

Caracterización morfológica y molecular de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) nativo de Nayarit, México

Morphological and molecular characterization of nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) native of Nayarit, Mexico

Graciela Guadalupe López-Guzmán¹ ,
 Rosendo Balois-Morales² ,
 Pedro Ulises Bautista-Rosales² ,
 José Orlando Jiménez-Zurita^{2*} 

¹Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Km. 9 Carretera Tepic-Compostela. Xalisco, Nayarit, México.

²Unidad Tecnología de Alimentos. Secretaría de Investigación y posgrado. Universidad Autónoma de Nayarit. Ciudad de la cultura S/N, CP. 63000, Tepic, Nayarit, México.

*Autor de correspondencia:
jose-jimenez@uan.edu.mx

Artículo científico

Recibido: 30 de marzo 2023

Aceptado: 15 de noviembre 2023

Como citar: López-Guzmán GG, Balois-Morales R, Bautista-Rosales PU, Jiménez-Zurita JO (2023) Caracterización morfológica y molecular de nanche (*Byrsonima crassifolia* L.) nativo de Nayarit, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 10(3): e3714. DOI: 10.19136/era.a10n3.3714

RESUMEN. El nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K) pertenece a la familia Malpighiaceae. El género *Byrsonima* tiene distribución neotropical y presenta gran diversidad con más de 100 especies. El objetivo del trabajo fue caracterizar la variabilidad morfológica y genética del fruto de nanche nativo. El trabajo se realizó durante el año 2020, se hizo una recolecta en huertos comerciales en San Lorenzo (SLs), municipio de Ruiz, Nayarit, se realizó una caracterización morfológica, fisicoquímica y molecular, el análisis estadístico se efectuó con el paquete (SAS) ver.9.0 y los datos genéticos fueron analizados con el software GenAIEx. Los genotipos SL-4 y SL-8 (cultivados) y de los nativos NAT-5 y NAT-6, son de selección del productor, que optan por las siguientes características: nanche grande, dulce, agridulce o agrio, y de color amarillo. Se encontraron ocho marcadores microsátélites ISSRs con los cuales se obtiene polimorfismo, el análisis de conglomerados formó cuatro grupos con las 15 accesiones de nanche, el número máximo de alelos fue siete, la heterocigosis esperada (He) se obtuvo en un rango de 0.58-0.62, la cual es una medida de la diversidad genética, estos índices indican alta diversidad genética de nanche en los municipios de Nayarit.

Palabras clave: *Byrsonima crassifolia*, calidad de fruto, marcadores moleculares, recursos filogenéticos, variabilidad.

ABSTRACT. The nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K) belongs to the Malpighiaceae family. The genus *Byrsonima* has a neotropical distribution and is highly diverse with more than 100 species. The objective of this work was to characterize the morphological and genetic variability of the native nanche fruit. The work was carried out during the year 2020, a collection was made in commercial orchards in San Lorenzo (SLs), municipality of Ruiz, Nayarit, a morphological, physicochemical and molecular characterization was carried out, the statistical analysis was carried out with the package (SAS) ver.9.0 and the genetic data were analyzed with the GenAIEx software. The SL-4 and SL-8 genotypes (cultivated) and the native NAT-5 and NAT-6, are selected by the producer, who opts for the following characteristics: large, sweet, bittersweet or sour nanche, and yellow in color. Eight ISSRs microsatellite markers were found with which polymorphism is obtained, the cluster analysis formed four groups with the 15 nanche accessions, the number of alleles was seven maximums, the expected heterozygosity (He) was obtained in a range of 0.58- 0.62, which is a measure of genetic diversity, these indices indicate high genetic diversity of nanche in the municipalities of Nayarit.

Key words: *Byrsonima crassifolia*, fruit quality, molecular markers, phylogenetic resources, variability.

INTRODUCCIÓN

El nanche (*B. crassifolia* (L.) H.B.K) pertenece a la familia Malpighiaceae. El género *Byrsonima* tiene una distribución neotropical y consta de más de 100 especies (Cano y Marroquín 1994). *B. crassifolia* (L.) H.B.K es una especie nativa de México y América Central (Argueta y Mata 2009). En México, 1 574.36 ha de árboles de nanche se han establecido con un rendimiento medio de 7 713 t ha⁻¹. En 2022, Nayarit reportó una producción promedio de 1 165 t, representando el 15.10% de la producción nacional (SIAP 2022). Debido a su exquisito sabor agridulce se consume en fresco, aunque se utiliza para elaborar ates, refrescos, mermeladas, almíbares, helados, licores, cremas, tartas y gelatinas, entre otros (Caballero *et al.* 2012). Al nanche se le atribuyen muchas propiedades importantes con valor alimenticio, Agredano-de la Garza *et al.* (2020) menciona que es un fruto de consumo en fresco que aporta un alto contenido de compuestos bioactivos con actividad antioxidante, vitamina C y fibra dietética, además, a la presencia de compuestos fenólicos, que pueden contribuir a la prevención de enfermedades cardiovasculares y otras condiciones crónicas de salud como cáncer, diabetes y el Alzheimer (Ahmad *et al.* 2018).

Nayarit es uno de los centros de diversidad genética del nanche en los municipios comprendidos en el área neotropical y se ha dispersado por acarreo por los productores de los genotipos sobresalientes desde el punto de vista comercial, que incluyen el tamaño, color y sabor del fruto (Medina-Torres *et al.* 2016). En Nayarit existen plantaciones de nanche que se localizan en la zona neotropical donde la mayoría de la vegetación es tipo sabana, principalmente en los municipios de Ruiz, Huajicori, Tepic, Santiago Ixcuintla, San Blas y Compostela del estado de Nayarit (Medina-Torres *et al.* 2004). Aunque el nanche tiene excelentes propiedades sensoriales, su uso es aún limitado y artesanal, con poca producción y comercialización tiende a estar restringida al mercado local (Pereira y Santos 2015). La diversidad genética, se puede realizar de manera morfológica y molecular, en base a esto se pueden clasificar e identificar rasgos potencialmente valiosos de los cul-

tivos, así como seleccionar variedades locales que podrían ser utilizadas en programas de mejoramiento genético (Anuragi *et al.* 2016, Rosales-Espinoza *et al.* 2022, Carrodegua-González y Zuñiga-Orozco 2021).

La ventaja principal de utilizar marcadores moleculares es que son universales y no los afecta el medio ambiente, se han utilizado en diferentes plantas como son guanábana, crasuláceas y aguacate (Talamantes-Sandoval *et al.* 2019, Lira-Ortíz *et al.* 2021, Andrade-Rodríguez *et al.* 2019, López-Guzmán *et al.* 2021). Las Inter-Secuencias Simples Repetidas (ISSR) son marcadores altamente polimórficos y han probado su utilidad en estudios de diversidad genética, filogenia, identificación de genes, mapeo genético y biología evolutiva (Cai *et al.* 2010).

Los marcadores moleculares llamados microsatélites tienen ciertas ventajas, una de ellas es que son marcadores homólogos para diferentes especies y géneros, lo que permite hacer estudios comparativos, entre éstos (Lassois *et al.* 2016, Vega-Ramos *et al.* 2022, Barrera-Guzmán y Legaria-Solano 2021, Rosales-Espinoza *et al.* 2022). En general, en México son escasos los estudios a nivel genético en frutos de nanche que permitan aprovechar este recurso fitogenético. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar la efectividad de los marcadores moleculares ISSR para determinar la diversidad genética en huertos comerciales y nativos de nanche (*B. crassifolia*) en el estado de Nayarit.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en ciclo agrícola 2020, la recolecta se realizó en huertos comerciales de nanche en San Lorenzo (SL1,2,3,4,5,6, y 7) municipio de Ruiz, Nayarit; en los huertos denominados el “El Picui” (21.94347° LN, 105.07254° LO, 53 msnm) y “La Curva” (21.3347° LN, 105.0886° LO, 43 msnm); y en los sitios donde se encuentran nanches silvestres o nativos (NAT1,2,3,4,5,6,7 y 9). Se muestrearon 15 genotipos, de cada uno de ellos se recolectaron 10 frutos para la determinación fisicoquímica y morfológica.

Las variables evaluadas en el fruto fueron: peso fresco fruto (PFF), longitud (LF), diámetro ecuatorial (DE) y diámetro polar (DP), utilizando un vernier electrónico (Mitutoyo). A los frutos (madurez de consumo) se le separaron las semillas de la pulpa, éstas se deshidrataron directamente expuestas a la radiación solar, por un periodo de 72 horas, obteniendo el peso seco de la semilla (PSS).

De los 15 genotipos que se muestrearon, se seleccionaron al azar 10 hojas de tamaño homogéneo, evaluando área (A, cm²), longitud (B, cm), anchura media (C, cm) y anchura máxima de hoja (D, cm) para esto se utilizó un integrador de área foliar (Li-Cor); adicional se obtuvo el peso fresco (PFH, g), peso seco (PSH, g) de la hoja, utilizando una balanza digital (Precisa) y balanza electrónica (Ohaus).

A los frutos de nache se le evaluaron contenido de sólidos solubles totales (°Brix) y acidez titulable (AT), utilizando refractómetro (0-32 °, Atago) poniendo directamente una gota de jugo en la celda del aparato, la AT se evaluó en base al porcentaje de ácido cítrico presente, la titulación se realizó con 0.1% de NaOH y fenolftaleína 1% como indicador (AOAC, 2005), el pH se midió de la pulpa macerada de 10 frutos (con dilución 10:1) con potenciómetro digital (Hanna).

Análisis molecular

Para la extracción de ADN se colectaron hojas de cada genotipo y se conservaron en nitrógeno líquido, la técnica de extracción de ADN se llevó a cabo por el protocolo Bromuro de Hexadecil-Trimetil-Amonio (CTAB) propuesto por Shaingain-Marrof et al. (1989), con modificaciones: en tubos de 2 mL se colocaron 50 mg de tejido liofilizado y pulverizado al cual se agregó 1 mL de Buffer de extracción (ddH₂O, 100 mM tris HCL-7.5, 700 mM NaCl, 50 mM EDTA-8.0, CTAB 3%, 320 mM BME y PVP 3%), previamente calentado a 65 °C, mezclándolo perfectamente con el tejido. Las muestras se incubaron a 65 °C durante 45 min en agitación suave y continua; después de este tiempo, las muestras se dejaron enfriar durante 5 min y se agregaron 700 µL de cloroformo:octanol (24:1 v/v) con mezcla suave durante 15 min, seguido de centrifugación a 10.000 rpm en una centrífuga de

mesa (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) a temperatura ambiente. El sobrenadante fue transferido a un tubo nuevo de 2 mL, repitiendo el proceso.

Se agregaron 800 µL de etanol frío (-20 °C) al sobrenadante invirtiendo de manera suave los tubos hasta que se forma la pastilla de ADN, luego se centrifugó a 10.000 rpm durante 6 min y se decantó el sobrenadante, sin que se desprenda la pastilla de ADN que se encuentra en el fondo. Se realizaron lavados con etanol al 75 y al 95%. En cada lavado se agregaron 1000 µL de solución agitando suavemente durante 10 min, seguido de una centrifugación a 10.000 rpm durante 10 minutos. Las pastillas de ADN se dejaron secar para evaporar completamente el alcohol y luego se disolvieron en 300 µL de tampón TE (10mM Tris-HCl pH 8, 1 mM EDTA). Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

Cuantificación de ADN

La cantidad y calidad del ADN se determinaron por espectrofotometría (260/280 OD) en un Nanodrop 2000 (Genova Nano, Jenway, USA); además, se visualizaron las muestras mediante electroforesis de 100 ng de ADN genómico total en geles de agarosa al 1% con la solución de TBE 1X (Tris Borato-EDTA pH 8.0).

Marcadores microsatélites (SSR)

Se seleccionaron 10 marcadores microsatélites para *B. crassifolia* (L.) H.B.K a partir del trabajo de Croft y Schaal (2012) y se muestran en la Tabla 1. La reacción de PCR consistió en 10 µL de 0.8x REDTaq ready Mix™ PCR Reaction Mix R2523 (Sigma Aldrich Spruce Street, St. Louis, USA), 1.0 µL de cada marcador (0.5 mM), 2 µL de ADN (12.5 ng/µL) y 7 µL de agua libre de ADNasa para un volumen final de 20 µL. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: a 95 °C durante 5 min, seguido de 35 ciclos de 95 °C por 40 seg (desnaturalización), 55 °C durante 40 seg y 72 °C por 1 min (extensión) y una extensión final de 72 °C por 10 min en un Termociclador Prime Thermal Cycle (Simpliamp™).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se efectuó con el pa-

quete (SAS) ver. 9.0. donde se realizó un análisis de estadística descriptiva, se determinó varianza, medias, coeficiente de variación (CV), un análisis multivariado componentes principales y análisis de agrupamientos por el método de agrupamiento de Ward. Con los datos obtenidos a partir de los geles de agarosa se construyó una matriz binaria de datos dominantes (1 para presencia y 0 para ausencia). Los datos fueron analizados con el software GenAlEx 6.5 para determinar parámetros de diversidad genética a nivel de población como porcentaje de loci polimórficos (% P) y heterocigosidad esperada (He) y heterocigosidad observada (Ho). A partir de la matriz de distancias genéticas se generó un dendrograma basado en el método de Neighbor-Joining (Nei 1977) utilizando el programa MEGA 5.

Tabla 1. Lista de primers usados para el análisis molecular en *B. crassifolia* (L.) H.B.K y sus respectivas secuencias.

No.	Microsatélites
1	(GACA) ⁴
2	(ATG) ⁸
3	(GA) ¹⁰
4	(TACA) ⁶
5	(TC) ⁴ (TG)(TC) ¹⁵
6	(ACC) ² ATCGTCAC(ACC) ⁹
7	(GT) ¹¹
8	(GTTT) ⁵ T(GTTT) ¹
9	(GTT) ⁵
10	(ATTT) ⁷

RESULTADOS

Estadísticas simples

En el análisis de varianza, todas las variables originales de fruto de los genotipos de nanche evaluados resultaron altamente significativas ($P < 0.0001$); los coeficientes de variación (CV) oscilaron entre 11.98 a 2.91% vistos como una medida de precisión de las mediciones. La media general de las variables fue de 4.93 g para peso fresco del fruto (PFF), peso seco de la hoja (PSH) 0.59 g, diámetro polar de fruto (DP) 17.76 mm, diámetro ecuatorial de fruto (DE) 20.06 mm, peso fresco de la hoja (PFH) 1.47 g, peso seco de la semilla (PSS) 0.31 g, área (A) 53.44 cm², longitud (B) 11.99 cm, anchura media

(C) 4.34 cm y anchura máxima de la hoja (D) 6.28 cm.

Componentes principales

Dos componentes principales (CP's) explicaron 81.48% de la varianza total (VT). CP1 explicó 64.03% de la VT con un valor propio de 7.68% (Tabla 2); donde resultaron relevantes por los promedios de sus vectores característicos: A, B, PFH, PSH, DE, DP, D, PF, C, PSS y AC (Figura 1). El CP2 presentó una varianza proporcional de 17.45%, con un valor característico de 2.09. En este componente resultaron importantes para la agrupación de los genotipos de nanche con sólidos solubles totales del jugo del fruto (°Brix), la anchura media de la hoja (C) y el peso fresco del fruto.

Tabla 2. Vectores característicos de las variables de fruto y hoja en genotipos de nanche de los primeros tres componentes principales (CPs).

Variable	CP1	CP2
PFF: peso fresco del fruto (g)	-0.82	-0.51
PSH: peso seco de la hoja (g)	-0.89	0.33
DP: diámetro polar de fruto (mm)	-0.82	-0.50
DE: diámetro ecuatorial de fruto (mm)	-0.82	-0.48
BX: °Brix de la pulpa del fruto	0.32	-0.13
AC: acidez titulable	0.57	0.56
PFH: peso fresco de la hoja (g)	-0.91	0.29
PSS: peso seco de la semilla (g)	-0.75	-0.44
A: área de la hoja (cm ²)	-0.93	0.34
B: longitud de la hoja (cm)	-0.92	0.18
C: anchura media de la hoja (cm)	-0.77	0.51
D: anchura máxima de la hoja (cm)	-0.85	0.47
Valor característico	7.68	2.09
Varianza proporcional (%)	64.03	17.45
Varianza acumulada (%)	64.03	81.48

En el dendrograma con corte a distancia euclidiana de 0.30 se formaron tres grupos (Figura 2). El Grupo I integrado por SL-1, NAT-2 y NAT-7 (agridulce), NAT-1, NAT-3, NAT-9 (dulces). Con respecto a los sólidos solubles totales (°Brix) encontrados variaron de 17.2 (NAT-3) a 10.9 (NAT-9), Con respecto a la acidez titulable SL-1 tiene menor valor (1.0) y NAT-2 con un valor de 2.14. (Tabla 3). El Grupo II formado por SL-2, SL-7, SL-3, los cuales tienen un sabor dulce, los NAT-5 y NAT-6 tienen sabor agrio, los sólidos solubles totales (°Brix) arrojaron valores de para SL-2 de 17.65 el valor más alto y para NAT-5 de 11.70, la acidez titulable fue para SL-2 0.42 y SL-7 0.26. El Grupo III donde encontramos a SL-4, SL-5,

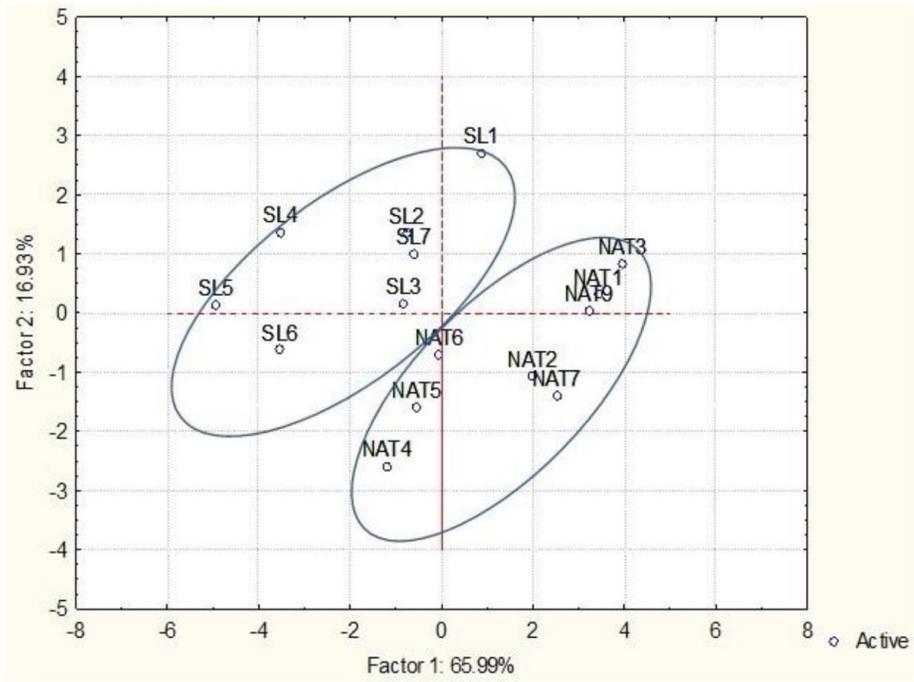


Figura 1. Diagrama de dispersión de 16 genotipos de nanche con base en dos componentes principales.

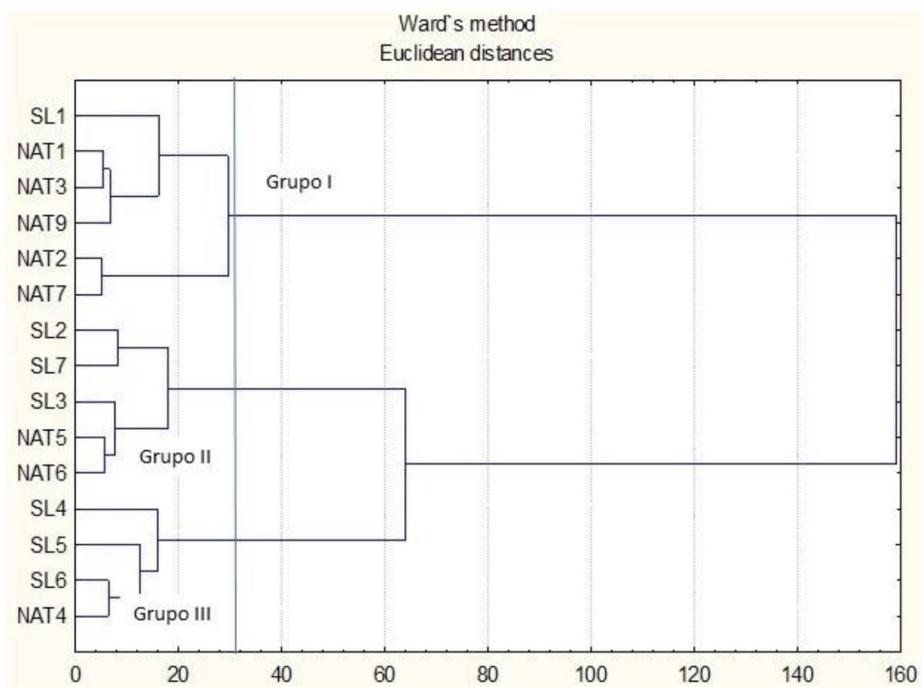


Figura 2. Dendrograma generado por 16 genotipos de nanche cultivados en Nayarit, utilizando el método de Ward.

Tabla 3. Características genéticas poblacionales de los ocho loci de microsatélites polimórficos en *B. crassifolia* (L.) H.B.K.

Locus	Tepic (N = 8)				San Lorenzo (N = 7)			
	Na	Ho	He	PIC (%)	Na	Ho	He	PIC (%)
Bcf01	7	0.40	0.73	58.62	1	0.25	0.25	19
Bcf02	6	0.25	0.70	60.50	6	0.14	0.71	60
Bcf03	3	0.43	0.48	40.65	3	0.00	0.36	27
Bcf05	1	0.00	0.43	30.47	7	0.00	0.73	62
Bcf06	6	0.13	0.73	61.79	6	0.00	0.67	54
Bcf07	7	0.50	0.80	71.19	7	1.00	0.78	65
Promedio	5	0.28	0.65	53.87	5	0.23	0.58	47.75

Na = número de alelos, Ho = heterocigosis observada, He = heterocigosis esperada, PIC = índice de contenido polimórfico.

SL-6 y NAT-4, esos tienen una acidez titulable que fluctúa entre 2.23 y 0.31%, con nanches ácidos y dulces.

La relación entre los azúcares y ácidos orgánicos presentes en los frutos definen el sabor final que éstos tienen al momento de consumirlos y se considera el parámetro más útil para clasificar a los nanches por su sabor. Donde, toda la serie de San Lorenzo (SLs), más NAT-6, NAT-3 y NAT-9 resultaron dulces; de la serie nativos NAT-7 y NAT-10 fueron agridulces y NAT-4, NAT-5, NAT-1, NAT-8, y NAT-2 resultaron ácidos, dicha relación puede resultar un parámetro útil de selección (Tabla 3). Las selecciones UAA1, UAA10 y UAA17 las cuales mostraron el mayor contenido de sólidos solubles totales, mientras que la selección UAA4 (5.4 °Brix) presentó el contenido más bajo. En cuanto a la acidez titulable, muestran valores para la pulpa de nanche desde 0.29% hasta 2.76%, y la selección UAA5 (2.76%) presentó el mayor contenido y la selección UAA1 (0.29%) el contenido más bajo. El índice de sabor (TSS/TA) en los frutos de nanche presentó una variación de 3.7 a 40.1, por lo tanto, se consideran de ácido a dulce.

Análisis molecular

Los valores del coeficiente de heterocigocidad esperada (He) oscila entre -1 a 1. El promedio de He de las tres zonas evaluadas fue de 0.050, Tepic obtuvo un valor de He promedio de 0.65, seguido de San Lorenzo con un valor de 0.58. Estos resultados indican que las dos zonas evaluadas son materiales criollos y, por lo tanto, la variabilidad suele ser alta.

Para los ocho loci polimórficos (P), se estimó el número de alelos por locus (Na), heterocigocidad observada (Ho), heterocigocidad esperada (He), para siete árboles de Tepic y nueve de San Lorenzo, en dos poblaciones se obtuvieron valores para Na de 7 a 1 en ambas poblaciones. Por lo tanto, se obtuvo el porcentaje promedio de loci polimórfico (P) donde Tepic presentó el promedio de P más alto (53.87%) y San Lorenzo de 47.75% (Tabla 3).

El análisis de conglomerados (Figura 3) formó 4 grupos con las 15 accesiones de nanche con una distancia euclidiana de 3.0. En el primer grupo formado por SL-1, NAT-3, SL-3, siendo NAT-6, NAT-7 y SL-5, SL-7 con características muy semejantes con tamaño chico y mediano de fruto, de forma esferoide y ovoide, con un rango de °Bx de 11.5-12.0 y ácido cítrico de 1.50-0.31. El grupo 2 formado por NAT-4 y NAT-5 con características iguales con sabor agridulce y tamaño mediano, con un °Bx de 12-13% y ácido cítrico de 12.23-3.4.

El grupo 3 formado por SL-2, NAT-9, SL-4 y SL-6 características similares siendo de sabor dulce y agrio, de tamaño mediano y grandes, °Bx de 11.5-12.0 y el ácido cítrico de 1.50-0.31 y el grupo 4 constituido por NAT-4 y NAT-2 los cuales tienen características muy similares de sabor agrio, tamaño moderado, °Bx de 12.0-13.0 y ácido cítrico de 2.23-3.4, los cuales se agrupan de forma muy independiente de los demás grupos, esta formación de grupo la genera estos marcadores moleculares ISSRs lo cual indica que son viables de utilizar para determinar variabilidad de nanche.

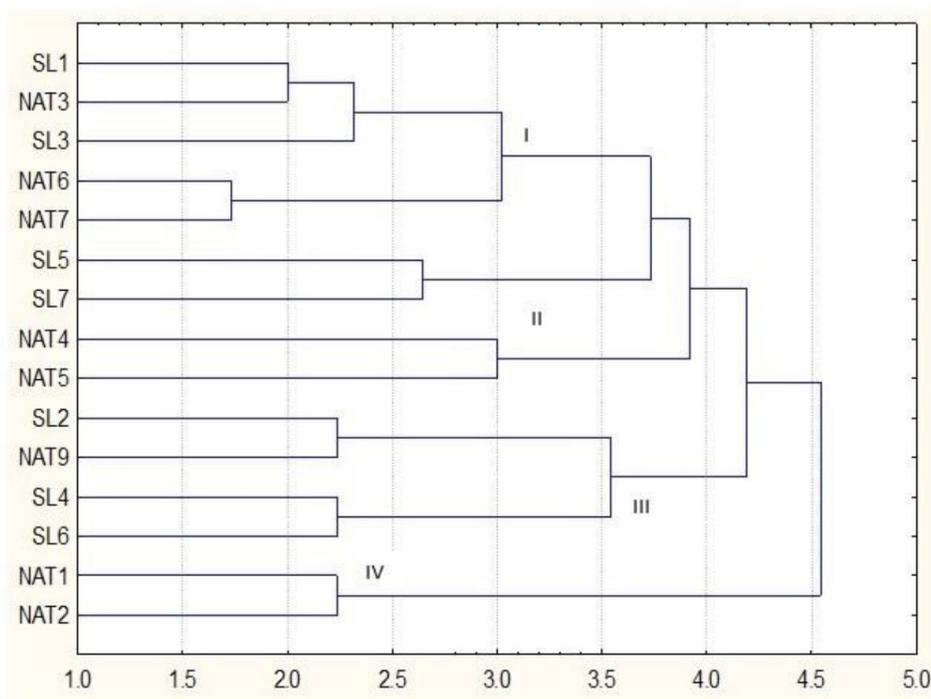


Figura 3. Dendrograma de nanche (*B. crassifolia* (L.) H.B.K) por el método UPGMA (Dice) con marcadores tipo ISSRs.

DISCUSIÓN

El nanche es considerado un árbol frutal de menor recolección debido a la falta de tecnología de recolección, los productores manejan los huertos de manera empírica; Sin embargo, los mejores ecotipos son seleccionados por su tamaño, sabor y color de fruto, que son sus principales indicadores de calidad (Medina-Torres *et al.* 2016).

Se han realizado estudios sobre la diversidad genética en otros países siendo estos Bolivia, Brasil, Panamá y México (Croft y Shacaal 2012). En Tabasco (Martínez *et al.* 2013) México han realizado estudios de diversidad genética, por lo que se pretende que en Nayarit que es un estado donde hay producción de nanche, se realicen trabajos de diversidad genética debido a la nula la información sobre este tema, para conocer las selecciones, ecotipos, y criollos que existen en el estado. Un trabajo con 16 accesiones de nanche de diferentes lugares geográficos reporta longitud de fruto de 14.06 a 24.35

mm, diámetro polar de 17.48 a 25 mm y coeficiente de variación del 9.17% (Medina-Torres *et al.* 2016), en otro trabajo Medina-Torres *et al.* (2021) con 22 selecciones de nanche, encontró peso fresco entre 2.1 y 11.8 g que son similares a los obtenidos en este trabajo. Sobre los resultados de componentes principales (CP), se obtuvo una variabilidad total del 81.48%, donde el CP1 fue del 64.03% siendo las características más importantes, peso fresco y seco de la hoja, diámetro del fruto y peso seco de la semilla y el CP2 del 17.45% las variables fueron anchura de la hoja, peso fresco del fruto y acidez titulable, esto se pudo comparar con Medina-Torres *et al.* (2015) que reporta resultados similares con variabilidad total del 81.61% y aportes del CP1 del 38.58%, el CP2 del 24.78% y el CP3 del 17.25% de variabilidad. Las variables con mayor aporte fueron el peso fresco, diámetro, longitud y tamaño, acidez titulable y sólidos solubles totales, las cuales representan características de calidad de fruto. Así mismo, en un trabajo posterior, Medina-Torres *et al.* (2016) obtuvo

el 79.91% de la variabilidad total en descriptores morfológicos de hoja y fruto, distribuidos de la siguiente manera, el CP1 explicó el 24.10% del peso fresco de la hoja, área de la hoja y diámetro ecuatorial del fruto, el CP2 fue de 19.18%, en los cuales las características más importantes fueron peso fresco y tamaño del fruto, así como la longitud y anchura media de la hoja. Siendo estos valores más bajos que los obtenidos en esta investigación.

En plantas de nanche, la morfología de sus hojas son un carácter de importancia, coincidiendo con lo reportado por Martínez *et al.* (2010); así como el contenido de sólidos solubles y acidez de sus frutos, los resultados obtenidos en esta investigación fueron de 13.89 °Brix y 1.12%, respectivamente; los valores de acidez titulable han sido variables, 0.31 a 2.19% (Medina-Torres *et al.* 2016), 1.3 y 2.19% (Bayuelo *et al.* 2006), 2.4% (Villachica 1996, Muñoz *et al.* 2002), estos resultados se pueden deber al tipo de selección, la edad del árbol, las condiciones edafoclimáticas y la madurez de recolección; lo mismo puede ser para el contenido de sólidos solubles totales, se ha reportado (15 selecciones de nanche) valores desde 5.4 a 11.9 °Brix (Agredano-de la Garza *et al.* 2020), 7.6 a 12.2 °Brix (Medina-Torres *et al.*, 2004), 13.6 a 15.8 °Brix (Bayuelo *et al.* 2006), 4.4 a 13.8 °Brix (Duarte y Paull 2015), 3.2 a 7.9 °Brix (Martínez *et al.* 2006). En este contexto, los parámetros fisicoquímicos de los frutos de nanche (SST y AT) deben estar en equilibrio, tanto en el contenido de azúcares como de los ácidos orgánicos, que dependerá de la madurez, del tipo de selección y las condiciones ambientales del sitio de recolección.

En general, estos resultados encontrados por varios autores permiten diferenciar las características del nanche en otros estados de México, lo cual permite conocer nanches con diferentes sabores, tamaños, colores, lo que permite diferenciar la variabilidad genética. En otros frutos como aguacate López-Guzmán *et al.* (2015) obtuvieron el 53.8% de la variabilidad total explicando el CP1 el 25.8% y estuvo definido por el peso, longitud, ancho del fruto y peso de la pulpa, mientras que el CP2 agrupó las variables de área foliar, peso fresco y forma de la base de la hoja explicando el 17.3%.

Los marcadores microsatélites se caracterizan por ser altamente polimórficos; El alto nivel de polimorfismo se debe a la alta tasa de mutación causada por eventos de inserción y eliminación durante la replicación del ADN (Carneiro *et al.* 2016). Los resultados obtenidos en este estudio establecen que el polimorfismo que se puede encontrar en el material evaluado depende de la especie y los cebadores que se utilicen (Gulhan *et al.* 2004). Así, por ejemplo, el valor de la diversidad genética ($H_j = 0.26$) obtenido aquí difiere notablemente a partir de los valores (0.343 a 0.381) registrados por Díaz *et al.* (2001) para poblaciones de pino (*Pinus oocarta*), por otra parte, López-Guzmán *et al.* (2021) obtuvo valores de heterocigosidad esperada (H_e) en frutos de aguacate del 0.33 promedio y la heterocigosidad observada (H_o) presentó un promedio de 0.34.

Si se considera que la heterocigosis es una medida de la diversidad genética, estos índices indican alta diversidad genética de nanche en los municipios de Nayarit, especialmente si se compara con trabajos similares, como el de Croft y Shacaal (2012) con muestras de nanche de Bolivia, Brasil, México y Panamá obtuvo una heterocigosidad observada (H_o) entre valores de 0.93-0.46 y de Heterocigosidad esperada (H_e) valores entre 0.83-0.62, estos resultados fueron similares a los que se obtuvieron en esta investigación, así como el número de alelos por locus.

También Bahrami-Rad *et al.* (2009), probó 100 cebadores RAPD; obteniendo niveles de polimorfismo de 6 a 8 bandas polimórficas, solo 21 de ellos detectaron polimorfismo. Sin embargo, los resultados también pueden responder a la baja eficiencia de los cebadores para reconocer regiones homólogas en el ADN de los árboles evaluados. Los resultados informados en este estudio concuerdan con los de Spergiorin *et al.* (2002) para Cereza de Barbados (*Malpighia glabra*), posiblemente porque los árboles podrían estar muy relacionados o porque fueron reproducidos vegetativamente por productores. Esto también coincide con los hallazgos de Raya-Pérez *et al.* (2010) quienes registraron un alto grado de relación entre lo silvestres y los árboles de nanche cultivados. También Lima *et al.* (2015), reportan marcadores moleculares microsatélites en 56 clones de

aceroleira, siendo 38 provenientes de un jardín de semillas y 18 de un jardín clonal, observando valores variando entre 0.358 a 0.766 (He) formando 28 grupos en el dendrograma.

El uso de marcadores moleculares permite identificar la diversidad genética, por lo que es posible tener un panorama sobre la distribución de la especie, ya sea por región, zona, país, este conocimiento es de suma importancia no solo para el genetista sino también para los productores de nanche, de tal manera que les permita llevar a cabo futuras investigaciones en el mejoramiento genético; al respecto, investigaciones en Tabasco, México con árboles de nanche (Martínez *et al.* 2013) utilizando seis amplificaciones aleatorias de ADN polimórfico (RAPD), de éstos tres eran polimórficos, cuyos resultados fueron de un 85.20% de diversidad genética, mientras que entre poblaciones fue de 14.80%, concluyendo que los marcadores dominantes coadyuvan a identificar la variación genética del nanche. Al respecto, Spegiorin *et al.* (2002) realizaron una investigación donde el análisis de la matriz de similitud genética y el dendrograma permitió identificar cinco grupos distintos entre las 24 accesiones de acerola. Algunos grupos de accesiones se unieron debido a que comparten características químicas y morfológicas. Mientras que Yee *et al.* (1999), analizando accesiones de *Vigna angulararia*, tam-

bién observó una falta de correlación entre el grado de similitud genética obtenido en base a marcadores de ADN y origen de las accesiones. En este caso, los autores apuntan a la posibilidad de que el origen de accesiones difiere del lugar de recolección.

CONCLUSIONES

Los genotipos SL-4 y SL-8 (cultivados) y de los nativos NAT-5 y NAT-6, tienen las siguientes características: nanche grande, dulce, agridulce o agrio, y de color amarillo. Se encontraron ocho marcadores microsatélites los cuales determinaron la variabilidad genética de nanche en las poblaciones de *B. crassifolia* (L.) H.B.K tanto cultivada como nativos. El nanche tiene potencial, pero se necesitan más investigaciones para conocer todas las propiedades nutricionales, domesticar y homogeneizar la producción y establecer las bases técnicas y tecnológicas para su cultivo.

AGRADECIMIENTOS

A la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit, por facilitar las instalaciones para realizar esta investigación.

LITERATURA CITADA

- AOAC (2005) Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th Ed. Gaithersburg, Maryland, U.S.A. 918p.
- Agredano-de la Garza, CS, López-Guzmán GG, Balois-Morales R, León-Fernández AE, Bautista-Rosales PU, Palomino-Hermosillo AP (2020) Compounds of functional interest of nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.). Acta Agrícola y Pecuaria 7: E0071000. DOI: 10.30973/aap/2021.7.0071000.
- Ahmad AD, Mahajan R, Lay P, and Sharma S (2018) Biodiversity of temperate fruits. In: Ahmad SM, Ahmad MS, Maqbool MM (eds). Postharvest biology and technology of temperate fruits. Springer. Switzerland. pp: 1-20. DOI: 10.1007/978-3-319-76843-4_1.
- Andrade-Rodríguez M, Rodríguez-Rojas TJ, Castillo-Gutiérrez A, Villegas-Torres OG, Guillén-Sánchez D (2019) Análisis de caracteres morfológicos y fragmentos RAPDs de doce especies de la Familia Crassulaceae. Revista Bio Ciencias 6: 1-19 DOI: 10.15741/revbio.06.01.09.
- Anuragi H, Dhaduk HL, Kumar S, Dhruve JJ, Parekh MJ, Sakure AA (2016) Molecular diversity of *Annona* species and proximate fruit composition of selected genotypes. Biotechnology 6: 204. DOI: 10.1007/s13205-016-0520-9.

- Argueta CZA, Mata S (2009) Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth. <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=nanche>. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2019.
- Bahrami-Rad M, Hassani ME, Mohammadi A, Lessan SH, Ghazi-Zade S (2009). Evaluation of genetic diversity in *capsicum* spp. As revealed by rapd markers. Acta Horticulturae 829: 275-278. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.829.40
- Barrera-Guzmán LA, Legaria-Solano J (2021) Relaciones genéticas en muestras de razas mexicanas de maíz (*Zea mays* L.) Agroproductividad: 13: 3-9.
- Braceló CJ, Nicolás GR, Sabater BG, Sánchez RT (1998) Fisiología vegetal. Ediciones Pirámide. España 568p.
- Bayuelo JJ, Lozano RJC, Ochoa IE (2006) Caracterización morfológica de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth nativa de Churumuco, Michoacán, México. Revista Fitotecnia Mexicana 29: 31-36.
- Caballero RA, Vela G, Pérez J, Escobar R, Ballinas J (2012) Uso del nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth) en gelatina artesanal para niños. Etnobiología 2: 50-55.
- Cai Y, Sun D, Wu G, Peng J (2010) ISSR-based genetic diversity of *Jatropha* germplasm
- Cano C, Marroquín FJSdela (1994) Taxonomía de las plantas superiores. Trillas. México. 359p.
- Carneiro-Vieira ML, Santini L, Lima-Diniz A, Munhoz CF (2016) Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. Genetics and Molecular Biology 39: 312-328.
- Carrodegua-González A, Zúñiga-Orozco A (2021) Aplicación de herramientas moleculares para el mejoramiento genético de pasturas. Pastos y Forrajes 44: 1-11
- Croft GK, Schaal BA (2012) Development of microsatellite markers in *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae). American Journal of Botany 9: 111-113
- Díaz V, Muñoz LM, Ferrer E (2001) Random amplified polymorphic DNA and amplified fragment length polymorphism assessment of genetic variation in Nicaraguan populations of *Pinus oocarpa*. Molecular Ecology 10: 2593-2603.
- Duarte O, Paull R (2015) Other families. In: Duarte O, Paull R (eds) Exotic fruits and nuts of the New World. CABI. UK. pp: 254-316.
- Gulhan EA, Taskin M, Turgut K (2004) Analysis of genetic diversity in Turkish sesame (*Sesamum indicum* L.) populations using RAPD markers. Genetic Resources and Crop Evolution 51: 599-607.
- Lima EN, Araujo MEB, Bertini CHC, Moura CFH, Hawerth MC (2015) Diversidade genética de clones de aceroleira avaliada 46 por meio de marcadores moleculares ISSR. Comunicata Scientiae 6: 174-170.
- Lira-Ortiz R, Cortés CMA, López-Guzmán GG, Palomino-Hermosillo AY, Sandoval Padilla I, Ochoa-Jiménez VA, Sánchez-Herrera LM, Balois-Morales R, Berumen-Varela G (2021) Diversidad genética de poblaciones de guanábana (*Annona muricata*) en Nayarit, México, mediante marcadores SSR Y SRAP. Acta Biológica Colombiana 27: 178-189
- López-Guzmán GG, Palomino-Hermosillo YA, Balois-Morales R, Bautista-Rosales P U, Jiménez-Zurita JO (2021) Diversidad genética del aguacate criollo en Nayarit, México, determinada por ISSR. Revista Agrosavia. 22: 1-14 DOI: 10.21930/rcta.vol22_num1_art:1686.
- López-Guzmán GG, Medina-Torres R, Guillén-Andrade H, Ramírez-Guerrero L, Juárez-López P, Ruelas-Hernández PG (2015) Caracterización morfológica en genotipos nativos de aguacate (*Persea americana* Mill) de clima tropical en Nayarit, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 11: 2157-2163.

- Lassois L, Denancé C, Ravon E, Guyader A, Guisnel R, Hibrand-Saint-Oyant L, Poncet C, Lasserre-Zuber P, Feugey L, Durel C E (2016) Genetic Diversity, population structure, parentage análisis, and construction of core collections in the french Apple germplas based on SSR markers. *Plant Molecular Biology Reporter* 34: 827-844.
- Martínez ME, Leshner JM, Castañón N, de la Cruz LE (2013) Genetic variability of nanche in Tabasco, Mexico, determined with RAPDs. *International Journal Experimental Botonic* 82: 209-214.
- Martínez ME, Corona TT, Avitia GE, Castillo GA, Terrazas T, Colinas LMT, De la Cruz LE, Medina TR (2010) Caracterización morfológica de nanche (*Byrsonima crassifolia* (L) H.B.K.). *Revista Fitotecnia Mexicana* 33: 15-19.
- Martínez E, Corona TT, Avitia GE, Castillo GA, Terrazas ST, Colinas LMT (2006) Caracterización morfométrica de frutos y semillas de nanche (*Byrsonima crassifolia* (L) H.B.K.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12: 11-17.
- Medina-Torres R, Alia-Tejacal I, Saucedo-Hernández R, Juárez-López P, Pérez-Arias GA, Rivera-Cabrera F, Suárez-Vargas A, Palacios-Sosa AM, Núñez-Colín CA, Pelayo-Zaldívar C (2021) Characterization of fruit quality, functional metabolites, and antioxidant activity in 22 selections of nance (*Byrsonima crassifolia* L.) H.B.K. from Nayarit, México. *Fruits* 76: 159-168.
- Medina-Torres R, Salazar-García S, Ibarra- Estrada ME, López- Guzmán GG (2016) Descriptores morfológicos de hoja y fruto de selecciones comerciales de nanche (*Byrsonima crassifolia* (L.) HBK) en Nayarit, México. *Revista Bio Ciencias* 3: 296-285.
- Medina-Torres R, Juárez-López P, Salazar-García S, López-Guzmán GG, Ibarra-Sánchez LS, Arrieta-Ramos BG, Martínez-Moreno E (2015) Evaluación de calidad en frutos de 41 genotipos de nanche (*Byrsonima crassifolia* L. HBK) de Nayarit, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 253-2264.
- Medina-Torres R, Salazar GS, Gómez AR (2004) Fruit quality indices in eight nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K.) Selecciones. *HortScience* 39: 1070-1073.
- Muñoz de Chávez M, Chávez VA, Roldán AJA, Ledesma SJA, Mendoza ME, Pérez-Gil RF (2002) Tablas de valor nutritivo de los alimentos. Tercera reimpresión. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Subirán. Editorial Pax. México. 132p.
- Nei M (1977) F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics* 41: 225- 233.
- Pereira AC, Santos ER (2015) Frutas nativas do Tocantins com potencial de aproveitamento econômico. *Agri-Environmental Science* 1: 22-37.
- Raya-Pérez JC, Aguirre-Mancilla CL, Gil-Vega K, Simpson J (2010) La domesticación de plantas en México: Comparación de la forma cultivada y silvestre de *Byrsonima crassifolia* (Malpigiaceae). *Polibotánica* 30: 239-256
- Rosales-Espinoza E, Jiménez-Dávalos J, Sota-Cano AF, Cserea-Vizarreta AI (2022) Caracterización molecular de la cañihua (*chenopodium Pallidicaule* aellen) usando marcadores moleculares issr (inter simple sequence repeats). *Revista Multidisciplinar Ciencia Latina* 6: 9149-9165.
- SAS (1999) SAS/STAT User's Guide: Statistics version 9.0 for windows. Cary, N.C. USA.
- Saghai-Marooof MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America* 81: 8014-8018.

- SIAP (2022) Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://oeidrus-portal.gob.mx/aagricola/siap/icultivo/index.jsp>. Fecha de consulta: 26 agosto 2023.
- Spegorin SMF, Ruas C de F, Ruas PM, Carpentieri PEV (2002) Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). Revista Brasileira Fruticultura 24: 15-22.
- Talamantes-Sandoval CA, Cortés-Cruz MA, Balois-Morales R, López-Guzmán GG, Palomino-Hermosillo YA (2019) Análisis molecular de la diversidad genética en guanábana (*Annona muricata* L.) mediante marcadores SRAP. Revista Fitotecnia Mexicana 42: 209-214.
- Vega-Ramos KL, Gutiérrez-Coronado MA, Gómez-Leyva JF (2022) Marcadores moleculares ISSR para identificación de hijuelos de agave. Revista Fitotecnia Mexicana 45: 75-81.
- Villachica H (1996) Frutales y hortalizas promisorias de la Amazonia. Tratado de Cooperación Amazónica. Secretaría Pro Tempore. Lima, Perú. 367p.
- Yee E, Kidewell KK, Sills GR, Lumpkin TA (1999) Diversity among selected *Vigna angularis* (azuki) accessions on the basis of RAPD and AFLP markers. Crop Science 39: 268-275.