

Evaluación de la diversidad genética de poblaciones cultivadas de *Sechium edule* en Jalisco y Michoacán mediante dos marcadores moleculares

Assessment of genetic diversity of cultivated populations of *Sechium edule* in Jalisco and Michoacán using two molecular markers

Recepción del artículo: 13/06/2023 • Aceptación para publicación: 18/06/2023 • Publicación: 30/06/2023

● <https://doi.org/10.32870/ecucba.vi20.308>

Araceli Rodríguez-Sahagún
Yolanda Gómez-Vélez
Gustavo Javier Acevedo-Hernández
Rayn Clarenc Aarland
Oswaldo Adrián Castellanos-Hernández*

Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de la Ciénega. Laboratorio de Biología Molecular Vegetal.
Ocotlán, Jalisco. México.

*Autor para correspondencia: adrian.castellanos@academicos.udg.mx

Resumen

El chayote (*Sechium edule*) es una planta perteneciente a la familia Cucurbitaceae originaria del continente americano a la que se le han atribuido importantes propiedades tales como actividad antioxidante y posee componentes con potencial anticancerígeno. Su fruto ha tenido un amplio uso como hortaliza desde tiempos prehispánicos, formando parte importante de la dieta de la población de México. De este país, los estados de Michoacán y Jalisco se encuentran entre los principales productores de chayote, sin embargo, no se han reportado estudios acerca de la variabilidad genética de esta planta en dichas regiones. Debido a que se cultiva principalmente en huertos familiares, la semilla es obtenida a partir de la misma producción y el intercambio de germoplasma entre distintas regiones es limitado. La selección e identificación de genotipos es indispensable para el establecimiento de programas de mejoramiento, por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la diversidad genética presente en plantas cultivadas en estos estados empleando los marcadores moleculares ISTR y RAPD. A partir de este análisis genético, se observó que las plantas colectadas forman grupos claramente separados de acuerdo con su origen, lo que confirma el poco flujo genético existente entre las poblaciones cultivadas en ambos estados.

Palabras clave: Variabilidad genética, susceptibilidad a plagas y enfermedades, monocultivo, ISTR, RAPD.

Abstract

Chayote (*Sechium edule*) is a plant native to the American continent that belongs to the Cucurbitaceae family. It has been associated with important properties such as antioxidant activity, and possesses components with anticancer potential. Its fruit has been widely used as a vegetable since pre-Hispanic times, and is a significant part of the Mexican diet. The states of Michoacán and Jalisco in Mexico are among the main chayote producers. However, no studies have been reported regarding the genetic variability of the plant in these regions. Since chayote is primarily cultivated in family orchards, the seed is obtained from the same production, and germplasm exchange between different areas is limited. Selection and identification of genotypes are essential steps for the establishment of breeding programs; therefore, the objective of this study was to evaluate the existing genetic diversity in plants cultivated in these states using the molecular markers ISTR and RAPD. From this genetic analysis, it was observed that the collected plants formed clearly separated groups based on their origin, confirming the limited genetic flow between the cultivated populations in both states.

Keywords: Genetic variability, pest and disease susceptibility, monocropping, ISTR, RAPD.

Introducción

El chayote, *Sechium edule* (Jacq.) SW., es una planta originaria del Continente Americano, cuyo centro de origen posiblemente sea México y países de América Central. Sus frutos, raíces y tallos tiernos han formado parte de la dieta alimentaria desde tiempos prehispánicos, en la actualidad es consumido por muchos habitantes de América y de otras partes del mundo (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2008), se han encontrado importantes actividades terapéuticas de extractos obtenidos de hojas y semillas (Castro-Alves *et al.* Nascimento 2016; Elavarasan *et al.*, 2016), en sus tubérculos el almidón presenta alto grado de pureza (Shiga *et al.*, 2015) de sus frutos se aislaron componentes químicos con capacidad de detener la proliferación de células cancerígenas (Samuel, 2019).

El chayote pertenece a la familia Cucurbitaceae, es una planta trepadora perenne, de porte herbáceo, monoica y es auto-compatible (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2011). Las flores son unisexuales casi idénticas, coaxiales y con 10 nectarios en la base del cáliz. El chayote se cultiva de manera tradicional en huertos familiares junto a plantas arbóreas, tapancos y paredes por las cuales trepa y usa como sostén, o bien se hacen estructuras de madera conocidas como “tapextles”. Se le encuentra en climas templados semicálidos y cálidos.

Las plantaciones comerciales son establecidas mediante selección de frutos que cumplan con las normas de calidad para ser comercializados y consumidos en fresco, por esta razón, el gobierno mexicano emitió la norma NMX-FF-047-SCFI-2003. A nivel internacional Costa Rica ocupa el primer lugar en exportación de chayote, seguido de Guatemala, República Dominicana y México. En nuestro país, los principales productores de *S. edule* son; Veracruz, Michoacán y Jalisco, sumando entre las tres entidades un total de 194,579.03 toneladas en el 2022 (SIAP.SAGARPA, 2023). En los estados de Jalisco y Michoacán, además de aprovecharse para autoconsumo, parte de la producción se vende en los mercados locales y ocasionalmente lo comercializan fuera de la región, los frutos presentan una gran variación fenotípica que generalmente no cumplen con los estándares para la exportación.

A pesar de que Jalisco y Michoacán se encuentran

entre los principales productores de chayote en México, no se han reportado estudios acerca de la variabilidad genética entre estas poblaciones. Es necesario determinar los tipos de cambios que se han producido en estas plantas debido a la presión de selección a la que han sido sometidas, con el propósito de aislar genotipos únicos con características agronómicas sobresalientes para generar programas de mejoramiento genético. En los últimos años la aplicación de marcadores moleculares han demostrado ser útiles para la evaluación de la diversidad en un gran número de especies vegetales, ya que presentan grandes ventajas sobre alternativas convencionales basadas en el fenotipo; son estables y detectables en todos los tejidos; son independientes del crecimiento, la diferenciación, el desarrollo o el estado de defensa de la célula y no son afectados por el medio ambiente, por los efectos pleiotrópicos ni efectos epistáticos (Jain *et al.*, 2017).

Las herramientas moleculares proporcionan datos valiosos sobre la fidelidad genética de una especie ya que tienen la capacidad de detectar la variación a nivel de ADN sin los inconvenientes de edad de la planta, condición ambiental, etc. En los últimos años el marcador molecular denominado de Repetición de Secuencias Inversas Marcadas (ISTR) (Inverse Sequence Tagged Repeats) ha sido de gran aplicación ya que permite discriminar la diversidad genética entre individuos de una población y la identificación de cultivares, entre algunas de sus aplicaciones. Esta es una técnica basada en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) que utiliza secuencias repetitivas denominadas retrotransposones como cebadores las cuales se encuentran ampliamente distribuidas por todo el genoma de eucariontes y permiten el estudio de la diversidad genética (Velasco-Ramírez *et al.*, 2014).

Materiales y métodos

Material vegetal

El material vegetal consistió en plantas visiblemente sanas de dos poblaciones provenientes del estado de Jalisco y dos poblaciones del estado de Michoacán; de cada población se analizaron veinte individuos.

Caracterización molecular

Se colectó tejido foliar para la obtención de ADN, utilizando el método reportado por Joshi y col., (2020). Se utilizó el marcador ISTR para la caracterización molecular, fueron usadas dos combinaciones de iniciadores con las siguientes secuencias: F91/B31 y F31/B1 donde F es Forward y B es Reverse (Cuadro 1), los fragmentos amplificados fueron separados en geles de poliacrilamida. En la amplificación de marcadores tipo RAPD se utilizaron 10 diferentes decámeros (Cuadro 2).

Cuadro 1. Secuencia de los iniciadores utilizados para la caracterización molecular de *S. edule* por ISTR

Nombre	Secuencia
F91	5'[ATA TGG ACT TAA GCA AGC CA]3'
F31	5'[GTC GAC ATG CCA TCT TTC]3'
B31	5'[ATT CCC ATC TCG ACC AAT]3'
B1	5'[ATC AGG AAG GTC TGT AAA GC]3'

Cuadro 2. Secuencia de los iniciadores utilizados para la caracterización molecular de *S. edule* por RAPD

Nombre	Secuencia
ARS1	5'[CGT GCG GGA A]3'
ARS2	5'[GTA GAC GCG T]3'
ARS3	5'[AAC GCG CTA C]3'
ARS4	5'[CCC GAC AGC A]3'
ARS5	5'[AAG CGT CCT G]3'
ARS6	5'[ACC ACA GCT C]3'
ARS7	5'[GTG AGG TAG G]3'
ARS8	5'[AGG AGA CCG T]3'
ARS9	5'[GGC GTA GGT T]3'
ARS10	5'[CCA CAT GGG T]3'

Las condiciones de reacción para la PCR en los marcadores RAPD fueron para un volumen de mezcla final de 25 μ L: 1 μ L de ADN (10 ng/ μ L), oligonucleótidos 1 μ L (10 pmoles/ μ L), mezcla de dNTPs 1.25 μ L (10 mM de cada uno), Taq polimerasa 0.2 μ L (5 U/ μ L), MgCl₂ 1 μ L (50 mM), amortiguador 10X 2.5 μ L se ajustó al volumen final con agua desionizada estéril. La amplificación se realizó con el termociclador, con 1 paso de desnaturalización a 94 °C 3 min, seguido por 43 ciclos de desnaturalización a 93 °C 30 seg, alineamiento a 35 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 2 min. Una última extensión a 72 °C por 5 min. Los fragmentos amplificados fueron separados en geles de agarosa 2%.

Análisis de los datos

Con los datos moleculares se obtuvieron matrices binarias de presencia/ausencia de bandas y se calculó el

coeficiente de similitud de Jaccard, así como el análisis de agrupamiento por el método UPGMA. Lo anterior fue analizado utilizando el software NTSYS versión 2.21 (Rohlf, 1998). Los resultados se presentan en dendrogramas para cada diferente marcador molecular. Se realizó un Bootstrap con 5000 remuestreos utilizando la matriz de similitud.

Resultados y discusión

Los individuos utilizados en el estudio de variabilidad genética fueron obtenidos de plantaciones comerciales de zonas aledañas a la Laguna de Chapala, de dos diferentes estados: Jalisco y Michoacán (Figura 1).

A partir de las bandas obtenidas se calculó una matriz de similitud de donde se elaboró un dendrograma para cada tipo de marcador molecular (Figura 2 y 3) donde se aprecia claramente en ambos marcadores la tendencia a agruparse por población colectada mostrando el mismo grupo las plantas de Michoacán y en otra las plantas de Jalisco. Estas dos se diferencian claramente en el dendrograma, aunque se observa dentro del grupo de Jalisco dos plantas de Michoacán, se evidencia la falta de mejoramiento tradicional y/o biotecnológico de las plantaciones y la baja variabilidad entre ellas, esto por lo tanto repercute en la susceptibilidad de los cultivos al ataque de plagas y enfermedades, como lo ha reportado Wither-Villavicencio (2019). Se ha reportado el uso de marcadores específicos SSR asociados a la susceptibilidad de plagas para monitorear poblaciones de mayor resistencia a estas y aplicar métodos biotecnológicos para asegurar mejores cosechas.

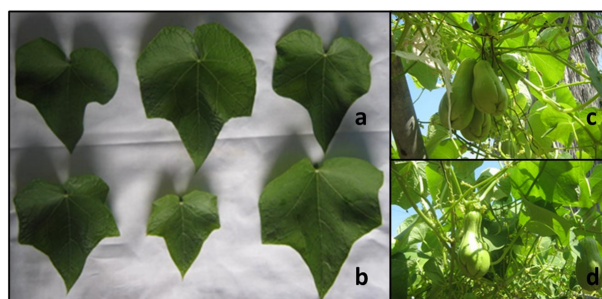


Figura 1. *Sechium edule* utilizado como fuente de material genético. Izq. Hojas de plantas de chayote provenientes de a: Michoacán, b: Jalisco. Der. c: Planta de chayote en Michoacán, d: Plantas de chayote en Jalisco.

Los resultados obtenidos muestran similitud con lo encontrado por Cerón *et al.* (2010), quienes realizaron un estudio para determinar la diversidad genética entre y dentro de cuatro especies mexicanas de cucurbitáceas (*Cucurbita spp.*), las cuales fueron: *C. argyrosperma*, *C. pepo*, *C. moschata* y *C. ficifolia*, utilizando la técnica RAPD. De acuerdo con los resultados, las colecciones se agruparon en 4 grupos altamente diferenciados de acuerdo a la especie, sin embargo; se determinó que la variabilidad dentro de cada una de las especies es reducida, siendo similares a nuestros resultados, ya que como se puede observar en la Figura 2, la variabilidad que existe entre el grupo del estado de Jalisco y el de Michoacán es pequeña.

Cerón *et al.* (2010) también utilizaron la técnica RAPD para identificar la variabilidad que existe entre las especies resistentes y susceptibles al CMV (*Cucumber Mosaic Virus*), donde identificaron poca variabilidad genética entre las variedades resistentes y susceptibles que les permitieran diferenciarlas, sugiriendo la existencia de mínimas diferencias dentro de cada grupo de plantas resistentes y susceptibles. Esto concuerda con el estudio donde se analizaron las cuatro especies y no mostró alta variabilidad genética dentro de ellas.

Se observaron un total de 15 fragmentos polimórficos, obteniéndose por cada oligo entre 1 y 5 fragmentos polimórficos (1.875 marcadores/oligo como media) (Cuadro 3). Solo dos oligos generaron de 4-5 fragmentos polimórficos en promedio, lo que representa el grupo homogéneo de mejor resultado (Figura 2).

Cuadro 3. Cuantificación de la variabilidad observada por oligo y por individuo

	Número de bandas variables (Polimórficas)	Número de bandas invariables (Monomórficas)
Por individuo	0.72	0.13
Por oligo	1.875	1.625

Según Cadena-Iñiguez *et al.* (2008) hay estudios en los que se evalúa la variación morfológica y anatómica con hojas y frutos de *Sechium edule*, colectados de la región central de Veracruz, México. Los frutos colectados fueron clasificados en ocho grupos de acuerdo a sus características típicas. Los resultados mostraron que la distinción fenotípica del estudio de *S. edule* está relacionado con cambios morfológicos y anatómicos con el fin de mejorar la especialización de adaptación de los diferentes fenotipos de chayote con respecto al medio ambiente, y sugiere que los chayotes

cultivados han seguido diferentes rutas en el proceso de co-evolución con el hombre, también con un patrón estable de la variación en los grupos de los llamados "verdes" y "amarillo". Por lo que los resultados aquí presentados se relacionan en buena medida con los antes mencionados debido a que se evidencia la selección que se ha venido dando por regiones, en donde se selecciona un fenotipo que para cada productor tiene las características ideales de mercado y es el que toman para seguir sus plantaciones, por lo que no hay mucha variabilidad entre plantas de una misma localidad.

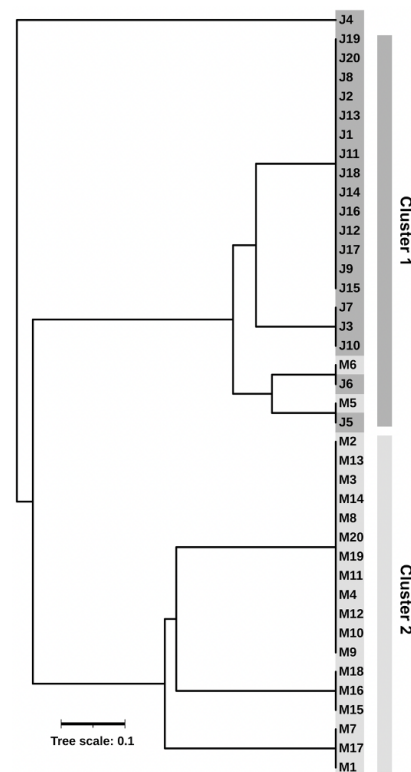


Figura 2. Dendrograma obtenido con marcadores RAPDs a partir de 40 muestras de chayote (*Sechium edule*). M: Plantas provenientes de Michoacán. J: Plantas provenientes de Jalisco.

Abdelnour y Rocha (2008) establecieron los protocolos para el análisis de la diversidad genética en chayote (*Sechium edule*) mediante el uso de marcadores isoenzimáticos, determinando así el nivel de diversidad genética presente en 42 accesiones de chayote de Costa Rica. El coeficiente de similitud se utilizó para estudiar la relación entre las accesiones. Este análisis, basado en la presencia y ausencia de los alelos, reveló que los individuos encontrados en la misma ubicación rara vez compartieron el mismo genotipo multilocus. El valor de los polimorfismos de isoenzimas como herramientas para continuar los estudios sobre la caracterización de chayote se discute

actualmente. A diferencia de lo encontrado con marcadores morfológicos, el trabajo reportado mediante isoenzimas revela variación entre cultivares de diferentes regiones, aunque presentan los resultados con un alto índice de incertidumbre, debido a que no pudieron reproducir los resultados obtenidos.

Al igual que para los otros dos tipos de marcadores moleculares reportados, en este caso se obtuvo una matriz de similitud y un dendrograma (Figura 2 y 3) en el cual se observan las relaciones genéticas entre las poblaciones estudiadas. Encontrando dos grupos que comparten similitud genética muy estrecha siendo las plantas colectadas en Michoacán las que se agrupan en un solo clúster y las de Jalisco por separado en su mayoría. Sin embargo, podemos observar solo dos plantas provenientes de Michoacán muy similares a las de Jalisco. Esto nos refleja que los productores eligen para su cultivo solo plantas que se encuentran a los alrededores, es decir; no buscan plantas de otras localidades lejanas al lugar, por ello la baja variabilidad que existe dentro de los cultivos. Siendo más autosuficientes las localidades de Michoacán no permitiendo el ingreso de plantas de otra localidad.

Nuestros datos resultan similares a los de Azurdia *et al.* (2004) quienes, en su análisis con marcadores moleculares, estudiaron chayotes de dos regiones del departamento de Alta Verapaz, Guatemala, utilizando materiales genéticos de chayotes obtuvieron un agrupamiento de los mismos de acuerdo a la zona de procedencia. Notaron que no existe una clara separación entre los materiales provenientes de una misma región estudiada. Así mismo observaron diferencia en los caracteres cuantitativos y cualitativos del fruto, esto, debido a la adaptación de la planta a las diferentes temperaturas que existen en estas dos regiones.

Lo que mostró que, no habiendo mucha variabilidad genética entre los materiales de las dos regiones, la planta solo sufrió una adaptación al medio donde fue cultivada.

En cuanto a variabilidad fenotípica, Azurdia y col. (2004) encontraron que los productos de los huertos de la zona fría que son destinados para el autoconsumo, es menor que los de la zona cálida, ya que en esta última zona los frutos son para comercializarlos, por lo que no existe una fuerza selectiva tan fuerte por características específicas para el mercado, concluyendo con esto que los agricultores que se dedican al comercio realizan la selección para obtener

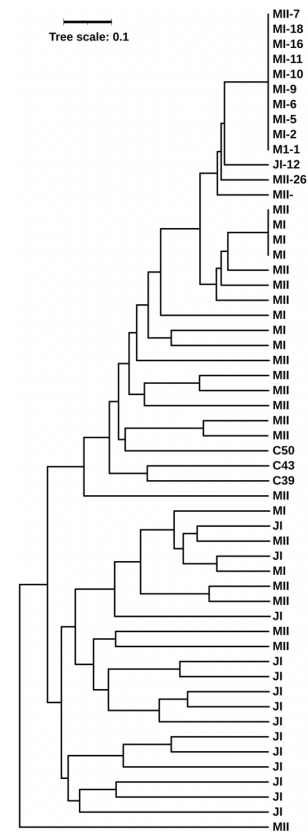


Figura 3. Dendrograma obtenido con marcadores ISTR a partir de 40 muestras de chayote (*Sechium edule*). M: Plantas provenientes de Michoacán. J: Plantas provenientes de Jalisco.

un peso específico y similitud en los frutos debido a la demanda del mercado. Así mismo ocurre en los estados de Jalisco y Michoacán de donde fueron colectados los materiales para el presente estudio.

Conclusiones

Se pudo demostrar que en la aplicación de marcadores moleculares tipo RAPD se logró una mejor agrupación por localidad, aunque para ambos marcadores moleculares se observa una gran similitud entre plantas, lo que puede derivar en alta susceptibilidad de toda la localidad a los ataques bióticos o abióticos. Es importante destacar que la variabilidad genética por sí sola no garantiza la resistencia contra las plagas. La selección natural actúa sobre la variabilidad genética, favoreciendo a aquellos individuos con características que les confieren una mayor aptitud para la supervivencia en su entorno. Por lo tanto, es necesario contar con mecanismos de selección y reproducción que promuevan la proliferación de las plantas más resistentes y con características comerciales deseables.

Literatura citada

- Abdelnour, A. y Rocha, O. J. (2008). Genetic characterization of a collection of chayote, *Sechium edule* (Jacq.) Swartz, in Costa Rica by using isozyme markers. *Genet. Resour. Crop Ev.* 55, 163–170. <https://doi.org/10.1007/s10722-007-9225-6>
- Azurdia, C., Ayala, H., Rocha, O., Aguilar, G., Makepeace, O. y Roma, R. (2004). Propuesta para definir unidades de conservación in situ en huertos familiares: caso de chayote (*Sechium edule* L.) en Guatemala. p. 67-76 (No. Colección General/631.523 M274m). En: *Manejo de la diversidad de los cultivos en los agroecosistemas tradicionales*. Roma, IT: IPGRI
- Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C. H., Soto-Hernández, M., Ruiz-Posadas, L. M., Aguirre-Medina, J. F., Arévalo-Galarza, M. L. (2008). Intraspecific variation of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. in the state of Veracruz, Mexico. *Genet. Resour. Crop Evol*, 55, 835-847. <https://doi.org/10.1007/s10722-007-9288-4>
- Cadena Iñiguez, J., Soto Hernández, M., Arévalo Galarza, M., Avendaño Arrazate, C. H., Aguirre Medina, J. F. y Ruiz Posadas, L. (2011). Caracterización bioquímica de variedades domesticadas de chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw. comparadas con parientes silvestres. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17, 45-55. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.17.044>
- Castro-Alves, V. C. y Do Nascimento, J. R. O. (2016). Polysaccharides from raw and cooked chayote modulate macrophage function. *Food Res. Int.* 81, 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.017>
- Cerón González, L., Legaria Solano, J. P., Villanueva Verduzco, C. y Sahagún Castellanos, J. (2010). Diversidad genética en cuatro especies mexicanas de calabaza (*Cucurbita* spp.). *Revista fitotecnica mexicana*, 33(3), 189-196.
- Elavarasan, N., Kokila, K., Inbasekar, G., & Sujatha, V. (2017). Evaluation of photocatalytic activity, antibacterial and cytotoxic effects of green synthesized ZnO nanoparticles by *Sechium edule* leaf extract. *Research on Chemical Intermediates*, 43, 3361-3376. <https://doi.org/10.1007/s11164-016-2830-2>
- Jain, J. R., Timsina, B., Satyan, K. B., Manohar, S. H. (2017). A comparative assessment of morphological and molecular diversity among *Sechium edule* (Jacq.) Sw. accessions in India. *3 Biotech*, 7, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0726-5>
- Joshi, B. K., Shrestha, S., Adhikri, B. y Bhattarai, M. (2020). Traditional practices and genetic diversity on chayote landraces and their conservation. *Sustain. Dev*, 10, 272-288. <https://doi.org/10.31924/nrsd.v10i2.060>
- NMX-FF-047-SCFI-2003. Productos Alimenticios no Industrializados para Consumo Humano-Hortalizas frescas – Chayote (*Sechium edule*).
- Rohlf F.J. (1998). NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0 User Guide. Applied Biostatistics Inc., Setauket, New York. 37 pp.
- Samuel A. (2019). Cucurbitacins and its anticancer property: a review. *Himalayan Journal of Health Sciences*. 44, 17-23. <https://doi.org/10.22270/hjhs.v4i4.46>
- Shiga, T. M., Peroni-Okita, F. H. G., Carpita, N. C., Lajolo, F. M. y Cordenunsi, B. R. (2015). Polysaccharide composition of raw and cooked chayote (*Sechium edule* Sw.) fruits and tuberous roots. *Carbohydrate polymers*, 130, 155-165. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.055>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), y Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Estadísticas de Producción Agrícola (2023). <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Velasco-Ramírez, A. P., Torres-Morán, M. I., Molina-Moret, S., Sánchez-González, J. D. J. y Santacruz-Ruvalcaba, F. (2014). Efficiency of RAPD, ISSR, AFLP and ISTR markers for the detection of polymorphisms and genetic relationships in camote de cerro (*Dioscorea* spp.). *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(2), 65-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.01.002>
- Wither-Villavicencio, J. A. (2019). *Análisis de la diversidad genética del café y su potencial uso en el mejoramiento genético frente a la roya amarilla*. <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4064>