

## DIVERSIDAD GENÉTICA DE MARACUYÁ EN GUATEMALA REVELADA POR MARCADORES AFLP<sup>1</sup>

Karla Melina Ponciano-Samayoá<sup>2</sup>, Juan Pedro Lacán de León<sup>2</sup>

### RESUMEN

**Diversidad genética de maracuyá en Guatemala revelada por marcadores AFLP.** Los objetivos de este estudio fueron caracterizar con AFLP nueve genotipos colectados en Guatemala y determinar la diversidad genética existente. En el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), en el período julio 2010/mayo 2011, se realizó este análisis preliminar amplificando diez combinaciones selectivas con las que se detectaron 106 polimorfismos. Las combinaciones selectivas E+ACG/M+CAG, E+ACA/M+CTA, E+ACT/M+CTG y E+AAC/M+CTT dieron el mayor grado de información. En promedio se visualizaron diez loci por amplificación selectiva. El análisis de similaridad reveló que los genotipos no están duplicados. Los análisis de correspondencia y conglomerados identificaron dos grupos bien definidos. El primero incluyó a los materiales de *P. edulis* f. *edulis* Sims y el segundo a los materiales de *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener. La diversidad genética de Nei para la colección fue 0,3160. La diferenciación genética ( $G_{st}$ ) fue 0,2542. El 25,42% de la diversidad se expresó entre grupos mientras que el 74,58% dentro de estos. Los resultados dan evidencia de la cercanía evolutiva de los tipos amarilla y morada de *P. edulis* Sims. El flujo genético fue alto ( $Nm=1,4670$ ) como se esperaba en una especie alógama en la que se favorece el intercambio inter e intraespecífico.

**Palabras clave:** *Passiflora edulis* Sims, similaridad, diferenciación genética, conglomerados, flujo genético.

### ABSTRACT

**Genetic diversity of passion fruits in Guatemala revealed by AFLP markers.** The objectives of this study were to characterize with AFLP nine genotypes of passion fruit collected in Guatemala, to identify clusters and to evaluate the existing genetic diversity. The study was conducted at Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), during July 2010/May 2011. A preliminary analysis was conducted in which ten selective primer pairs were amplified and 106 polymorphisms were detected. The selective primer pair E+ACG/M+CAG, E+ACA/M+CTA, E+ACT/M+CTG and E+AAC/M+CTT, gave the most information. An average of ten loci per selective amplification was detected. Similarity analysis revealed no duplicated genotypes. Correspondence and clustering analysis identified two groups. The first one included all accession of *P. edulis* f. *edulis* Sims and the second one all accessions of *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener. The genetic diversity based on Nei's index for the collection was 0,3160. Genetic differentiation ( $G_{st}$ ) was 0,2542 for the entire collection; 25.42% of the genetic diversity is expressed between groups while the 74.58% is expressed within groups. Those results give evidence of the evolutionary proximity of the purple and yellow types of *P. edulis* Sims. The genetic flow was high ( $Nm=1,4670$ ) as expected in an allogamous species in which genetic exchange is facilitated.

**Key words:** *Passiflora edulis* Sims, similarity, genetic differentiation, clusters, genetic flow.



<sup>1</sup> Recibido: 28 de junio, 2011. Aceptado: 12 de marzo, 2012. Proyecto de investigación del Laboratorio de Biotecnología y el Programa de Promoción y Apoyo Tecnológico. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas ICTA.

<sup>2</sup> Laboratorio de Biotecnología y Programa de Promoción y Apoyo Tecnológico. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas ICTA. Km. 21.5 Carretera al Pacífico, Bárcenas, Villa Nueva, Guatemala, C.A. kponciano@hotmail.com; lacandeleon@yahoo.com

## INTRODUCCIÓN

El maracuyá (*Passiflora edulis* Sims) es una especie neotropical perteneciente a la familia Passifloraceae. Tuvo su origen en Brasil y durante el siglo XIX se extendió a otros países debido a su alto potencial agrícola y de exportación gracias a su buena adaptabilidad a nuevos ambientes. Sus cualidades más apreciadas son su sabor, apariencia, valor nutritivo, disponibilidad, accesibilidad, propiedades medicinales y connotación exótica (Fonseca *et al.* 2009). También, se ha reportado que los residuos del fruto de maracuyá tienen alta capacidad de absorción de arsénico y pueden ser útiles en los programas de remediación ambiental (Iliná *et al.* 2009).

*P. edulis* es una especie predominantemente alógama que presenta un sistema genético de autoincompatibilidad que favorece la polinización cruzada inter e intra-específica (Fonseca *et al.* 2009). Se ha reportado que esta especie presenta un 80% de autoincompatibilidad, por lo tanto un 20% de autopolinización (Ortiz 2010). Los estudios citogenéticos indican que es una especie diploide ( $2n=18$ ) (Crochemore *et al.* 2003). Se conocen dos formas de *P. edulis* que se diferencian principalmente en el color del fruto, el aroma y el sabor. *P. edulis* f. *edulis* Sims es conocida como maracuyá morado (Crochemore *et al.* 2003), gulupa, purple passion fruit (Ortiz 2010) o maracujá-rojo (Sousa *et al.* 1997). Por otro lado, *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener se conoce como maracuyá amarillo (Crochemore *et al.* 2003), simplemente maracuyá, yellow passion fruit (Ortiz 2010) o maracujá-amarelo (Sousa *et al.* 1997). El maracuyá amarillo es la forma más conocida en el comercio agrícola pero su producción ha disminuido, debido a la competencia y altos precios, dando lugar al maracuyá morado como alternativa más agradable al consumidor debido a su aroma más fuerte y sabor más dulce respecto al fruto amarillo (Ortiz 2010).

A parte del color del fruto, el sabor y la resistencia a enfermedades, *P. edulis* f. *edulis* y *P. edulis* f. *flavicarpa* no muestran diferencias contrastantes a simple vista (Crochemore *et al.* 2003). Sin embargo, la caracterización molecular puede diferenciar entre individuos de *P. edulis* sin dependencia del ambiente (Fonseca *et al.* 2009).

La mayoría de los estudios moleculares han reportado el uso exitoso de las técnicas RAPD, AFLP y SSR para establecer la diversidad genética entre y dentro

de especies silvestres y comerciales de *Passiflora* ssp., colectadas en países como Brasil, Colombia, Australia y Venezuela (Andrade *et al.* 2002, Crochemore *et al.* 2003, Fonseca *et al.* 2009, Oliveira *et al.* 2005, Ortiz 2010, Pérez *et al.* 2009). La mayoría de las investigaciones se ha hecho con RAPD, sin embargo se considera que AFLP es un mejor sistema para generar huellas de ADN por ser altamente reproducibles y no requiere de conocimiento previo de la secuencia de ADN (Tang *et al.* 2003, Ganga *et al.* 2004.).

Andrade *et al.* (2002) establecieron que *P. edulis* f. *edulis* Sims y su variedad botánica *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener tienen una similaridad del 34.35% por lo que son altamente variables cuando son analizados con RAPDs. Más interesantes aún fueron los resultados reportados por Crochemore *et al.* (2003) pues revelaron evidencia de que *P. edulis* f. *edulis* es ascendente genético de *P. edulis* f. *flavicarpa* y que la segunda se diferencia dentro del grupo de la primera. En otras palabras, que la forma amarilla se originó a partir de una mutación de *P. edulis* f. *edulis* y no de un cruce interespecífico con una especie diferente.

Tanto Oliveira *et al.* (2005) como Fonseca *et al.* (2009) introdujeron el uso de microsatélites nuevos y al azar para la determinación de la diversidad genética entre materiales de la misma forma genética.

Las técnicas AFLP y SSR fueron utilizadas (Ortiz 2010) para estudiar la diversidad genética inter-específica en materiales de maracuyá amarillo colectados en Colombia, mostrando poca variabilidad entre ellos. Sin embargo, sí encontró ventajas en la técnica AFLP para discriminar al maracuyá amarillo del morado. En este caso, los SSR reportados por Oliveira *et al.* (2005) no fueron informativos.

En términos generales, se ha establecido que el índice de diversidad genética de *P. edulis* Sims es alto y debe estar dado por el flujo de genes inter e intra-específico (Fonseca *et al.* 2009) en cruces naturales y artificiales entre individuos adaptados a diferentes regiones agro-climáticas (Crochemore *et al.* 2003).

En Guatemala, el cultivo de maracuyá es una introducción reciente que ya muestra diversidad agromorfológica y potencial económico para pequeños productores. Debido a esto, el ICTA realizó un muestreo en jardines de productores que usan variedades comerciales introducidas de otros países y el resultado fue la primera colección guatemalteca de *P. edulis* que agrupa a nueve genotipos (Lacán e Illescas 2010).

El estudio de diversidad genética de dicha colección generaría información útil para discriminar entre las introducciones de *P. edulis* f. *edulis* y *P. edulis* f. *flavicarpa*, detectar duplicados y establecer a mediano plazo programas de mejoramiento genético, agroindustria, conservación, diversificación de cultivos y alimentos para consumo nacional y exportación.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar, con marcadores moleculares AFLPs, nueve materiales de maracuyá cultivados en Guatemala para determinar la diversidad genética existente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal.** En el período julio 2010/mayo 2011, se analizaron nueve accesiones de maracuyá colectadas en un estudio anterior en campos productores de Guatemala (Lacán e Illescas 2010). La caracterización morfológica de dichos materiales no reveló la diversidad genética presente. El avance más significativo fue determinar a qué forma botánica pertenecen las accesiones colectadas, utilizando el color del fruto, el aroma y el sabor como marcadores. De aquí que los nueve materiales colectados se clasificaran en cinco pertenecientes a las especies *P. edulis* f. *edulis*, de fruto morado, y cuatro de *P. edulis* f. *flavicarpa*, de fruto amarillo (Cuadro 1) (Lacán e Illescas 2010). Para este estudio molecular se ordenaron según su clasificación varietal y se conservó el número de accesión correspondiente a cada material en la colección (Cuadro 1).

**Extracción, verificación de integridad y cuantificación de ADN.** Las primeras hojas, diferentes de las primarias, de tres plantitas de quince días de edad, fueron seleccionadas al azar para hacer una mezcla de material vegetal (aproximadamente 200 mg), la cual fue macerada con pistilos y nitrógeno líquido dentro de tubos de microcentrifuga de 1,5 ul. El polvo obtenido se sometió al protocolo de extracción propuesto como se describe en Ponciano *et al.* 2009. El precipitado resultante se resuspendió en 150 µl de buffer TE (10mM Tris-HCL, 1mM EDTA, pH 8,00) y se almacenó a 4°C. La integridad del ADN fue verificada cargando 10 µl en un gel de agarosa al 0,8%. A partir de diluciones 1:200 se cuantificó el ADN en un espectrofotómetro Bio-Rad SmartSpec3000 con un factor de conversión A260 nm 1,0= 50,0 µg/ml. La calidad del ADN se determinó a partir de la razón A260/A280. El ADN se diluyó a 25 ng/µl para las siguientes ampliificaciones (Ponciano 2004).

**Amplificación y visualización de AFLPs.** Para este primer intento de establecer la huella genética de las accesiones de maracuyá, se propuso la técnica AFLP para generar información sobre similitudes y diferencias entre los materiales con base en los alelos presentes para un rango de loci amplificados a lo largo del genoma. Los recursos disponibles limitaron el estudio a la amplificación de diez combinaciones de partidores selectivos (Cuadro 2). Estas fueron escogidas con base en información reportada previamente en amplificación de RAPDs, RAM y SSR (Andrade *et al.* 2002, Crochemore *et al.* 2003, Fonseca *et al.* 2009,

**Cuadro 1.** Identificación de las accesiones caracterizadas con AFLP (Lacán e Illescas 2010). Guatemala, enero 2010.

Accesión	Especie	Color de fruto	Grados Brix, jugo	Lugar de colecta
C1(1)	<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> Sims	Morado	15	Totonicapán, Guatemala
C2(2)	<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> Sims	Morado	15	Guatemala, Guatemala
C3(8)	<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> Sims	Morado	16	Sacatepéquez, Guatemala
C4(9)	<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> Sims	Morado	18	Sacatepéquez, Guatemala
C5(10)	<i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i> Sims	Morado	17	Chimaltenango, Guatemala
C6(3)	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Amarillo	14	Zamorano, Honduras
C7(5)	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Amarillo	14	Guatemala, Guatemala
C8(6)	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Amarillo	11	Huehuetenango, Guatemala
C9(7)	<i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i> Deg.	Amarillo	15	Huehuetenango, Guatemala

**Cuadro 2.** Amplificaciones selectivas utilizadas en la caracterización molecular de maracuyá y número de polimorfismo AFLP revelados. Guatemala, diciembre 2009.

	Combinación AFLP	No. bandas polimórficas
1	E+ACA /M+CAA	08
2	E+ACC /M+CAC	02
3	E+ACG /M+CAG	28
4	E+ACT /M+CAT	02
5	E+ACA /M+CTA	16
6	E+AGC /M+CTA	08
7	E+AGG /M+CTC	00
8	E+ACT /M+CTG	23
9	E+AAC /M+CTT	11
10	E+ACA /M+CTT	08
	<b>Total</b>	<b>106</b>

Oliveira *et al.* 2005) sobre secuencias de nucleótidos más frecuentes en maracuyá.

Para todas las muestras se amplificaron marcadores AFLP utilizando el sistema AFLP® Analysis System I (Invitrogen™ Life Technologies, California, USA) (Invitrogen Corporation 2003) siguiendo los protocolos establecidos por el proveedor. Se utilizó una alícuota de 10 µl de ADN genómico total diluido en la reacción de digestión con las enzimas de restricción *EcoR* I y *Mse* I. Las reacciones se incubaron a 37°C por dos horas, seguido de una incubación a 70°C por quince minutos y una incubación en hielo por cinco minutos para desactivar las enzimas. Los fragmentos de ligación resultantes fueron ligados a adaptadores *EcoR* I y *Mse* I para generar el ADN molde el cual fue utilizado en las amplificaciones siguientes. La preamplificación consistió en amplificar el ADN molde con partidores complementarios a los adaptadores y al sitio de restricción *Mse* I más un nucleótido adenina (Partidor *Mse* I +A) y al sitio de restricción *EcoR* I más un nucleótido citosina (Partidor *EcoR* I +C). El programa de preamplificación consistió en 20 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, seguido de hibridización a 56°C por 60 segundos y una elongación a 72°C por 60 segundos. La preamplificación de las muestras fue verificada cargando 10 µl de producto de PCR en un gel de agarosa 1,2%. Las muestras se

mezclaron con buffer de carga y corridas por 30 minutos a 50V y el gel se tiñó con bromuro de etidio. En todas las muestras, el producto de preamplificación fue amplificado selectivamente utilizando combinaciones de partidores *EcoR* I y *Mse* I más tres nucleótidos selectivos adicionales cada uno (Cuadro 2).

Estos marcadores fueron amplificados por medio de PCR convencional en placas de 96 pozos en un termociclador ATC401 Apollo CLP. El programa de amplificación selectiva consistió en 36 ciclos distribuidos en dos etapas: Etapa 1. Trece ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, seguido de hibridización a 65°C por 60 segundos y una elongación a 72°C por 60 segundos; con una reducción de 0,7°C en la temperatura de hibridización por cada ciclo sucesivo. Etapa 2. Veintitrés ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 segundos, seguido de hibridización a 56°C por 60 segundos y elongación a 72°C por 60 segundos. Las mezclas de reacción finales fueron preparadas según las cantidades indicadas en el protocolo del proveedor (Invitrogen Corporation 2003).

Después de la amplificación, se agregó un volumen igual de solución de formamida al 95% formamida, 3% agua, 2% EDTA0.5M, 0,01% azul de bromofenol y 0,01% xilen cianol) y la mezcla fue desnaturalizada por tres minutos a 94°C y durante dos minutos en hielo. Se realizó una electroforesis vertical en gel de poliacrilamida al 5% (acrilamida:bis-acrilamida 29:1) en condiciones desnaturalizantes con 5M de urea en 1X TBE. Se corrieron en unidades de electroforesis Bio-Rad Sequi-Gen GT a una potencia constante de 50W durante una hora quince minutos. En todos los geles se incluyó una escalera de peso molecular de 100 pares de bases (pb). El procedimiento de tinción se realizó como se describe en Ponciano *et al.* (2009). El gel se secó por veinticuatro horas y se obtuvo una imagen por scanner (Ponciano *et al.* 2009).

**Análisis de datos.** A partir de los patrones de bandas visualizadas en los geles, se codificó la información alélica en una matriz de ausencia y presencia, la cual fue utilizada para análisis de similaridad y de correspondencia en NTSYS-pc 2.02c (Rohlf 1992). Se utilizó el subprograma SIMQUAL para crear una matriz de distancias genéticas con coeficiente de Dice. Esta matriz se utilizó en el subprograma SAHN para realizar un análisis de conglomerados y construir un dendrograma basado en el método de agrupamiento UPGMA y visualizarlos con el subprograma TREE

PLOT. Con el subprograma CORRESP se construyó un diagrama en dos dimensiones mostrando la distribución de las accesiones en el espacio (Ponciano *et al.* 2009). La diversidad genética entre los grupos identificados en el dendrograma basada en distancias genéticas de Nei (Nei 1978) se calculó utilizando el programa POPGENE versión 1.32 (Yeh *et al.* 1997). La matriz utilizada para este programa se construyó representando cada banda o alelo amplificado como un genotipo diferente dada la dominancia de los AFLPs (Wagara *et al.* 2004). El análisis estadístico se realizó en los módulos DOMINANT DATA ANALYSIS- DIPLOID DATA-SINGLE POPULATIONS AND MULTIPLE POPULATIONS. Los parámetros de diversidad genética determinados fueron: distancia genética de Nei (Nei), índice de diferenciación genética ( $G_{ST}$ ), y flujo genético (Nm). La diferenciación genética fue calculada con la fórmula de Nei (1978)  $G_{ST} = D_{ST} / H_T$ , donde  $H_T = H_S + D_{ST}$  y  $D_{ST} = H_T - H_S$ , donde  $H_T$  es la diversidad total para las poblaciones y  $D_{ST}$  es la diversidad genética entre poblaciones (Blair *et al.* 2007). El flujo genético es igual al número de migrantes entre poblaciones por generación calculada en base a la fórmula  $Nm = 0,5(1 - G_{ST}) / G_{ST}$  (Blair *et al.* 2007).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis de AFLPs en la colección de maracuyá

Se recopiló la información de un total de 106 bandas polimórficas, que fueron tratadas como loci individuales debido a la naturaleza dominante de los marcadores AFLPs (Cuadro 2). Todas las bandas monomórficas fueron eliminadas del análisis. El promedio fue de diez AFLPs por combinación selectiva. Comparado con el promedio de veintiocho bandas polimórficas por combinación, reportado previamente (Ortiz 2010), es un valor bajo. La diferencia puede estar dada porque no se incluyeron genotipos nativos o de otras especies cercanas dentro de los genotipos comerciales de Guatemala evaluados en este estudio. Lamentablemente, los resultados del estudio de Ortiz (2010) fueron publicados después de que se realizaran las amplificaciones selectivas en este trabajo por lo que no se pudieron tener en cuenta en esta caracterización.

El rango de bandas polimórficas amplificadas fue de 0 a 28. La combinación E+ACG/M+CAG fue la

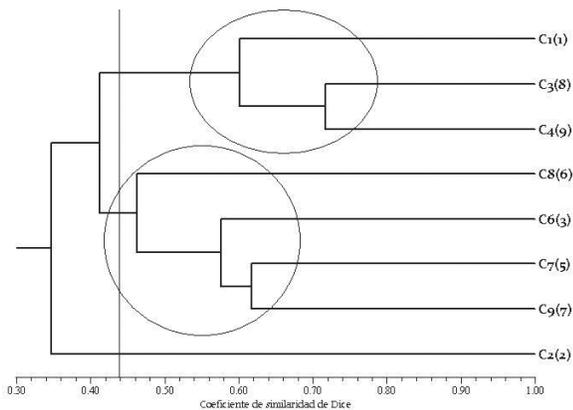
más informativa con veintiocho loci polimórficos y la menos informativa fue E+AGG/M+CTC con cero loci amplificados. Esta combinación fue eliminada del análisis estadístico. El número de AFLPs amplificados depende del cultivo que se trabaja por lo que es recomendable amplificar todas las combinaciones posibles y utilizar aquellas que amplifiquen más bandas polimórficas. La información generada con las combinaciones usadas en esta investigación puede ser de utilidad para estudios futuros pues complementan las combinaciones recomendadas por estudios previos como el de Ganga *et al.* (2004) y Ortiz (2010). Aunque es deseable amplificar más de diez combinaciones para establecer de manera concluyente la diversidad genética presente en una población, este estudio se puede considerar como preliminar y muy informativo ya que no se tiene más información del contenido genético de esta colección de maracuyá.

La accesión 5(10) no amplificó AFLPs en las combinaciones nueve y diez.

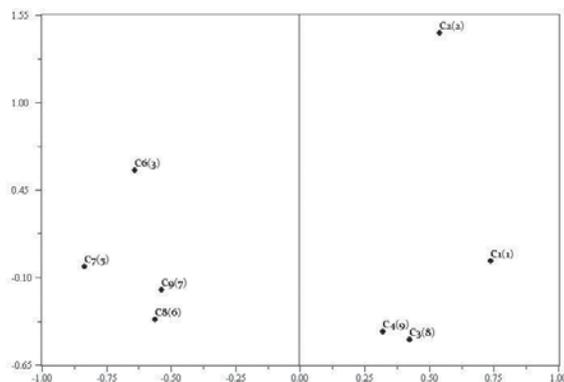
### Análisis de similaridad genética y agrupamientos

Para establecer la diversidad genética a partir de los datos generados en la visualización de fragmentos polimórficos se construyó una matriz de similaridad con el coeficiente de Dice (1945). En la representación gráfica de la relación genética entre genotipos o dendrograma UPGMA (Figura 1) y se evidenció que todos los materiales son genéticamente diferentes. Así se descartó la sospecha de genotipos duplicados (Crochemore *et al.* 2003). El análisis de agrupamientos del dendrograma identificó dos grupos con un 44% de similitud. La accesión C2(2) se separa del resto con un 40% de similaridad. Este resultado puede interpretarse como la posibilidad de que dicho material esté emparentado con un genotipo más ancestral y común al resto de accesiones. La accesión C5(10) fue eliminada del análisis por falta de datos.

La primera población incluye a los materiales pertenecientes a la especie *P. edulis* f. *edulis* Sims. Si se cambia la posición espacial de la accesión C2(2) hacia arriba en el dendrograma, se podría agrupar junto a esta población dando sentido al resultado previo en que fue clasificada morfológicamente como *P. edulis* forma *edulis* (Cuadro 1). El análisis de correspondencia (Figura 2) apoya la acción de incluir el genotipo C2 (2) en la agrupación, ya que la representación espacial en



**Figura 1.** Dendrograma de la relación entre las muestras de la colección de maracuyá basada en el coeficiente de similitud de Dice para nueve combinaciones selectivas de AFLP. Guatemala, mayo 2011.



**Figura 2.** Análisis de correspondencia en dos dimensiones de la colección de maracuyá. Guatemala, mayo 2011.

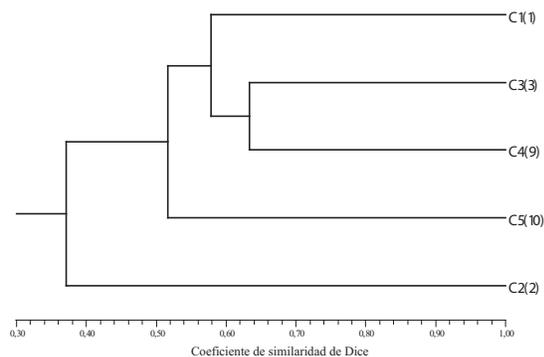
dos dimensiones muestra su cercanía al conglomerado de genotipos C1(1), C3(8) y C4(9). El hecho de que se separe puede ser debido a que es una introducción proveniente de Brasil que tiene menos tiempo de establecimiento en Guatemala y por lo mismo tenga un grado mayor de diferenciación respecto al resto de genotipos en la colección (Fonseca *et al.* 2009). Por otro lado, los genotipos C3(8) y C4(9), que fueron colectados en la misma finca en Sacatepéquez, aunque son diferentes tienen una similitud del 74%. Estos pueden ser producto de la polinización cruzada entre estas accesiones colectadas en ubicaciones tan cercanas.

La segunda población agrupa a todos los genotipos identificados como *P. edulis* f. *flavicarpa*. Con estos resultados se corrobora la clasificación inicial de los materiales colectados respecto a su inclusión en una u otra forma de maracuyá principalmente por el color de fruto. Dicha característica es un buen marcador para la clasificación de nuevos genotipos (Sousa y Meletti 1997). Las accesiones C8(6) y C9(7) fueron colectados en el mismo municipio de Huehuetenango pero solo comparten un coeficiente de similitud de 0,46.

Un nuevo análisis de similitud fue realizado entre las accesiones clasificadas dentro de la especie *P. edulis* f. *edulis* para establecer la relación entre la accesión C5(10), que inicialmente fue excluida, y el resto de materiales de fruto morado. Aquí se utilizó la información genotípica generada con las combinaciones selectivas donde el material C5(10) amplificó en la misma proporción que el resto. El dendrograma resultante (Figura 3) es consistente con la agrupación de la colección completa ya que el genotipo 2 queda fuera del conglomerado de los genotipos C1(1), C3(8) y C4(9). Dentro de este conjunto mayor se agrupa el material C5(10) con un coeficiente de similitud de 0,53.

### Análisis de la diversidad genética

La diversidad genética calculada por el índice de Nei para todos los genotipos de la colección de maracuyá fue 0,3160 (Cuadro 3). Se observó que el grupo de *P. edulis* f. *edulis* presentó el mayor valor de diversidad (0,2725).



**Figura 3.** Dendrograma de la relación entre los genotipos de *P. edulis* f. *edulis* basada en el coeficiente de similitud de Dice para seis combinaciones selectivas de AFLP. Guatemala, mayo 2011.

**Cuadro 3.** Parámetro de diversidad genética para las poblaciones identificadas en el análisis de agrupamientos. Guatemala, mayo 2011.

Población	Nei	H <sub>t</sub>	H <sub>s</sub>	G <sub>st</sub>	Nm
1. <i>P. edulis</i> f. <i>edulis</i>	0,2725				
2. <i>P. edulis</i> f. <i>flavicarpa</i>	0,1988				
Total	0,3160	0,3160	0,2357	0,2542	1,4670

Abreviaciones: Diversidad genética según Nei (1978), diversidad total (H<sub>t</sub>), diversidad entre grupos (H<sub>s</sub>), diferenciación genética (G<sub>st</sub>), flujo genético (Nm).

La diversidad genética entre las dos poblaciones, formadas a partir del análisis de conglomerados, relativa a la diversidad genética total fue 0,2542. Este valor indica que hubo una baja diferenciación entre los grupos analizados, puesto que sólo el 25,42% de la variación genética observada en este estudio fue debida a la diferenciación entre las dos formas de maracuyá, comparada con el 74,58% de variación observada dentro de los grupos. Esto apoya las diferencias genéticas establecidas previamente entre *P. edulis* f. *edulis* Sims y *P. edulis* f. *flavicarpa* Degener, para separarlas en grupos diferentes. También, el valor de diversidad genética dentro de las poblaciones hace evidente el alto grado de intercambio genético que hay entre los individuos (Ganga *et al.* 2004, Fonseca *et al.* 2009).

El flujo genético total fue alto (mayor de 1,0000) (Nm=1,4670) como se esperaba debido a la naturaleza alógama del maracuyá, en la cual se favorecen los cruzamientos entre los individuos del mismo material, entre estos de la misma forma botánica de maracuyá y entre individuos de diferentes especies. Esto coincide con resultados previos (Andrade *et al.* 2002, Crochemore *et al.* 2003, Ganga *et al.* 2004, Fonseca *et al.* 2009, Oliveira *et al.* 2005, Ortiz 2010).

La caracterización preliminar con AFLPs reveló alta diversidad natural dentro de la colección de maracuyá cultivado en Guatemala. No se detectaron genotipos duplicados y se observó que los materiales forman conglomerados de acuerdo a su forma botánica. De acuerdo a los valores de los parámetros calculados, la diferenciación genética entre agrupaciones fue alta y cada grupo mostró un amplio índice de diversidad.

Se determinó utilizar siete de las combinaciones AFLP reportadas en este estudio (E+ACA /M+CAA, E+ACG /M+CAG, E+ACA /M+CTA, E+AGC /M+CTA, E+ACT /M+CTG, E+AAC /M+CTT, E+ACA

/M+CTT). En el futuro, se debe amplificar otras combinaciones para establecer el grado de información genética que puede proporcionar cada una. Con la utilización de un mayor número de combinaciones selectivas, se pueden obtener resultados más concluyentes en nuevos estudios de diversidad genética tanto de maracuyá como de otros cultivos que empiecen a tener importancia económica en la región hispanoamericana.

## LITERATURA CITADA

- Andrade, A; De Macedo, E; Oliveira, J. 2002. Genetic variations among passion fruit species using RAPD markers. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24(3):738-740.
- Blair, M; Diaz, J; Hidalgo, R; Diaz, L; Duque, M. 2007. Microsatellite characterization of Andean races of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical Applied Genetics* 116:29-43.
- Crochemore, M; Correa, H; Estevez, L. 2003. Genetic Diversity in Passion Fruit (*Passiflora* spp.) evaluated by RAPD markers. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46(4):521-527.
- Dice, L. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26:297-302.
- Fonseca, N; Marquez, P; Moreno, J; Teran, W; Schuler, I. 2009. Caracterización molecular de materiales cultivados de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis*). *Universitas Scientiarum* 14(2-3):135-140.
- Ganga, R; Ruggiero, C; Lemos, E; Grili, G; Gonçalves, M; Chagas, E; Wickert, E. 2004. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares fAFLP. *Revista Brasileira de Fruticultura* 26(3):494-498.
- Iliná, A; Martinez, J; Segura, E; Villareal, J; Gregorio, K. 2009. Biosorción de arsénico en materiales derivados

- de maracuyá. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 25(4):201-216.
- Invitrogen Corporation. 2003. AFLP Analysis System I. Version B. User Manuel. USA. 18 p.
- Lacan, J; Illescas, V. 2010. Evaluación de genotipos locales e introducidos de maracuyá (*Passiflora* spp.), enfatizando el aprovechamiento de frutales nativos. AGROCYT 026-2004. Guatemala, Guatemala. ICTA-SENACYT. 75 p.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Oliveira, E; Padua, J; Zucchi, M; Camargo, L; Fungaro, M; Vieira, M. 2005. Development and characterization of microsatellites markers from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Molecular Ecology Notes* 5(2):331-333.
- Ortiz, D. 2010. Estudio de la variabilidad genética en materiales comerciales de gulupa (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) en Colombia. Tesis Mag. Sc. Bogotá, Colombia. UNC. 127 p.
- Perez, I; Vasquez, S; Perez, D; De La Rosa, O; Salazar, E. 2009. Huella genética de genotipos silvestres y comerciales de *Passiflora* spp. utilizando patrones RAPD. *Bioagro* 21(3):203-208.
- Ponciano, K. 2004. Evaluación de técnicas de extracción de ADN y de visualización para marcadores microsatélites en caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.). Tesis de Licenciatura. Guatemala, Guatemala. UVG.63 p.
- Ponciano, K; Villatoro, J; Molina, L. 2009. Caracterización preliminar con microsatélites de la colección guatemalteca de frijol trepador. *Agronomía Mesoamericana* 20(2):245-254.
- Rohlf, F.J. 1992. NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis systems. Versión 1.70. Exeter Publishing. New York, USA. 250 p.
- Sousa, J; Meletti, L. 1997. Maracujá: espécies, variedades, cultivo. FEALQ. São Paulo, Brasil. 179 p.
- Tang, T; Zhong, Y; Jian, S; Shi, S. 2003. Genetic diversity of *Hibiscus tiliaceus* (Malvaceae) in China assessed using AFLP markers. *Annals of Botany* 92:409-414.
- Wagara, I; Mwang'Ombe, A; Kimenju, J; Buruchara, R; Jamnadass, R; Majuwa, P. 2004. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in Kenya as revealed by AFLP and group-specific primers. *Journal of Phytopathology* 152:235- 242.
- Yeh, FY; Boyle, R; Ye, T; Mao, Z. 1997. POPGENE, the user friendly shareware for population genetic analysis. Versión 1.32. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Alberta, USA. 29 p.