



## DIVERSIDAD GENETICA EN VARIEDADES PARTENOCARPICAS DE CALABAZA (*Cucurbita pepo* L.) MEDIANTE RAPD<sup>†</sup>

### [GENETIC DIVERSITY IN PARTHENOCARPIC VARIETIES OF PUMPKIN (*Cucurbita pepo* L.) BY RAPD]

Alonso Méndez-López<sup>1</sup>; Miriam Sánchez-Vega<sup>2\*</sup>;  
Clemente Villanueva-Verduzco<sup>3</sup>; Reyna I. Rojas-Martínez<sup>4</sup>  
and Yolanda Rodríguez-Pagaza<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Horticultura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. CP. 56230. México.

e-mail: mendez.alonso@colpos.mx

<sup>2</sup>CONACYT-UAAAN. Calzada Antonio Narro #1923, Buenavista, C.P. 25315. Saltillo, Coahuila. México. e-mail: msanchezv@conacyt.mx.

<sup>3</sup>Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Km. 38.5 Carretera México-Texcoco. CP. 56230. México.

e-mail: clemente@correo.chapingo.mx

<sup>4</sup>Instituto de Fitopatología. Colegio de Posgraduados. Km. 36.5 Carretera México-Texcoco. CP. 56230. Montecillos. México. E-mail: rojas@colpos.mx

<sup>5</sup>CONACYT-UAAAN. Calzada Antonio Narro #1923, Buenavista, C.P. 25315. Saltillo, Coahuila. México. e-mail: yrodriguezpa@conacyt.mx

\*Corresponding author

## RESUMEN

La partenocarpia es la capacidad de desarrollo del ovario sin necesidad del estímulo de la polinización a fin de que el fruto se forme y crezca en forma normal hasta la madurez fisiológica o comercial. En este estudio se analizaron 46 variedades partenocarpicas de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) tipo *round zucchini* obtenidas en la Universidad Autónoma Chapingo, el objetivo fue identificar la diversidad y variabilidad genética existente entre las variedades y obtener las huellas genéticas correspondientes. Se utilizaron marcadores moleculares tipo RAPD (amplificación aleatoria de ADN polimórfico), en los que se probaron 14 iniciadores de la serie A de Operon, de los cuales se seleccionaron cinco asociados a un total de 44 *loci*. El 84.1% de los *loci* fueron polimórficos, entre las variedades partenocarpicas, lo que indica poca variabilidad genética. El dendrograma de similitud genética arrojó cinco agrupaciones, la distancia genética fue muy cercana a uno, con un rango de 0.6573 y 0.9770, lo que indica que son variedades altamente emparentadas genéticamente; ésta variación genética entre *loci* se expresó con un 95.45% del polimorfismo. Los genotipos estudiados proveen una valiosa fuente de partenocarpia base para el mejoramiento genético de calabacitas para verdura que no requieran de estímulo de la polinización para desarrollarse, aptas para su producción bajo cubierta.

**Palabras clave:** calabacita para verdura; polimorfismo; diversidad genética; marcador molecular; frutos sin semilla.

## SUMMARY

Parthenocarpy is the ability of the ovary to develop without the need for the stimulation of pollination so that the fruit forms and grows normally until physiological or commercial maturity. In this study, 46 parthenocarpic varieties of squash (*Cucurbita pepo* L.) type *round zucchini* obtained at the Autonomous University of Chapingo were analyzed, the objective was to identify the diversity and genetic variability existing between the varieties and obtain the corresponding genetic fingerprints. Molecular markers type RAPD (random amplification of polymorphic DNA) were used, in which 14 primers of the Operon series A were tested, of which five were selected associated to a total of 44 *loci*. 84.1% of the *loci* were polymorphic, among the parthenocarpic varieties, this indicated few genetic variability. The dendrogram of genetic similarity yielded five groupings, the genetic distance was very close to one, with a range of 0.6573 and 0.9770, indicating that they are highly genetically related varieties; this genetic variation between *loci* was expressed with 95.45% of the polymorphism. The genotypes studied provide a valuable source of parthenocarpy base for the genetic improvement of zucchini for vegetables that do not require stimulation of pollination to develop, suitable for production under cover.

**Key words:** zucchini; polymorphism; genetic diversity; molecular marker; seedless fruits.

<sup>†</sup> Submitted December 06, 2017 – Accepted September 03, 2018. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License

## INTRODUCCIÓN

La familia Cucurbitaceae incluye alrededor de 90 géneros y 750 especies. El género *Cucurbita*, uno de los más importantes, cuenta con 27 especies (Whitaker, 1974; Hernández, 1978). La variación genética que presenta cucurbita es muy amplia, principalmente en forma, tamaño y coloración del fruto, cantidad de semilla producida, calidad y cantidad de pulpa, tolerancia a enfermedades y precocidad (Montes, 1991; Ferriol *et al.*, 2003; Delgado *et al.*, 2014).

La amplia variación genética del género *Cucurbita* en México ha permitido identificar otros caracteres deseables en el mejoramiento genético tal es el caso de la partenocarpia de los frutos en *Cucurbita pepo* L. (Méndez-López *et al.*, 2010). Este fenómeno en calabacitas ha recibido menos atención, pero puede permitir que la calabaza crezca en invernaderos y en el campo fuera de temporada, cuando las flores estaminadas o los insectos polinizadores pueden estar ausentes. La fuerte reducción en las poblaciones de abejas en muchas áreas del mundo ha afectado negativamente a la polinización de cultivos (Menezes *et al.*, 2005).

La partenocarpia implica el desarrollo del ovario en una fruta sin fertilización, ni formación de semillas, bajo la influencia de hormonas exógenas o estímulos genéticos endógenos (Menezes *et al.*, 2005). El conocimiento de la importancia de la partenocarpia para variedades de calabacita de invernadero, ha generado la búsqueda genética de materiales que tengan la capacidad de producir frutos de calidad comercial sin necesidad de ser polinizada específicamente en variedades de calabaza para verdura (*C. pepo* L.); es decir, que no requieran del estímulo de la polinización a fin de que el fruto se desarrolle en forma normal hasta la madurez (Méndez *et al.*, 2010). Diversos estudios han demostrado variaciones en el grado de partenocarpia natural entre las variedades de calabacita, se ha encontrado a los tipos *zucchini* y *caserta* como los más partenocarpicos (Nijs y Balder, 1983; Robinson y Reiners, 1999).

El mejoramiento de las plantas ha contribuido sin duda a la producción de nuevas variedades, que han incrementado el rendimiento y la calidad de la producción. Sin embargo, hay limitaciones en la velocidad y precisión con que muchos de los caracteres útiles puedan ser identificados, seleccionados y utilizados en los programas de mejoramiento, debido a que la tecnología empleada actualmente en la identificación es costosa y específica.

La caracterización e identificación tradicional de variedades se ha basado en el uso de caracteres morfológicos y/o agronómicos. Sin embargo, este método presenta restricciones, ya que su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos; por lo que, los métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores genéticos moleculares, han demostrado ser más eficientes y en la mayoría de los casos, superan las limitaciones de los métodos tradicionales, éstos marcadores proveen una herramienta valiosa para establecer una precisa genotipificación de cultivares y son utilizados internacionalmente con estos fines (Spooner *et al.*, 2005; Azofeifa, 2006).

Los marcadores tipo RAPD (amplificación aleatoria de ADN polimórfico) se han utilizado con gran éxito para diversos tipos de análisis de diversidad genética, que incluye el mapeo del genoma, huellas genéticas, reconstrucción de filogenia, y medición de similitudes genéticas (Azofeifa, 2006). Su uso depende de los objetivos de la investigación, sin embargo se han utilizado eficientemente para determinar similitudes entre individuos, gracias al alto polimorfismo que arrojan, por medio del cálculo de coeficientes de distancias genéticas como apareamiento simple, Jackard y Nei y Li (Cerón *et al.*, 2010). Los RAPD favorecen la definición de estudios de agrupación e identificación de individuos con cualidades específicas a nivel molecular, siempre y cuando se considere que el estudio es reproducible y repetitivo en tiempo y espacio como lo indica Mondragon (2003).

El surgimiento y uso de los marcadores genéticos moleculares dieron nueva dimensión a los estudios de diversidad genética, ya que el análisis de ADN presenta múltiples ventajas, como la generación de información genética precisa, permite el análisis simultáneo de un gran número de muestras y es independiente del medio ambiente. Por otro lado, el ADN puede ser extraído a partir de cantidades ínfimas de tejido de cualquier órgano somático y estado de desarrollo de la planta, permitiendo la obtención de resultados en un corto plazo (Mathias *et al.*, 2007). En este contexto, el objetivo de este trabajo fue identificar el grado de variabilidad genética entre las variedades partenocarpicas de calabaza tipo *round zucchini* mediante RAPD y determinar genotipos viables para el mejoramiento genético aptos para la producción bajo cubierta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Se utilizó material vegetal colectado de plantas jóvenes, se tomaron brotes recién emergidos de 46 variedades partenocarpicas de calabacita (*C. pepo* L.)

arbustiva tipo *round zucchini* (F1) provenientes de la libre recombinación de progenies con cruzamiento dialélico (método IV de Griffing, 1989), de siete variedades experimentales tipo *round zucchini*. Dicha población fue desarrollada ex-profeso en el programa de mejoramiento genético del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo y caracterizadas agronómicamente por Méndez-López *et al.* (2010), todas las plantas fueron autopolinizadas para producir la F2. Cada una de las 46 muestras de plantas se trasladó en una hielera con ambiente fresco a laboratorio donde fueron liofilizadas para evitar su oxidación y degradación durante el almacenamiento.

### Análisis molecular

El análisis molecular se realizó en el Laboratorio de Fisiología y Fitopatología Molecular (FFM) del Instituto de Fitosanidad en el Colegio de Postgraduados. La extracción de ADN genómico se hizo mediante el método combinado MLO (Lee *et al.*, 1991) y CTAB 3% (Ahrens y Seemüller, 1992) modificado por Rojas-Martínez *et al.* (2003). La calidad del ADN extraído se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.2 % (p/v) teñido en una solución de bromuro de etidio. La concentración de ADN en  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  de cada muestra se cuantificó con un espectrofotómetro de ultrabajo volumen NanoDrop ND-1000 V3.7 (Thermo Scientific). De la concentración inicial, se hicieron diluciones del ADN con agua desionizada estéril hasta obtener una concentración de  $20 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  de ADN en cada una de las 46 muestras procesadas. Se realizaron diferentes pruebas de estandarización de la PCR para RAPD con 14 iniciadores decámeros de secuencia aleatoria de la serie A de Operon (01, 02, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 12, 13, 15, 16, 17 y 19); estos iniciadores fueron sintetizados por el Instituto de Biotecnología de la Universidad Autónoma de México (UNAM). Después de la estandarización se seleccionaron cinco iniciadores (OPA: 05, 10, 13, 15, 19) para su uso, estos cinco iniciadores tuvieron mayor cantidad de bandas polimórficas así como patrones diferenciales de bandeo entre las muestras y fueron repetitivos, reproducibles y estables en las pruebas de selección.

Para la amplificación aleatoria del ADN polimórfico de las variedades de calabacita se usó la siguiente mezcla de reacción: 2.5  $\mu\text{L}$  de Buffer [10 X], 1.5  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  [30  $\text{mM} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ], 0.5  $\mu\text{L}$  de dNTP's [2.5  $\text{mM} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ], 2.0  $\mu\text{L}$  de iniciador aleatorio [10  $\text{pmol} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ], 0.2  $\mu\text{L}$  de Taq ADN-polimerasa (Amplifisa®) [5  $\text{U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ], 4.0  $\mu\text{L}$  de ADN genómico de calabaza [20  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ] y 14.05  $\mu\text{L}$  de agua desionizada estéril para un total de 25  $\mu\text{L}$  por reacción. El ADN se adicionó de manera individual a cada tubo según el número de genotipo a caracterizar.

Las condiciones de amplificación de la PCR fueron: un ciclo de desnaturalización inicial  $94^\circ\text{C}$  por 1 min, seguido de 38 ciclos de desnaturalización  $94^\circ\text{C}$  30 seg, alineamiento a  $35^\circ\text{C}$  30 seg y extensión a  $72^\circ\text{C}$  1.5 min, seguidos de un ciclo de extensión final a  $72^\circ\text{C}$  2.5 min. Se utilizó un termociclador APOLO Instrumentation ATC 201, serie 00449.

Los productos de amplificación obtenidos a partir de los RAPD, se separaron por medio de electroforesis en un gel de agarosa al 2.5 % (p/v) que se corrió a 85 volts durante 4.5 horas. Los geles fueron teñidos con bromuro de etidio y las bandas se visualizaron bajo luz ultravioleta en un fotodocumentador (Modelo Gel Doc 2000, BIO RAD®), la foto del gel se capturo con el programa Quantity One 4.0.3, incluido en el equipo indicado. Los resultados fueron impresos en papel fotográfico para hacer la matriz básica de datos. Se utilizó el marcador de peso molecular 1 Kb (1 Kb Ladder, Invitrogen®) a cada extremo del gel de agarosa como referencia en el patrón de bandeo de las variedades.

### Análisis estadístico

Se utilizó el paquete computacional de NTSYS-pc versión 2.2R (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System), especialmente diseñados para el análisis estadístico de trabajos realizados con marcadores moleculares y estudios de diversidad genética.

La matriz de similaridad genética se obtuvo mediante el coeficiente de SM (Simple matching coefficient:  $m/n$  (default) o coeficiente de apareamiento simple (Sokal y Sneath, 1963), este coeficiente es una medida de similitud, que compara un par de patrones de bandeo de dos individuos, y se obtiene mediante el número de casos de presencia y ausencia en cada individuo, comparada con otro individuo, la fórmula que se emplea es la siguiente:  $(A+D)/N$ , donde  $A=(0,0)$  número de casos con dobles ausencias de banda,  $D=(1,1)$  número de casos con dobles presencias de banda y  $N=(\sum A+B+C+D)$ , donde  $B=(0,1)$  y  $C=(1,0)$ , es el número de casos con ausencia y presencia de banda por comparación entre individuos, por lo que el programa va discriminando a los individuos con el valor más bajo obtenido. De esta forma se calcula la frecuencia de aparición de cada banda registrada, para obtener la matriz de las distancias genéticas entre los datos introducidos (Lamboy, 1994).

Los dendrogramas de agrupación de las variedades partenocarpas arbustivas de calabaza, fueron derivados de la matriz de similaridad con el programa SAHN (Sequential Agglomerative Hierarchical Nested Cluster Analysis), Dunn y Everitt (1982), del sistema de análisis multivariado y taxonómico numérico

(NTSYS-pc 2.2R), por medio del método del promedio aritmético no ponderado por pares entre agrupamientos, tipo UPGMA (Unweighted Pair-Group Method, Arithmetic Averages) (Adams *et al.*, 2000).

La robustez del dendrograma se probó mediante el método de remuestreo en las matrices de datos y de disimilaridad con Bootstrapping con un  $\alpha=0.05$ , con 1000 remuestreos, la confiabilidad de los resultados, se llevó a cabo por medio de una comparación de matrices con la Prueba de Mantel (1967), entre la matriz de similitud generada de la matriz básica de datos y de una matriz promedio generada con el remuestreo todo con ayuda del programa NTSYS-pc 2.2R.

La matriz de datos presencia/ausencia de bandas también se analizó con el programa PopGen32 (Yeh *et al.*, 1999). Los parámetros de polimorfismo estimados entre población fueron: porcentaje de *loci* polimórficos (P), número de alelos por *locus* (A), número efectivo de alelos por *locus* (Ae), índice de Shannon (S), índice de diversidad genética de Nei (H). El número efectivo de alelos por *locus* (Ae) es el número de alelos que determinan la heterocigosidad u homocigosidad observada, y se calcula como:  $Ae = 1/\sum p_i^2$ , donde  $p_i$  es la frecuencia del *i*-ésimo alelo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de iniciadores RAPD

Se evaluaron 14 iniciadores de los cuales se seleccionaron cinco, todos de la serie A de Operon utilizados en el análisis RAPD, estos amplificaron un total de 44 *loci* de los cuales el 84.1% mostraron polimorfismo (Tabla 1). El número de fragmentos polimórficos varió desde seis con el iniciador OPA19

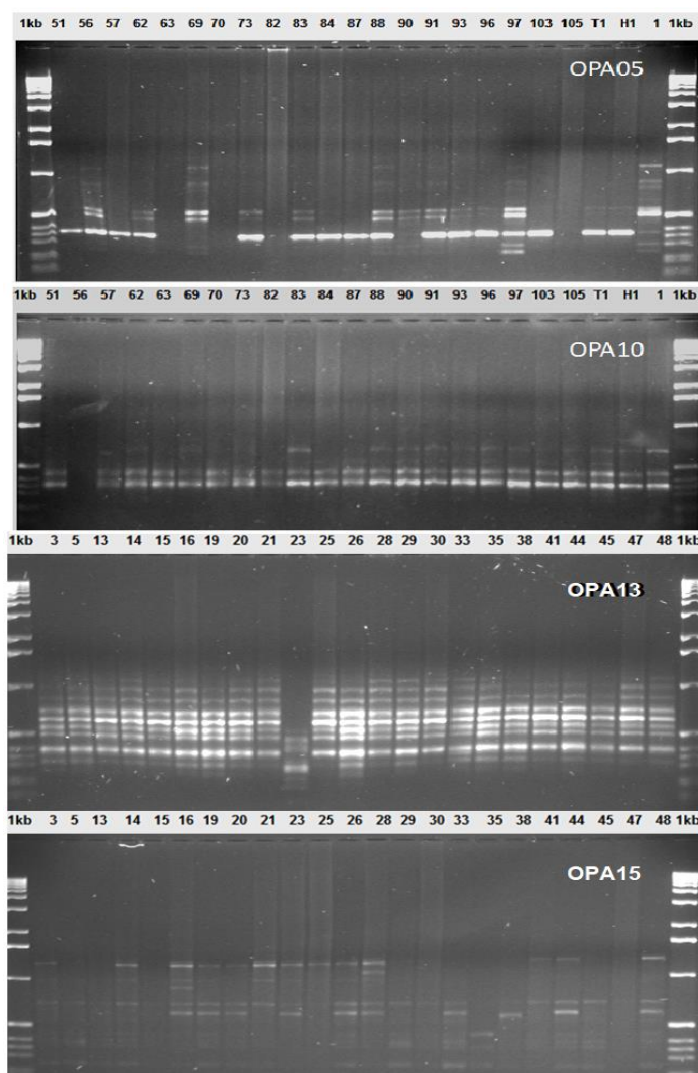
hasta diez con OPA13, en promedio por cada iniciador se obtuvo 7.4 productos polimórficos. El tamaño de los fragmentos amplificados varió desde 220 hasta 1636 pares de bases aproximadamente. En la figura 1 se muestran cinco ejemplos correspondientes a cada una de las reacciones obtenidas. Los iniciadores OPA05, OPA10 y OPA19 revelaron un 100% de polimorfismo en el bandeo, mientras que los iniciadores OPA13 y OPA15 detectaron 71.4% y 70% de polimorfismo respectivamente, entre variedades.

El alto polimorfismo encontrado en los perfiles RAPD en este estudio coincide con lo indicado por Ferriol *et al.* (2003), quienes reportan a *C. pepo* L. como una especie altamente polimórfica. Tapia y Legaria (2007), reportaron 84.07% de polimorfismo con 17 iniciadores RAPD utilizados y un total de 226 *loci* encontrados. Resultados similares obtuvieron Cerón *et al.* (2010), quienes reportan 89.05% de polimorfismo de un total de 185 *loci* con 19 iniciadores de la serie OPA y OPD, por lo que los resultados encontrados en presente estudio muestran congruencia.

El análisis basado en la técnica RAPD permitió estimar la similitud y diferencia genómica entre los 46 genotipos de calabaza en estudio. En la Figura 1 se muestran los patrones de bandeo en separación bien definida de los iniciadores con mayor polimorfismo (OPA 05, OPA 10, OPA 13, OPA 15), en estos se observan ligeras diferencias en la intensidad de los fragmentos, que no afectaron significativamente el conteo final de bandas obtenidas con los iniciadores, este comportamiento sugiere que son poblaciones altamente emparentadas genéticamente. Los fragmentos polimórficos fueron estables a través de las reacciones de prueba.

**Tabla 1.** Iniciadores, secuencias amplificadas y polimorfismo detectado en 46 variedades partenocarpicas de calabaza (*C. pepo* L.).

Iniciador	Secuencia	Productos amplificados		Polimorfismo total (%)	% de bandas monomórficas
		Totales	Polimórficos		
OPA 05	5'-AGGGGTCTTG-3'	7.0	7.0	100.0	0.0
OPA 10	5'-GTGATCGCAG-3'	7.0	7.0	100.0	0.0
OPA 13	5'-CAGCACCCAC-3'	14.0	10.0	71.4	28.6
OPA 15	5'-TTCCGAACCC-3'	10.0	7.0	70.0	30.0
OPA 19	5'-CAAACGTCGG-3'	6.0	6.0	100	0.0
<b>Promedio:</b>		<b>8.8</b>	<b>7.4</b>	<b>84.1</b>	<b>15.9</b>

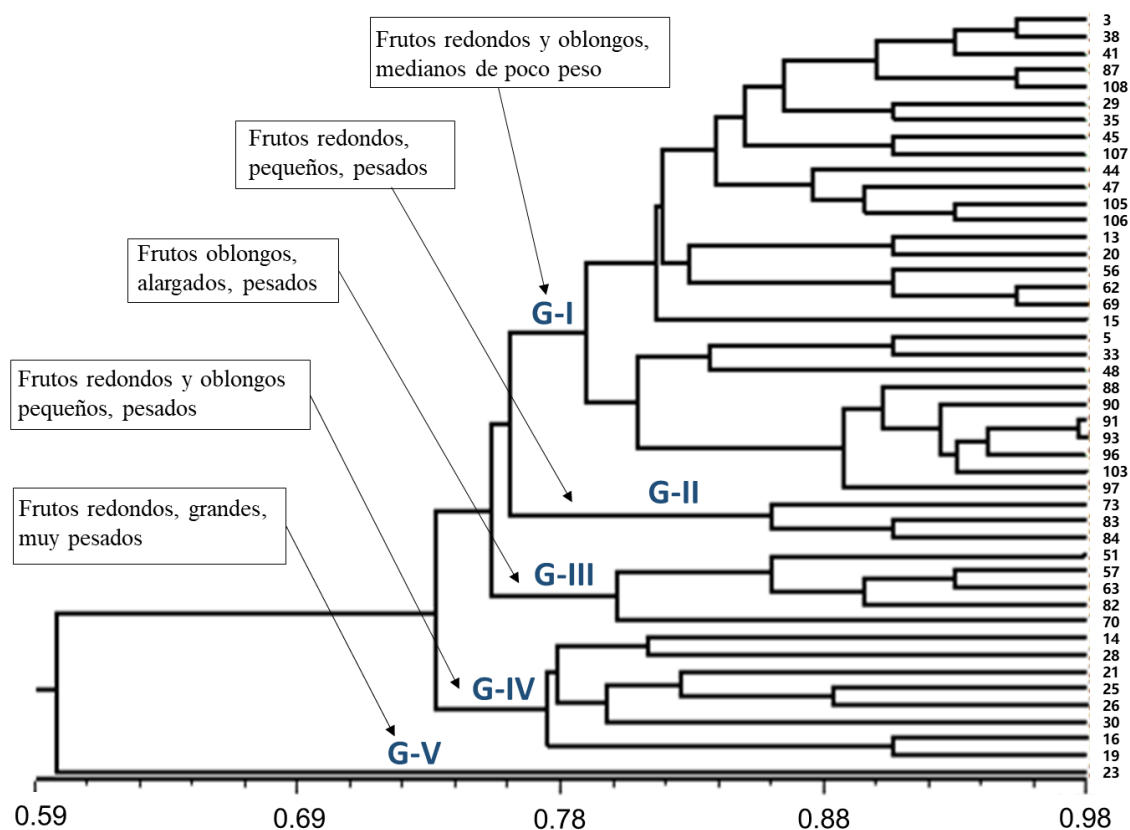


**Figura 1.** Patrones de bandeo RAPD con los iniciadores OPA05, OPA10, OPA13 y OPA15, en variedades partenocarpicas de calabaza separados por electroforesis en gel de agarosa a 1.2%.

En la figura 2 se muestra el dendrograma de relaciones de similitud entre las 46 variedades partenocarpicas de calabacita obtenido mediante el análisis de 1000 remuestreos con el programa NTSYS-pc 2.2R. Los resultados muestran la formación de cinco grupos identificados por medio del análisis de apareamiento simple (SM) de los productos RAPD obtenidos de las variedades de calabacita, las cuales se asociaron para su caracterización genética de acuerdo a la relación con los caracteres morfológicos vegetativos (porte de planta, longitud de entrenudos, presencia de ramificaciones, productividad de la planta) y reproductivos (forma, tamaño, y peso de frutos) descritos por Méndez-López *et al.* (2010) en la caracterización morfo-agronómica de estas mismas variedades partenocarpicas de calabacita.

Las variedades dentro de cada agrupación presentan valores de distancias génicas muy cercanos a 1.0. Los

grupos G-I, G-II, G-III y G-IV fueron los más emparentados genéticamente al ubicarse en un rango entre 0.74 y 0.98 del coeficiente de distancias génicas, en tanto que el G-V que agrupa a solo una variedad se manifestó con mayor diversidad genética con coeficiente de similitud de 0.60 (Figura 2). Las variedades entre grupos presentan mucha variabilidad en cuanto a su distancia génica por lo que el carácter morfológico responsable del agrupamiento no es del todo claro evidenciando con mayor contundencia que son poblaciones muy emparentadas genéticamente por su cercanía al 1.0 en el coeficiente de similitud, como lo indica Lamboy (1994). Al respecto, Robinson y Reiners (1999) indican que la fuente genética de la capacidad de establecer frutos partenocarpicos en *C. pepo* L. es incierta. Por su parte, Menezes *et al.* (2005) mencionan que el desarrollo del ovario en una fruta sin fertilización ni formación de semillas, se logra bajo la influencia de hormonas exógenas o estímulos genéticos endógenos.



**Figura 2.** Dendrograma general remuestreo de los patrones de bandeo RAPD de 46 variedades partenocarpicas de calabacita obtenida mediante el coeficiente de apareamiento simple (SM) por el método de agrupamiento UPGMA. Las flechas indican característica de fruto de cada agrupamiento.

Los resultados encontrados en el dendrograma general remuestreado (Figura 2) muestra que 29 variedades conforman al G-I, con un rango de distancias genéticas (rdg) de 0.9770 a 0.8860, caracterizado por agrupar plantas de porte bajo, muy productivas, con entrenudos de longitud intermedia, frutos redondos y oblongos de tamaño intermedio de poco peso; el G-II lo integran tres variedades con rdg entre 0.9083 a 0.8638, agrupa plantas de porte intermedio, sin ramificación pero muy productivas, frutos redondos pequeños pesados; el G-III está integrado por cinco variedades (rango rdg: 0.9309 a 0.7509), agrupa plantas de porte bajo, poco productiva con entrenudos de longitud intermedia, frutos oblongos alargados y pesados; en tanto que, al G-IV lo integran ocho de las 46 variedades con rango de rdg: 0.9099 a 0.7934, se caracteriza por agrupar plantas de porte intermedio, poco productivas con entrenudos cortos, frutos redondos y oblongos pequeños pero pesados; mientras que el G-V lo integra la variedad 23, esta variedad presenta plantas de porte alto, altamente productivas, con entrenudos largos, ramificación abundante, frutos redondos grandes y muy pesados, esta variedad fue la que

mostró el coeficiente de similitud más bajo (0.6573), manifestando mayor diferenciación genéticamente respecto a las 45 variedades partenocarpicas restantes. Este comportamiento se atribuye al origen de la población de amplia base genética, ya que esta fue producto del cruzamiento recíproco entre siete progenitores y probablemente la variedad 23 está conservando las características de un progenitor específico y es lo que manifiesta. Sin embargo, los 46 genotipos estudiados proveen una fuente valiosa de partenocarpia para el mejoramiento genético y generar híbridos y variedades con características deseables de calabacitas para verdura que no requieran del estímulo de la polinización para desarrollarse de manera normal, aptas para su producción bajo cubierta.

#### Diversidad genética de variedades

En el análisis de diversidad genética de Nei (1973), realizado por medio de PopGen32, se identificó un porcentaje de *loci* polimórficos (P) de 95.45 % entre las variedades partenocarpicas de calabacita (Tabla 2). El número de alelos por locus tuvo un rango de

1.00 a 0.011, con media de 0.308. Fueron 10 de 42 *locus* (OPA13-10, 13, 14, OPA15-1, 7, 10 con frecuencia génica (A)=0.011, alelos efectivos (Ae)=1.022, coeficiente de diversidad de Nei (H)=0.22 e índice de diversidad de Shannon (Sh)=0.06; OPA05-1 con A=0.022, Ae=1.045, H=0.043 y Sh=1.106; OPA05-2, OPA10-1 y OPA15-5 con A=0.033, Ae=1.069, H=0.064 y Sh=0.106) los que identificaron la mayor diversidad genética entre las variedades estudiadas; sin embargo, tanto el porcentaje de *loci* polimórficos como los estadísticos de variación genética confirman la reducida diversidad génica entre las variedades partenocarpicas de calabacita, por tal motivo su origen y emparentamiento. Al respecto, Menezes *et al.* (2005) indican que el carácter de partenocarpia está controlado por un único locus, con dominancia incompleta en la dirección de la expresión partenocarpica. Por otro lado, Gwanama *et al.* (2000), observaron reducida variabilidad genética entre poblaciones de *Cucurbita* de dos regiones de África, a la vez que, reportan a los patrones RAPD generadores

de pocas diferencias entre variedades evaluadas e indican la existencia de un número reducido de secuencias nucleóticas diferentes amplificadas al azar.

## CONCLUSIONES

Los iniciadores utilizados en los análisis RAPD identificaron alto porcentaje de polimorfismo, lo que permitió estimar la similitud y diferencia genética entre las variedades partenocarpicas de calabaza y se identificó alto emparentamiento entre los individuos en estudio.

Los genotipos estudiados proveen una valiosa fuente de partenocarpia base para el mejoramiento genético y generar híbridos y variedades con características deseables de calabacitas para verdura que no requieran del estímulo de la polinización para desarrollarse de manera normal, aptas para su producción bajo cubierta.

**Tabla 2.** Diversidad genética entre 46 variedades partenocarpicas de calabacita tipo *round zucchini*.

Locus	A	Ae	H	Sh	Lc	P
OPA05-01	0.022	1.045	0.043	0.106		
OPA05-02, OPA10-01, OPA15-05	0.033	1.069	0.064	0.146		
OPA05-03, 04, OPA15-03, 09	0.166	1.383	0.277	0.449		
OPA05-04	0.166	1.383	0.277	0.449		
OPA05-05	0.534	1.991	0.498	0.691		
OPA05-06, 07, OPA10-02, OPA13-02, OPA19-01	0.079	1.171	0.146	0.277		
OPA10-02	0.079	1.171	0.146	0.277		
OPA10-03	0.489	1.999	0.500	0.693		
OPA10-04	0.248	1.595	0.373	0.560		
OPA10-05, OPA13-05	0.670	1.792	0.442	0.634		
OPA10-06, 07, OPA13-06, 07, 11	0.853	1.336	0.251	0.418		
OPA13-01, OPA15-02	0.045	1.093	0.085	0.182		
OPA13-03, OPA13-12	0.179	1.417	0.294	0.470		
OPA13-04	0.558	1.974	0.493	0.687		
OPA13-08, 09	1.000	1.000	0.000	0.000		
OPA13-10, 13, 14, OPA15-01, 07, 10	0.011	1.022	0.022	0.060		
OPA15-04, 06	0.091	1.199	0.166	0.305		
OPA15-08, OPA19-04	0.511	1.999	0.500	0.693		
OPA19-02	0.468	1.992	0.498	0.691		
OPA19-03	0.278	1.670	0.401	0.591		
OPA19-05	0.103	1.227	0.185	0.332		
OPA19-06	0.068	1.144	0.126	0.247		
<b>Desv. Est.</b>	<b>0.324</b>	<b>0.344</b>	<b>0.170</b>	<b>0.226</b>		
<b>Promedio</b>	<b>0.308</b>	<b>1.355</b>	<b>0.221</b>	<b>0.351</b>	<b>42</b>	<b>95.45</b>

A=número de alelos por *locus*; Ae=número efectivo de alelos por *locus*; H=coeficiente de diversidad de Nei; Sh=coeficiente de diversidad de Shannon; Lc=número de *loci* polimórficos P=porcentaje de *loci* polimórficos.

**Agradecimientos**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para realizar estudios de Postgrado.

**REFERENCIAS**

- Adams, D., Kim, J., Jensen, R., Les, M., Slice, E.D., Walker, J. 2000. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (Version 2.20r). Exeter Software, New York, U. S. A.
- Ahrens, U., Seemüller, E. 1992. Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. *Phytopathology*. 82: 828-832.
- Azofeifa-Delgado, A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Revisión bibliográfica. Agronomía Mesoamericana*. 17(2): 221-241. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43717210>
- Cerón, G.L., Legaria, S.J.P., Villanueva, V.C., Sahagún, C.J. 2010. Diversidad genética en cuatro especies mexicanas de calabaza (*Cucurbita spp.*). *Revista Fitotecnia Mexicana*. 33 (3): 189-196. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-73802010000300002&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802010000300002&lng=es&tlng=en).
- Delgado, P.G.E., Rojas, I.C., Sencie, T.A., Vásquez, N.L. 2014. Caracterización de frutos y semillas de algunas cucurbitáceas en el norte del Perú. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37 (1): 7-20. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-73802014000100004&lng=es&tlng=en](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802014000100004&lng=es&tlng=en).
- Dunn, G., Everitt, B.S. 1982. An introduction to mathematical taxonomy. Cambridge. New York. 152 pp
- Ferriol, B.M., Picó, B., Nuez, F. 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 107:271-282. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1242-z>.
- Griffing, B. 1989. Genetics Analysis of Plants Mixture. *Genetics*, 122, 943-956.
- Gwanama, C., Labuschagne, M., Botha, A. 2000. Analysis of genetic variation in *Cucurbita moschata* by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, 113:19-24. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1003936019095>.
- Hernández, B.G. 1978. Cucurbitaceas. In: T Cervantes S (ed). Recursos Genéticos Disponibles a México. SOMEFI. Chapingo, México. Pp:357-367.
- Lamboy W., F. 1994. Computing genetic similarity coefficients from RAPD data: the effects of PCR artifacts. *Genome Research*. (August) 1994 4: 31-37.
- Lee I., M., Davis E., R., Hiruki, C. 1991. Genetic Interrelatedness among clover proliferation mycoplasma-like organisms (MLOs) and other MLOs investigated by nucleic acid hybridization and restriction fragment length polymorphism analyses. *Applied and Environmental Microbiology*. 57: 3565- 3569.
- Mantel N., A. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*. 27:209-220.
- Mathias, R.M., Sagredo, D.B., Kalazich, B.J. 2007. Uso de marcadores SSR para identificación de germoplasma de papa en el programa de mejoramiento de INIA de Chile. *Agricultura Técnica*, 67(1):3-15. DOI: <https://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072007000100001>
- Méndez-López, A., Villanueva-Verduzco, C., Sahagún-Castellanos, J., Avitia-García, E., Colinas-León, T., Jamilena-Quesada, M., Rojas-Martínez, R.I. 2010. Obtención, caracterización y agrupamiento de genotipos partenocarpicos de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) tipo "round zucchini". *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 16(2): 123-131. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1027-152X2010000200008&lng=es&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2010000200008&lng=es&tlng=pt).
- Mondragón-Jacobo, C. 2003. Caracterización molecular mediante RAPDs de una colección de nopal de (*Opuntia spp.* Cactaceae) del centro de México, como base del mejoramiento genético. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 9(1): 97-114. Disponible en: <https://chapingo.mx/revistas/revistas/articulos/doc/rchshIX204.pdf>
- Montes, H.S. 1991. Calabazas (*Cucurbita spp.*). In: Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México. R. Ortega P., G. Palomino H., F. Castillo. G., V.A. González



- H., M. Livera. M. (eds). SOMEFI. Chapingo, México. Pp. 239-250.
- Menezes, C.B., Wilson, R., Maluf, R.W., de Azevedo, M.S., Marcos V. Faria, V.M., Nascimento, R.I., Nogueira, W.D., Gomes A., L.A., Bearzoti, E. 2005. Inheritance of parthenocarp in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). *Genetics and Molecular Research*. 4(1): 39-46.
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings National Academy Science*. (USA). 70: 3321-3323.
- Nijs, A.P.M., Balder, J. 1983. Growth of parthenocarpic and seed bearing fruits of Zucchini squash. *Cucurbit Genetics Cooperative Report* 6: 84-85
- Robinson R.W., Reiners S. 1999. Parthenocarp in summer squash. *Hortscience* 34(4): 715-717.
- Rojas Martínez, R.I., Zavaleta Mejía, E., Lee, M., Martini, M., Aspiroz, H.S. 2003. Detection and characterization of the phytoplasma associated with marigold phyllody in Mexico (*Tagetes erecta* L.). *Journal of Plant Pathology*. 85(2): 81-86. Disponible en: <http://www.jstor.org/stable/41998128>
- Sokal, R.R., Sneath, P.H.A. 1963. *Principles of Numerical Taxonomy*. Freeman. San Francisco. 359 pp.
- Spooner, D., Van Treuren, R., De Vicente, M.C. 2005. Molecular marker for genebank Management. IPGRI Technical Bulletin N. 10. International Plant Genetic Resources Institute, USDA. 126 p.
- Tapia P., D., Legaria, S.J.P. 2007. Variabilidad genética en cultivares de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana* Vol. 30 (4): 391-401. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61030406>
- Whitaker, T.W. 1974 *Cucurbita*. In: *Handbook of Genetics*. R C King (ed). Plenum Press. New York, USA. Pp: 135-144.
- Yeh, F.C., Yai, R.C., Boyle, T. 1999 *Popgene* Version 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Quick User Guide. Edmonton, Alberta, Canada. 28 p.