán, México, documentada en este estudio.

