



**RELACIONES GENÉTICAS DEL AGUACATE (*Persea americana* Mill.)
EN SIETE MUNICIPIOS DEL CENTRO DE VERACRUZ,
CARACTERIZADAS CON MICROSATÉLITES**

**[GENETIC RELATIONSHIPS WITHIN AVOCADO (*Persea americana*
Mill.) IN SEVEN MUNICIPALITIES OF CENTRAL VERACRUZ,
CHARACTERIZED USING MICROSATELLITE MARKERS]**

**Ma. Elena Galindo-Tovar^{1*}, Pedro Arnulfo Milagro-Pérez¹, Jorge Alberto
Alejandre-Rosas², Otto Raúl Leyva-Ovalle¹, Ivonne Landero-Torres¹, Hilda
Lee-Espinosa¹ y Joaquín Murguía-González¹**

¹Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias-
Córdoba. Camino Peñuela-Amatlán, Peñuela, Amatlán de los Reyes, Veracruz,
México.

²Universidad Veracruzana, Laboratorio de Alta Tecnología de Orizaba. Calle
Norte 32, C.P. 94300, Orizaba, Veracruz, México.

*Autor para correspondencia: megalindo@uv.mx

RESUMEN

México es el primer productor y consumidor de aguacate a nivel mundial. Las condiciones eco-topográficas de la zona Centro del estado de Veracruz y la distribución natural del género *Persea*, convierten el área en un gran acervo genético del aguacate. Debido a que esta especie presenta un alto grado de hibridación, la evaluación de las relaciones genéticas permite distinguir diferentes taxa e identificar material promisorio para programas de mejoramiento. El objetivo fue analizar las relaciones genéticas de *Persea americana* en la zona Centro del estado de Veracruz, mediante microsatélites. Se analizaron muestras foliares de 44 árboles ubicados en siete localidades; se realizó extracción de ADN y su amplificación utilizando iniciadores para microsatélites. Los datos se analizaron con el programa PopGene 3.2. Todas las localidades resultaron polimórficas, y aunque mostraron baja diferenciación genética, en el dendrograma se observaron dos grupos definidos por características de altitud, clima y suelo.

Palabras clave: *Persea americana*; diversidad genética; marcadores moleculares.

INTRODUCCIÓN

Persea americana Mill. (aguacate) pertenece a la familia Lauraceae, ampliamente distribuida en el mundo, especialmente en Asia y América. El aguacate se caracteriza por presentar una gran diversidad morfológica (Rowher, 2000). Su filogenia ha sido difícil de estudiar, por lo que las relaciones dentro de

SUMMARY

Mexico is the main producer and consumer of avocado worldwide. The eco-topographic conditions of the Central zone of Veracruz state and natural distribution of the *Persea* genus, make this area an important genetic pool of avocado. Due to the high degree of hybridization present on this species, evaluation of genetic relationships allows taxa differentiation, and identification of promising material for genetic improvement programs. The objective was to use microsatellites to analyse *Persea americana* genetic relationships in the Central area of Veracruz State. Forty four foliar samples from trees of seven localities were analysed; the DNA was extracted and amplified using microsatellite primers. Data were analyzed with PopGene 3.2 program. All localities were polymorphic, and although genetic differentiation was low, the dendrogram showed two groups defined by altitude, climate and soil characteristics.

Key words: *Persea americana*; genetic diversity; molecular markers.

la familia aún no se han definido totalmente, y por lo tanto, su taxonomía y nomenclatura son poco claras. Se ubica el origen del aguacate en Mesoamérica (Kopp, 1966; Storey *et al.*, 1986; Bergh, 1992), aunque en una reciente revisión, Galindo-Tovar y Arzate-Fernández (2010) proponen la zona de la Sierra Nevada como su área de origen.

Las relaciones filogenéticas del aguacate han sido estudiadas con diversos marcadores moleculares: RFLPs (Furnier *et al.*, 1990; Davis *et al.*, 1998), minisatélites y microsátélites (Mhameed *et al.*, 1997; Ashworth y Clegg, 2003; Schnell *et al.*, 2003) y RAPDs (Fielder *et al.*, 1998). Sin embargo, estos estudios se han dificultado debido a la complejidad genética y a la evolución reticulada de la especie, principalmente debido a la selección y a los múltiples cruzamientos entre las distintas variedades (Galindo-Tovar, 2008). Los ambientes variados en los que el aguacate ha evolucionado y las diversas formas en que ha sido manejado por diferentes culturas, han producido la gran diversidad de genotipos que actualmente se conocen (Chen *et al.*, 2009).

Debido a la importancia de la hibridación en el aguacate y a su evolución reticulada, las relaciones genéticas deben ser estudiadas con métodos que capturen la diversidad genética, y que incluyan los de inferencia histórica. Gutiérrez-Díez *et al.* (2009), al utilizar AFLPs indicaron la necesidad de usar marcadores más específicos como SSRs para diferenciar variedades de aguacate de raza mexicana.

El rápido grado de evolución de los microsátélites permite que sean marcadores confiables en estudios de taxa con relaciones genéticas cercanas. Además, para obtener un panorama general de la historia y potencial evolutivo del aguacate, los datos de loci nucleares son esenciales. De acuerdo con Sunnucks (2000), los microsátélites son marcadores efectivos para estudiar

la historia de poblaciones, analizar sus relaciones evolutivas, de especiación y en la reconstrucción filogenética.

La zona Centro del estado de Veracruz, México, se caracteriza por presentar condiciones eco-topográficas idóneas para el desarrollo de las lauráceas, a las que se ha considerado como indicadoras de ecosistemas, como es el caso de los bosques mesófilos de montaña (Barrientos-Priego, 2010). Dado que la zona Centro del estado de Veracruz se caracteriza por presentar variantes de este tipo de ecosistema, y debido a la gran diversidad de tipos de aguacate conocidos, se decidió realizar el presente estudio en esta área. El objetivo de esta investigación fue analizar las relaciones genéticas de *P. americana* en siete localidades de la zona Centro del estado de Veracruz, mediante iniciadores para microsátélites.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la zona Centro del estado de Veracruz. Se llevó a cabo una recolecta al azar en la población de aguacates. Se tomaron en total 60 muestras foliares de *P. americana* de siete localidades, pertenecientes a siete municipios: Maltrata, Nogales, Ixtaczoquitlán, Tomatlán, Tequila, Orizaba y Huatusco (Tabla 1). Las muestras de Tomatlán correspondieron a árboles en condiciones fuera de cultivo. En las otras seis localidades, las muestras fueron tomadas en árboles de traspatio, en condiciones de semicultivo.

Tabla 1. Ubicación de las siete localidades de Veracruz, México, donde se obtuvieron muestras de aguacate (*Persea americana*) para el estudio.

Municipio	Localidad	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (msnm)	Núm. de muestras
Maltrata	Maltrata	18.80	97.27	2305	10
Nogales	Cecilio Terán	18.79	97.22	1480	10
Ixtaczoquitlán	Ixtaczoquitlán	18.85	97.07	1107	7
Tomatlán	Tecama	19.00	96.59	1179	8
Tequila	Tequila	18.43	97.03	1790	10
Orizaba	Orizaba	18.51	97.05	1215	7
Huatusco	Huatusco	19.15	96.95	1340	8

Las muestras correspondieron a hojas jóvenes y libres de cualquier agente patógeno, se deshidrataron en gel de sílice y se guardaron en bolsas de polietileno cerradas herméticamente para su conservación hasta el momento de su análisis. Para cada muestra foliar se tomaron datos de altitud, coordenadas geográficas, así como las características principales del árbol del que fue tomada la muestra, del fruto, tipo de vegetación,

etc. De igual manera, se registró una memoria fotográfica de cada individuo muestreado.

El análisis molecular se realizó en el Laboratorio de Alta Tecnología de Orizaba, perteneciente a la Universidad Veracruzana. Para la extracción de ADN se utilizó el paquete Qiagen DNeasy Plant Mini Kit. Para incrementar la cantidad de ADN de extracción se

aumentó el peso de muestra de 25 mg recomendados a 35 mg; la cantidad de buffer de elución AE también se incrementó de 100 a 125 μL . La integridad del ADN extraído se evaluó por electroforesis en geles de agarosa al 1 %, y se visualizó en un transiluminador ultravioleta. La cuantificación del ADN se realizó por espectrofotometría, mediante un Biophotometer Eppendorf, en el laboratorio LADISER de la Facultad de Ciencias Químicas-Orizaba de la Universidad Veracruzana. Las muestras de ADN se diluyeron a 10 $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ y se almacenaron a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ para su posterior uso. Para la amplificación del ADN se realizaron pruebas con siete iniciadores reportados por Ashworth *et al.* (2004), siete por Schnell *et al.* (2003) y siete por Borrone *et al.* (2006). Se escogieron los cuatro que presentaron mayor polimorfismo y alto grado de heterocigosidad (SHRSPa056, SHRSPa089, SHRSPa109, SHRSPa111).

Con los datos obtenidos se construyó una matriz, la cual se analizó mediante el software PopGen versión 3.2. Entre los parámetros genéticos a estimar se consideraron: porcentaje de loci polimórficos (P_s), diversidad genética entre las localidades, porcentaje de heterocigosidad observada y esperada, y porcentaje de polimorfismo. El dendrograma se basó en las distancias genéticas según Nei (1987), para grupos; se utilizó el método jerárquico aglomerativo UPGMA (Unweighted Paired Group Method using Arithmetic Averages).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a su gran variabilidad fenotípica y al gran número de híbridos entre las diferentes variedades de aguacate, en estudios anteriores utilizando microsatélites la identificación de genotipos ha resultado ambigua, por lo que ha sido difícil designar la composición racial (Ashworth y Clegg, 2003). Por esta razón, y de acuerdo con Van der Werff (2002), en el presente estudio se hace referencia a *P. americana* en el sentido amplio, sin remitirse a razas hortícolas o variedades.

Como resultado de las pruebas de amplificación para 21 iniciadores, se escogieron cuatro iniciadores para microsatélites reportados por Borrone *et al.* (2006). De acuerdo a los autores, éstos mostraron buena amplificación, alta heterocigosidad y alto número de alelos (15 a 17 por locus). Sin embargo, en esta investigación se encontró que en algunos individuos no hubo amplificación con algunos pares de iniciadores, lo que concuerda con Ashworth *et al.* (2004) y Borrone *et al.* (2009), quienes además mencionaron problemas de barrido en las bandas.

Siguiendo la recomendación de Mohammadi y Prasanna (2003), se consideraron nulos para el análisis estadístico los iniciadores que se tuvo la certeza de no amplificación. Con este criterio, el número inicial de muestras para el análisis estadístico se redujo a aquellas que amplificaron para los cuatro iniciadores utilizados (44 muestras).

De los cuatro pares de iniciadores para microsatélites seleccionados para analizar la diversidad genética de 44 muestras foliares de *P. americana*, todos fueron polimórficos, con un total de 43 alelos y un promedio de 10.75 alelos por locus. Las siete localidades generaron patrones de bandas que permitieron identificar a seis de ellas con al menos uno de los locus. Todas las localidades analizadas fueron polimórficas; las localidades de Tecama y Huatusco presentaron el menor porcentaje, con 75 %; Maltrata, Cecilio Terán, Ixtaczoquitlán y Orizaba mostraron polimorfismo del 100 %. La localidad de Maltrata presentó el mayor número de alelos específicos (42 %), mientras que Ixtaczoquitlán y Huatusco sólo presentaron un alelo específico (8 y 12 %, respectivamente). El hecho de que la localidad de Maltrata haya presentado el mayor número de alelos y al mismo tiempo la mayor cantidad de alelos únicos sugiere que la selección en otras localidades puede haber resultado en la pérdida de algunos alelos.

Por otro lado, la localidad de Tecama fue la única que compartió todos los alelos identificados. Esto, aunado a la gran diversidad de frutos observada, indica la posibilidad de considerar a esta localidad de aguacates sin cultivar como probable centro de dispersión. Sin embargo, en Tecama se observaron alelos nulos en los cuatro iniciadores, por lo que fue necesario reducir la muestra hasta cuatro individuos. Aunque no hay reportes de este tipo para aguacate, en un estudio de flujo genético en esta especie Birnbaum *et al.* (2003) utilizaron siete árboles por huerto; Miller y Schaal (2005) en un estudio de domesticación de *Spondias purpurea* utilizaron muestras entre 5 y 13 árboles por localidad, por lo que consideramos necesario ampliar el tamaño de la muestra, así como el número de iniciadores, en este tipo de estudios.

El mayor número de alelos fue para los pares de iniciadores SHRSPa056 y SHRSPa111 con 12 y el menor fue para SHRSPa089 con ocho. La longitud de los alelos observados estuvo entre 86 y 121 pb, de acuerdo con lo reportado por Borrone *et al.* (2006).

La heterocigosidad observada fue menor que la esperada. En cuanto al índice de heterocigosidad observada (Tabla 2), la población de Maltrata presentó

un promedio de 0.4194, el más alto de las poblaciones estudiadas; la localidad de menor promedio fue Tecama, con 0.0625. Si se considera que la heterocigosidad es una medida de la diversidad genética, estos índices indican baja diversidad genética, especialmente si se compara con trabajos similares, como el de Asworth y Clegg (2003), quienes obtuvieron heterocigosidad de 0.635.

De acuerdo con Chen *et al.* (2009), los resultados de este trabajo indican que de manera consciente o inconsciente, la diversidad genética de *P. americana* se está reduciendo a través de la selección y/o domesticación. Debido a que el porcentaje de polimorfismo es alto, es necesario considerar las hibridaciones en los programas de mejoramiento genético.

Los datos de los microsatélites para el análisis por distancia genética de las siete localidades estudiadas

generaron el dendrograma de la Fig. 1, en el que se observan dos grupos principales. En el grupo uno se integraron tres localidades: Maltrata, Huatusco y Tequila; en el grupo dos Cecilio Terán, Orizaba, Ixtaczoquitlán y Tecama. Una característica común a las localidades del grupo uno es la altitud, ya que los árboles de aguacate de las tres localidades se desarrollan a altitudes entre 1300 y 2300 msnm. Ohsawa e Ide (2007), indican que la altitud es un referente para estimar la diversidad genética, pues un alelo en particular permite mostrar diferenciación entre poblaciones, como resultado de la selección natural sobre la altitud. Aunque en aguacate no ha sido común separar grupos por variables como altitud y latitud, los resultados obtenidos en este estudio coinciden con lo encontrado por Chen *et al.* (2008), quienes reportaron diferenciación genética en aguacate debida a estos factores.

Tabla 2. Parámetros de diversidad genética del aguacate (*Persea americana*) en siete localidades muestreadas en Veracruz, México.

Población	Heterosis observada	Heterosis esperada	Número de loci polimórficos
Maltrata	0.4194	0.6767	4
Cecilio Terán	0.2882	0.7499	4
Ixtaczoquitlán	0.1500	0.6571	4
Tecama	0.0625	0.4554	3
Tequila	0.1741	0.5920	4
Orizaba	0.3125	0.7857	4
Huatusco	0.2500	0.5119	3

En el grupo dos se encuentran aguacates de tres localidades con altitud menor a 1250 msnm (Orizaba, Ixtaczoquitlán y Tecama); sin embargo, la localidad de Cecilio Terán con altitud de 1480 msnm, se ubicó en este grupo, lo que muestra cualidades de una población con flujo genético.

La separación de dos grupos bien definidos en el dendrograma se explica si se toma en consideración el valor "Fst", que permite evaluar la diferenciación entre y dentro poblaciones (Mohammadi y Prasanna, 2003). En las localidades estudiadas, el valor Fst fue 0.2782, que sugiere poca diferenciación, ya que valores iguales a cero indican poblaciones idénticas y valores iguales a uno indican que se han fijado alelos diferentes. Por otro lado, la integración de la localidad de Cecilio Terán en el grupo dos probablemente obedece a su cercanía geográfica con Orizaba e Ixtaczoquitlán. El valor de Nm indica flujo genético moderado,

representa la posibilidad de una antigua hibridación y un alto número de combinaciones que esta localidad comparte con las otras tres de su grupo.

La diversidad genética muestra las diferencias o similitudes a nivel genético. La distancia genética entre las siete localidades varió entre 0.32 y 1.96. Estos valores no fueron muy diferentes de los obtenidos por Cuiris-Pérez *et al.* (2009), quienes al utilizar ISSRs observaron valores de cero a uno. Esto, aunado al promedio de heterocigosidad observada de 0.2366, sugiere que el nivel de diversidad entre estas localidades es bajo. Este valor es inferior a lo citado por Borrone *et al.* (2006) para los iniciadores utilizados (0.458 a 0.792), y a lo indicado por Schnell *et al.* (2003), quienes encontraron una heterocigosidad observada de 0.664 para aguacates de raza mexicana. Las bajas distancias genéticas observadas corroboran la posibilidad de antiguas hibridaciones, pero también

se debe considerar la posibilidad de que las localidades estudiadas, debido a su cercanía geográfica, compartan ancestros comunes y por lo tanto, un origen común. Además, la antigua interacción hombre-aguacate desde los tiempos precolombinos en esta área, en que las diferentes civilizaciones de Mesoamérica realizaban un activo intercambio de bienes, ha resultado en una baja diferenciación.

La integración del grupo dos refleja la interacción geográfica de las cuatro localidades, ubicadas en un área geográfica definida por características similares de suelo, tipo de vegetación y clima, aunque con variantes de precipitación pluvial y temperatura (Fig. 2). Los aguacates de las localidades de Orizaba, Ixtaczoquitlán y Cecilio Terán se desarrollan en un área en la que predominan los suelos de tipo Cambisol y el clima templado húmedo, y los aguacates de la localidad de Tecama se desarrollan en tipos de suelo Cambisol y Luvisol y clima semicálido húmedo. En este grupo, Tecama representa la posición basal y la

localidad más alejada; esta separación pudiera deberse a las diferencias geográficas, que de acuerdo con Torres-Gurrola *et al.* (2009), se observan en variaciones genéticas relacionadas con los perfiles químicos del aguacate mexicano. De acuerdo con Ashworth y Clegg (2003), otro factor de este patrón de diversidad pudieran ser los alelos nulos encontrados.

De acuerdo con Ashworth y Clegg (2003), las condiciones de agrupamiento de las localidades muestreadas se explican por la complejidad del estado híbrido de los aguacates, debida a la antigua hibridación de la especie o a una diferenciación racial más reciente de lo que se ha supuesto. Esto, aunado a la antigua relación del aguacate con el hombre y a las diferentes condiciones de domesticación (Galindo-Tovar *et al.*, 2008), ha resultado en una gran diversidad de genotipos de afinidades genéticas difíciles de separar, mostrada por los individuos colectados en esta investigación.

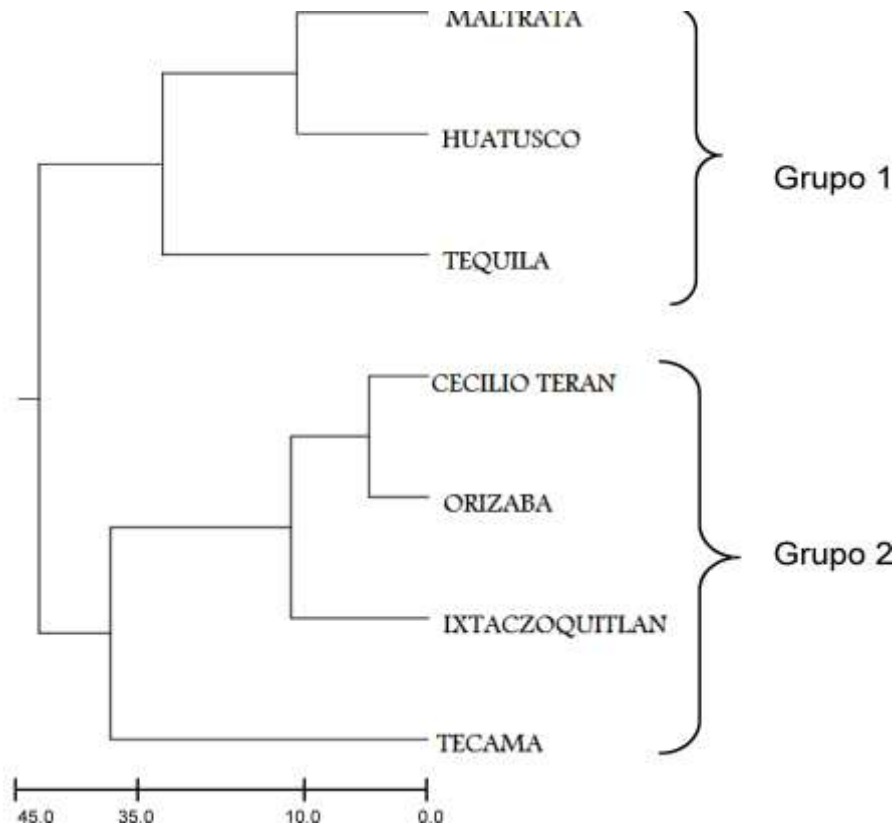


Figura 1. Dendrograma para siete localidades en Veracruz, México, de donde se obtuvieron muestras de aguacate (*Persea americana*), con base en distancias genéticas obtenidas con el programa UPGMA y datos de los pares de iniciadores para microsatélites SHRSPa056, SHRSPa089, SHRSPa109, SHRSPa111.

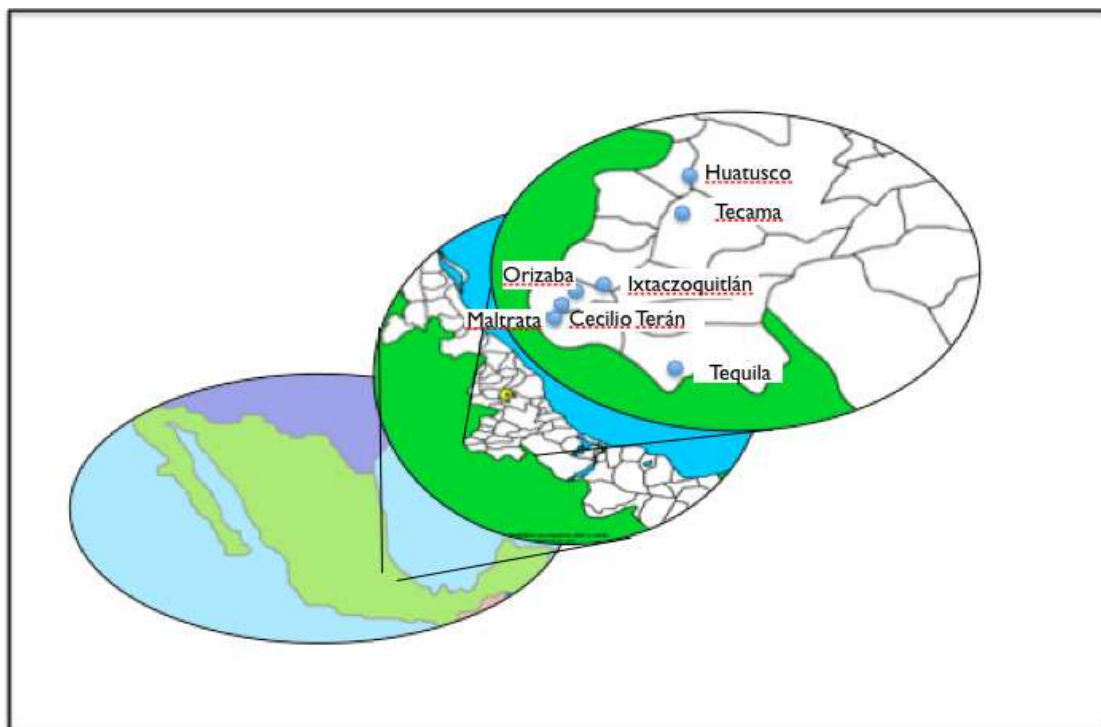


Figura 2. Ubicación geográfica de las siete localidades en donde se recolectaron muestras de *Persea americana* Mill., en el Centro del estado de Veracruz, México.

CONCLUSIÓN

Los cuatro iniciadores para microsatélites utilizados para el análisis molecular de *P. americana* mostraron alto polimorfismo y reproducibilidad en todas las poblaciones estudiadas en el Centro del estado de Veracruz. Aunque las siete poblaciones analizadas mostraron una baja diferenciación genética, seis de las siete localidades pudieron ser identificadas, lo que muestra la utilidad de estos microsatélites para distinguir genotipos intraespecíficos de aguacate. Además, la identificación de las localidades puede ser útil para desarrollar los programas de mejoramiento genético y manejo de recursos genéticos de esta especie. Las poblaciones que mostraron el mayor distanciamiento genético fueron Tecama y Huatusco, por lo que se consideran candidatas apropiadas en cruza dirigidas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Dr. Eloy Camacho Díaz, Director del Laboratorio de Alta Tecnología de Orizaba, por el apoyo prestado en el desarrollo de esta investigación. Esta investigación fue financiada por el proyecto Promep UV-WXB-373.

REFERENCIAS

- Ashworth, V. E. T. M., Clegg, M. T. 2003. Microsatellites markers in avocado (*Persea americana* Mill.): Genealogical relationships among cultivated avocado genotypes. *Journal of Heredity*. 94: 407-415.
- Ashworth, V. E. T. M., Kobayashi, M. C., De la Cruz M., Clegg, M. T. 2004. Microsatellites markers in avocado (*Persea americana* Mill.): development of dinucleotide and trinucleotide markers. *Scientia Horticulturae*. 10: 255-267.
- Barrientos-Priego, A. F. 2010. El aguacate. *CONABIO. Biodiversitas*. 88: 1-7.
- Bergh, B. O. 1992. The origin, nature and genetic improvement of avocado. *California Avocado Society Yearbook*. 76: 61-75.
- Birnbaum, K., DeSalle, R., Peters, C. M., Benfey, P. N. 2003. Integrating gene flow, crop biology, and farm management in on-farm conservation of

- avocado (*Persea americana*, Lauraceae). American Journal of Botany. 90: 1619-1627.
- Borrone J. W., Schnell, R. J., Violi, H. A., Ploetz, R. C. 2006. Seventy microsatellite markers from *Persea americana* Miller (avocado) expressed sequence tags. Molecular Ecology Notes. 7: 439-444.
- Borrone, J. W., Brown, J. S., Tondo, C. L., Mauro-Herrera, M., Kuhn, D. N., Violi, H. A., Sautter, R. T., Schnell, R. J. 2009. An EST-SSR-based linkage map for *Persea americana* Mill. (avocado). Tree Genetics and Genomes. 5: 553-560.
- Chen, H., Morell, P. L., Ashworth, V. E. T. M., De la Cruz, M., Clegg, M. T. 2009. Tracing the geographic origins of mayor avocado cultivars. Journal of Heredity. 100: 56-65.
- Chen, H., Morrell, P. L., De la Cruz M., Clegg, M. T. 2008. Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in wild avocado (*Persea americana* Mill.). Journal of Heredity. 99: 382-389.
- Cuiris-Pérez, H., Guillén-Andrade, H., Pedraza-Santos, M. E., López-Medina, J., Vidales-Fernández, I. 2009. Genetic variability within Mexican race avocado (*Persea americana* Mill.) germplasm collections determined by ISSRs. Revista Chapingo. Serie Horticultura. 15: 169-175.
- Davis, J. D., Kobayashi, H. M., Clegg, M. T., Clegg, M. T. 1998. Genealogical relationships among cultivated avocado as revealed through RFLP analyses. The American Genetic Association. 89: 319-323.
- Fielder, J., Buffer, G., Bangerth, F. 1998. Genetic relations of avocado (*Persea americana* Mill.) using RAPD markers. Euphitica. 101: 249-255.
- Furnier, G. R., Cummings, M. P., Clegg, M. T. 1990. Evolution of the avocados as revealed by DNA Restriction Fragment Variation. Journal of Heredity. 81: 183-188.
- Galindo-Tovar, M. E., Arzate-Fernández, M. A. 2010. Consideraciones sobre el origen y primera dispersión del aguacate (*Persea americana*, Lauraceae). Cuadernos de Biodiversidad. 33: 11-15.
- Galindo-Tovar, M. E. 2008. Origen y domesticación del aguacate (*Persea americana* Mill. LAURACEAE) en Mesoamérica. Tesis doctoral. Universidad Autónoma del Estado de México. México.
- Galindo-Tovar M. E., Ogata-Aguilar, N., Arzate-Fernández, A. M. 2008. Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica. Genetic Resources and Crop Evolution. 55: 441-450.
- Gutiérrez-Díez, A., Martínez-de la Cerda, J., García Zambrano, E.A., Iracheta-Donjuan, L., Ocampo-Morales, J. D., Cerda-Hurtado, I. M. 2009. Estudio de la diversidad genética del aguacate nativo en Nuevo León, México. Revista Fitotecnia Mexicana. 32: 9-18.
- Koop, L. 1966. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the Western hemisphere (*Persea*-Lauraceae). Memoirs of the New York Botanical Garden. 14: 1-120.
- Mhameed, S., Sharon, D., Kaufman, D., Lahav, E., Hillel, J., Degani, C., Lavi, U. 1997. Genetic relationships within avocado (*Persea americana* Mill.) cultivar and between *Persea* species. Theoretical Applied Genetics. 94: 279-286.
- Miller, A., Schaal, B. 2005. Domestication of a Mesoamerican cultivated fruit tree, *Spondias purpurea*. Proceedings of the National Academy of Sciences. 102: 12801-12806.
- Mohammadi, S. A., Prasanna, B. M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants – salient statistical tools and considerations. Crop Science. 43: 1235-1248.
- Nei, M. 1987. Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press. USA. 512 p.
- Ohsawa, T., Ide, Y. 2007. Global patterns of genetic variation in plant species along vertical and horizontal gradients on mountains. Global Ecology and Biogeography. 17: 152-163.
- Rowher, J. G. 2000. Toward a phylogenetic classification of the Lauraceae: Evidence

- from *matK* sequences. *Systematic Botany*. 25: 60-71.
- Schnell, R. J., Brown, J. S., Olano, C. T., Power, E. J., Krol, C. A. 2003. Evaluation of avocado germplasm using microsatellite markers. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 128: 881-889.
- Storey, W. B., Bergh, B., Zentmyer, G. A. 1986. The origin, Indigenous range, and dissemination of the avocado. *California Avocado Society 1986 Yearbook*. 70: 127-133.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution*. 15: 199-203.
- Torres-Gurrola, G., Montes-Hernández, S., Espinosa-García, F. 2009. Patrones de variación y distribución geográfica en fenotipos químicos foliares de *Persea americana* var. *drymifolia*. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 32: 19-30
- Van der Werff, H. 2002. A synopsis of *Persea* (Lauraceae) in Central America. *Novon*. 12: 575-586.

Submitted January 27, 2011 – Accepted May 04, 2011
Revised received May 18, 2011