

Identificación diferencial de etiquetas de secuencias expresadas de frutos de aguacate raza mexicana (*Persea americana* Mill. VAR. *drymifolia*)

A. Gutiérrez-Díez¹, E.I. Sánchez-González¹, S. Hernández-Delgado², J.A. Torres-Castillo³

¹. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. Gral. Escobedo. Nuevo León. México.

². Instituto Politécnico Nacional. Centro de Biotecnología Genómica. Reynosa. Tamaulipas. México.

³. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Instituto de Ecología Aplicada. Cd. Victoria. Tamaulipas. México.

En las plantas superiores los procesos biológicos tales como la maduración del fruto y la senescencia están regulados por una compleja expresión diferencial de genes. Para entender estos procesos es indispensable identificar, clonar y caracterizar los genes involucrados. El objetivo en este estudio fue identificar etiquetas de secuencias expresadas diferencialmente a partir de frutos inmaduros de aguacate mexicano (*Persea americana* Mill. var. *drymifolia*) del sur del estado de Nuevo León, México. Diez genotipos de aguacate raza Mexicana cuyos frutos presentan características de forma y tamaño contrastantes fueron seleccionados para realizar el análisis de expresión génica. Se optimizaron los procedimientos para la detección de genes expresados de manera diferencial obteniendo un 100% de reproducibilidad en la amplificación de fragmentos. Noventa y cuatro fragmentos diferenciales se seleccionaron con base al tamaño para su secuenciación, edición, identificación y comparación en las bases de datos para nucleótidos y proteínas del NCBI. De 82 secuencias que fueron comparadas en las bases de datos, solo 40 secuencias mostraron similitud significativa con secuencias de mRNA y/o secuencias de proteínas hipotéticas o predichas pertenecientes a *P. americana* y/o a otros géneros. Algunas de las secuencias estuvieron relacionadas a proteínas como la enzima flavanona-3-hidroxilasa (F3H), la proteína pleiotrópica de resistencia a drogas, la enzima lecitina-colesterol acil transferasa y enzima glutatión-S-transferasa microsomal; otras no presentaron alguna función definida.

Palabras clave: Despliegue diferencial, EST, Expresión génica, Secuencias.

INTRODUCCIÓN

El árbol de aguacate es originario de Mesoamérica, su origen tuvo lugar en la parte centro de México y Centroamérica, hallazgos de aguacates primitivos en cuevas de la Sierra Madre Oriental de México evidencian que el estado de Nuevo León, forma parte del centro de origen del aguacate raza mexicana (*Persea americana* Mill. var. *drymifolia*) (Galindo-Tovar *et al.*, 2008; Gutiérrez-Díez *et al.*, 2009). La mayoría de los cultivares de importancia comercial alrededor del mundo se injertan en la variedad raza mexicana pues es resistente a enfermedades de la raíz y también fuente de genes de resistencia a otras enfermedades y plagas. El uso de portainjertos de ésta u otras variedades criollas es la base de la producción de aguacate Hass en las principales áreas cultivadas en el mundo (Rincón-Hernández *et al.*, 2011).

La variedad *drymifolia* es una fuente rica y diversa en metabolitos secundarios antagónicos contra herbívoros y patógenos, particularmente en terpenoides y fenilpropanoides de los aceites esenciales foliares, aunque también se han encontrado compuestos activos en otros tejidos de la planta, muchos de estos compuestos están bajo un fuerte control genético lo que nos puede servir en un programa de mejoramiento o portainjertos (Torres-Gurrola *et al.*, 2009).

Por su gran variabilidad genética el aguacate tiene posibilidades ilimitadas de aprovechamiento, problemas como enfermedades, salinidad, amarre y calidad de fruto, sequía y precocidad que se presentan durante la producción del aguacate, pueden solucionarse recurriendo a la base genética de esta especie (Campos *et al.*, 2008). En los últimos años las vertientes de investigación molecular en aguacate han sido: (1) identificación de genes específicos y etiquetas de secuencias expresadas (ESTs), (2) generación y aplicación de marcadores moleculares, (3) transformación genética, y (4) microarreglos florales (Chanderbali *et al.*, 2008). La mayor parte de los trabajos realizados hasta el momento, se han enfocado a estudiar variedades híbridas como "Hass", y existen pocas investigaciones enfocadas a estudiar los recursos genéticos del aguacate raza mexicana (López-Gómez *et al.*, 2007; Cuiris-Pérez *et al.*, 2009; Gutiérrez-Díez *et al.*, 2009; Acosta *et al.*, 2012).

En plantas, el despliegue diferencial ha sido empleado para aislar genes involucrados en eventos fisiológicos, transducción de señales, respuesta a estrés y metabolismo secundario. Se han aislado genes que codifican factores de transcripción y proteínas de membrana, las cuales suelen estar presente en escasas cantidades dificultando su purificación e identificación (Yamazaki & Saito, 2002), esta técnica explota los avances recientes en la tecnología de secuenciación automatizada y de manejo del ADN (López-Gómez *et al.*, 2007). Los proyectos de etiquetas de secuencias expresadas consisten en secuenciar un gran número de fragmentos obtenidos de librerías de ADNc generadas de diferentes estructuras y estadios de desarrollo que permiten definir y caracterizar funciones de genes involucrados en dichos procesos y que después pueden ser utilizados en programas de mejoramiento y manejo postcosecha (López-Gómez *et al.*, 2007).

En un análisis preliminar a la secuenciación del genoma del aguacate raza mexicana, se obtuvo que el 42% de los genes secuenciados están relacionados con metabolismo, 20% son de función desconocida, 14% son genes de maduración de fruto, 8% están involucrados en síntesis de ácidos grasos, 6% de respuesta a patógenos, 6% son genes no reportados y 4% son genes involucrados en senescencia (López-Gómez *et al.*, 2007).

En los municipios de Aramberri y Zaragoza en el estado de Nuevo León, México, existen variedades cultivadas con características fenológicas y morfológicas contrastantes (Gutiérrez-Díez *et al.*, 2009; Acosta *et al.*, 2012); es posible también encontrar plantas silvestres de *P. americana* var. *drymifolia*, cuyas características son contrastantes a las variedades mejoradas cultivadas. Los sistemas de cultivo utilizados sirven como refugio de diversidad genética que alberga genes que aún no han sido estudiados (Gutiérrez-Díez *et al.*, 2009) y que vale la pena caracterizar a nivel genético.

La identificación de genes codificantes para importantes caracteres, incluyendo producción, forma y tamaño de fruto, resistencia a plagas y enfermedades, favorecerán el mejoramiento clásico del cultivo y proveerán de genes candidatos para la generación de plantas genéticamente modificadas con características deseables (Litz *et al.*, 2007). La elucidación de las bases genéticas relacionadas con el desarrollo, la maduración y el almacenamiento del fruto, así como las relacionadas con la resistencia o tolerancia a enfermedades en el árbol de aguacate, abrirá oportunidades de transferir estas características agronómicas deseables a otros cultivos. Debido a esto, el objetivo de este trabajo fue desarrollar y analizar etiquetas de secuencias expresadas a partir de frutos inmaduros de aguacate mexicano del sur del estado de Nuevo León, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron frutos de 5 a 6 meses de edad fisiológica de árboles de aguacate raza mexicana colectados en los municipios de Aramberri y Zaragoza, Nuevo León, México. Los genotipos analizados fueron Pato, Cuerno, Silvestre, Mantequilla, Criollo Bola, Criollo 2, Plátano Grueso, Todo el Año, María Elena y Leonor (Figura 1).



Figura 1. Frutos maduros de aguacate raza mexicana. 1) Pato, 2) Cuerno, 3) Silvestre, 4) Mantequilla, 5) Criollo Bola, 6) Criollo 2, 7) Plátano Grueso, 8) Todo el Año, 9) María Elena, 10) Leonor.

La extracción de ARN total a partir de mesocarpo se realizó a través del protocolo modificado de Zamboni *et al.* (2008) para plantas leñosas. La cuantificación del ARN extraído y la calidad se determinaron por espectrofotometría y geles de agarosa al 2%, respectivamente.

La generación de etiquetas de secuencias expresadas (EST) se realizó por medio de la técnica de despliegue diferencial siguiendo el protocolo incluido en el estuche comercial RNAlmage[®] de GenHunter (E.U.A.), se utilizaron los tres iniciadores de anclaje para la retrotranscripción: HT11A, HT11C, HT11G y los ocho iniciadores de secuencia arbitraria: HAP9, HAP10, HAP11, HAP12, HAP13, HAP14, HAP15, HAP16. La reproducibilidad de los fragmentos amplificados fue corroborada por triplicado con cinco genotipos y cinco combinaciones de iniciadores seleccionados al azar. La separación de fragmentos diferenciales fue mediante electroforesis en geles desnaturizantes de poliacrilamida al 6%, la tinción se realizó con AgNO₃ de acuerdo al protocolo modificado de Benbouza *et al.* (2006).

Se identificaron y seleccionaron los fragmentos amplificados (ADNc) con peso molecular superior a 100 pb que mostraron comportamiento diferencial entre uno o varios de los genotipos evaluados. La recuperación del ADNc de los geles de poliacrilamida para su reamplificación, se realizó utilizando el protocolo incluido en el estuche comercial meniconado. La reamplificación de cada fragmento de ADNc se realizó utilizando el mismo par de iniciadores para su generación, la mezcla de reacción consistió de Buffer PCR 1X, dNTPs 20 µM, HT11M 0.2 µM, HAP# 0.2 µM, enzima GoTaq[®]Flexi ADN Polimerasa (Promega, E.U.A.) 0.1 U, ADNc del fragmento recuperado 4 µl, y agua Mili-Q estéril hasta un volumen final de 40 µl. El programa térmico consistió en un paso inicial de desnaturización a 94°C por un minuto, 40 ciclos a 94°C por 30 segundos, dos minutos a 40°C y 30 segundos a 72°C; seguido de un paso de extensión final por cinco minutos a 72°C, y finalmente, a 4°C por 10 minutos. La reamplificación de los productos fue corroborada a través de geles de agarosa 2%, se seleccionaron 94 fragmentos con tamaño estimado de 390 a 1500 pb para su secuenciación. La secuenciación se realizó por la empresa Eurofins MWG Operon (E.U.A.).

Las secuencias obtenidas se editaron mediante el programa Chromas Lite V2.1.1, se eliminaron las secuencias correspondientes a los iniciadores y se alinearon con los programas GENtle V1.9.4 y CodonCode Aligner V5.0.2, para determinar redundancia entre fragmentos. Las secuencias editadas se analizaron en las bases de datos del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) mediante comparación de nucleótidos y proteínas utilizando los algoritmos de Blast-nt, Blast-est, tBlastx-nt y tBlastx-est; se consideraron como secuencias altamente similares todas aquellas que mostraron un valor de corte de $E < 1.0e-5$. Secuencias que mostraron similitud con secuencias de *Persea americana* se reportaron aunque el valor E fue mayor a $1.0e-5$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La reproducibilidad de los fragmentos amplificados fue del 100%. Se obtuvieron 21.4 fragmentos diferenciales en promedio por combinación de iniciadores dando un total de 526 fragmentos (Tabla 1) que se recuperaron y reamplificaron (Figura 2).

Tabla 1. Número de fragmentos diferenciales por combinación de iniciadores

Combinación de iniciadores	Fragmentos diferenciales
HAP9-HT11A	24
HAP10-HT11A	25
HAP11-HT11A	19
HAP12-HT11A	14
HAP13-HT11A	22
HAP14-HT11A	16
HAP15-HT11A	15
HAP16-HT11A	58
HAP9-HT11C	23
HAP10-HT11C	31
HAP11-HT11C	18
HAP12-HT11C	22
HAP13-HT11C	16
HAP14-HT11C	10
HAP15-HT11C	27
HAP16-HT11C	41
HAP9-HT11G	14
HAP10-HT11G	31
HAP11-HT11G	24
HAP12-HT11G	11
HAP13-HT11G	23
HAP14-HT11G	17
HAP15-HT11G	09
HAP16-HT11G	16
Total	526

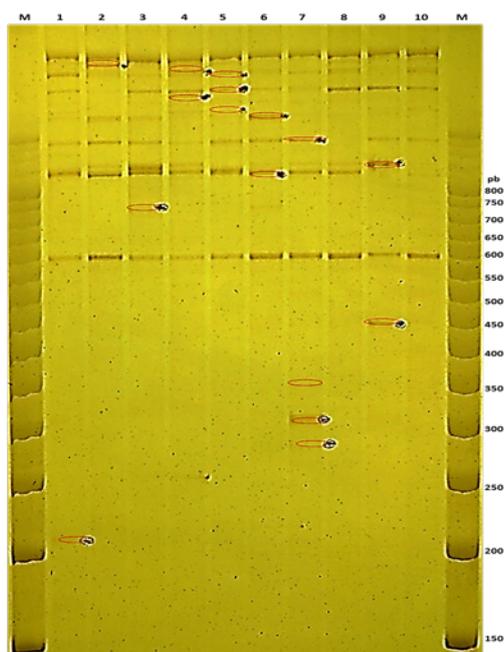


Figura 2. Visualización de los fragmentos amplificados para los genotipos con la combinación de iniciadores HAP16 - HT11G, gel desnaturante de poliacrilamida al 6%. 1) Pato, 2) Cuerno, 3) Silvestre, 4) Mantequilla, 5) Criollo Bola, 6) Criollo 2, 7) Plátano Grueso, 8) Todo el Año, 9) María Elena, 10) Leonor. Marcador de peso molecular de 50 pb, M.

El 75% (393) de los fragmentos diferenciales seleccionados tuvieron reamplificación exitosa. El intervalo de tamaño estimado de los fragmentos obtenidos fue de 95 a 1500 pb. En la Figura 3 se muestran 16 fragmentos diferenciales reamplificados con la combinación de iniciadores HAP16 - HT₁₁G.

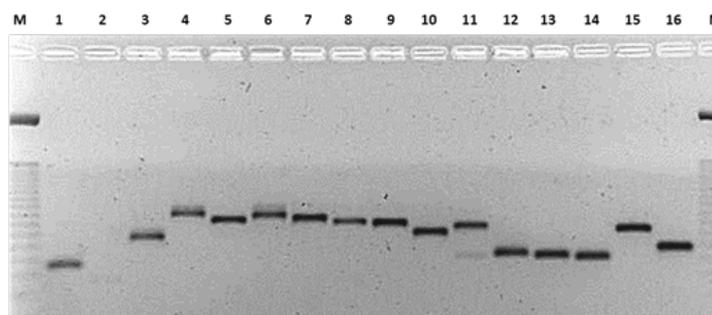


Figura 3. Visualización de fragmentos reamplificados con la combinación HAP16 - HT₁₁G. Bandas diferenciales seleccionadas, 1-16. Marcador de peso molecular de 50 pb, M. Gel de agarosa al 2%.

De los 94 fragmentos reamplificados (ESTs) que se enviaron a secuenciar por duplicado, 12 ESTs fueron descartadas durante la edición debido a la poca definición de las bases en su secuencia. Las 82 ESTs restantes se identificaron con las iniciales FA-Pa01 - FA-Pa82, para fines prácticos se reportaron en una matriz de presencias y ausencias de acuerdo con los genotipos donde estuvieron presentes. La secuenciación tuvo una reproducibilidad del 98-100%. Durante el alineamiento entre las ESTs para determinar redundancia, se encontró la formación de diez grupos debido a la alta similitud entre sus secuencias, los grupos quedaron conformados de la siguiente manera:

- **Grupo 1)** FA-Pa15, FA-Pa44 y FA-Pa42, las dos primeras con 92.27% de similitud en una región de 225 pb considerando la ausencia de cinco bases en FA-Pa15 y diferencia en 17 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*) mientras que FA-Pa15 y FA-Pa42 presentaron 74.40% de similitud en una región de 215 pb considerando la ausencia de seis bases en FA-Pa15 y tres bases en FA-Pa42, así como 22 SNPs, cuatro dinucleótidos y regiones de cinco, cuatro y tres bases: FA-Pa44 y FA-Pa42 presentaron 79.62% en una región de 218 pb considerando la ausencia de cinco bases en FA-Pa42 y dos en FA-Pa44 así como 18 SNPs, dos dinucleótidos, tres trinucleótidos y tres tetranucleótidos.
- **Grupo 2)** FA-Pa77 y FA-Pa78 con 93.52% de similitud en una región de 173 pb considerando la ausencia de tres bases en FA-Pa77 y dos SNPs.
- **Grupo 3)** FA-Pa28 y FA-Pa30 con 98.90% de similitud en una región de 365 pb considerando la ausencia de una base en FA-Pa28 y cuatro SNPs.
- **Grupo 4)** FA-Pa22 y FA-Pa27 con 90.51% de similitud entre sus secuencias en una región de 342 pb considerando la ausencia de una base en FA-Pa22 y 14 bases en FA-Pa27, 23 SNPs y la diferencia en cuatro dinucleótidos.
- **Grupo 5)** FA-Pa43 y FA-Pa14 con 96.85% de similitud entre sus secuencias en una región de 254 pb y 8 SNPs.
- **Grupo 6)** FA-Pa47 y FA-Pa16 con 76.68% de similitud en una región de 224 pb considerando la ausencia de una base en FA-Pa16 y la diferencia en una región de cinco bases, cuatro trinucleótidos, seis dinucleótidos y 23 SNPs.
- **Grupo 7)** FA-Pa49 y FA-Pa50 con 69.81% de similitud entre sus bases en una región de 118 pb considerando la ausencia de 12 bases en FA-Pa50 y la diferencia en una región de cuatro bases, dos trinucleótidos, dos dinucleótidos y 18 SNPs.
- **Grupo 8)** FA-Pa53 y FA-Pa82 con 100% de similitud entre sus bases en una región de 138 pb.
- **Grupo 9)** FA-Pa01 y FA-Pa66 con 61.65% de similitud en una región de 210 pb, considerando la ausencia de 13 bases en FA-Pa01 y cuatro bases en FA-Pa66, así como 24 SNPs, siete dinucleótidos, cinco trinucleótidos y regiones diferentes de ocho, cinco y cuatro bases.
- **Grupo 10)** FA-Pa13 y FA-Pa79 con 72.58% de similitud entre sus bases en una región de 189 pb considerando la ausencia de una base en FA-Pa13 y dos bases en FA-Pa79, y la diferencia en regiones de tres y cuatro bases, así como ocho dinucleótidos y 28 SNPs.

Durante la comparación de los nucleótidos en las bases de datos, un total de 40 secuencias presentaron homologías significativas con por lo menos uno de los algoritmos utilizados. El resto de las secuencias mostraron homologías no significativas o no mostraron similitud con secuencias reportadas.

En la comparación con Blast-nt, FA-Pa01, FA-Pa07 y FA-Pa66 mostraron una identidad del 70% al 81% con secuencias de un gen parcial de la enzima flavanona-3-hidroxilasa (F3H) aisladas de distintos cultivares de *Persea americana*, la cual participa en la ruta de síntesis de antocianinas y taninos condensados (Winkel-Shirley, 2001). FA-Pa09 y FA-Pa37 mostraron identidades de 71% y 85% con secuencias de *Vitis vinifera* de función desconocida, respectivamente, además de identidades de 71% y 84% con secuencias de una proteína pleiotrópica de resistencia a drogas (PDR) y la enzima lecitina-colesterol acil transferasa en *Theobroma cacao*, respectivamente. Las PDR abarcan un amplio grupo de proteínas algunas de las cuales están relacionadas con la respuesta a condiciones de estrés biótico y abiótico, así como con el transporte de metales pesados y de diversos compuestos sin composición química en común (Crouzet *et al.*, 2006). La lecitina-colesterol acil transferasa en plantas de acuerdo con la patente US WO2000032791A2 pudiese estar relacionada con el metabolismo de lípidos. FA-Pa26 mostró identidad del 70% con la secuencia nucleotídica de la proteína FAR1 (*Far-red impaired response*) de *Fragaria vesca subsp. vesca* que participa en la regulación de la acumulación nuclear de fitocromo A en respuesta a luz roja lejana (Lin *et al.*, 2007). FA-Pa34 mostró un 90% de identidad con un gen de *Medicago truncatula* para la proteína 8f relacionada con autofagia la cual esta involucrada en la respuesta a condiciones de estrés celular y en la remodelación de la estructura intracelular en el proceso de diferenciación celular (Slavikova *et al.*, 2008). FA-Pa81 mostró un 85% de identidad con un transportador de potasio de *Cicer arietinum*. Las ESTs FA-Pa21, FA-Pa32, FA-Pa35, FA-Pa45, FA-Pa59 y FA-Pa60 se alinearon con secuencias de distintas especies sin función definida.

En la comparación con Blast-est, FA-Pa01,2 FA-Pa04, FA-Pa06, FA-Pa08, FA-Pa10, FA-Pa13, FA-Pa15, FA-Pa18, FA-Pa21, FA-Pa26, FA-Pa29, FA-Pa32, FA-Pa33, FA-Pa34, FA-Pa35, FA-Pa39, FA-Pa40, FA-Pa41, FA-Pa42, FA-Pa44, FA-Pa48, FA-Pa59, FA-Pa61, FA-Pa63, FA-Pa66, FA-Pa68, FA-Pa70, FA-Pa73, FA-Pa76 y FA-Pa79 mostraron identidad del 68% al 99% con secuencias de mRNA sin función putativa asignada de dos bibliotecas de *Persea americana* relacionadas con el Proyecto del Genoma Floral (<http://fgp.bio.psu.edu>) y el Proyecto del Genoma de la Angiosperma Ancestral (www.AncestralAngiosperm.org). Mientras que las ESTs FA-Pa09, FA-Pa12, FA-Pa37, FA-Pa45, FA-Pa46, FA-Pa60, FA-Pa65, FA-Pa80 se alinearon con secuencias de ARNm de distintas especies sin alguna función asignada.

En la comparación con proteínas (tBlastx-nt), FA-Pa12 presentó similitud con la proteína hipotética glutatión-S-transferasa microsomal de *Oryza brachyantha* la cual cataliza reacciones glutatión dependientes de la transferasa o peroxidasa sobre substratos hidrófobos (Dixon & Edwards, 2010). FA-Pa09 presentó nuevamente similitud con una proteína pleiotrópica de resistencia a drogas, pero esta vez en *Citrus sinensis*. FA-Pa26 presentó similitud con la proteína FAR1 de *Fragaria vesca subsp. vesca*, pero esta vez con un número diferente de accesión. FA-Pa34 presentó la misma similitud que con Blast-nt, para la proteína 8f relacionada con autofagia. FA-Pa81 presentó similitud con un transportador de potasio pero esta vez en *Phaseolus vulgaris*.

Con tBlastx-est, FA-Pa09, FA-Pa12, FA-Pa37, FA-Pa45, FA-Pa71, FA-Pa81 mostraron similitudes para secuencias de diversas especies, todas ellas sin función asignada. FA-Pa01, FA-Pa04, FA-Pa08, FA-Pa13, FA-Pa15, FA-Pa21, FA-Pa29, FA-Pa32, FA-Pa33, FA-Pa34, FA-Pa35, FA-Pa39, FA-Pa41, FA-Pa42, FA-Pa44, FA-Pa46, FA-Pa48, FA-Pa59, FA-Pa61, FA-Pa63, FA-Pa70 y FA-Pa73 mostraron similitud con los mismos números de accesión de secuencias de *Persea americana* que se obtuvieron durante la comparación con el algoritmo Blast-est, mientras que FA-Pa26, FA-Pa68 y FA-Pa78 presentaron similitud con otros números de accesión de secuencias de *Persea americana*.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La comparación de las 82 ESTs obtenidas permitió identificar 40 ESTs con homología significativa con por lo menos uno de los algoritmos utilizados. En la mayoría de los resultados obtenidos durante los análisis de las ESTs se observó alta similitud con ESTs de *Persea americana* reportadas con función no definida, y en menor medida con proteínas de funciones variadas en distintos géneros.

Debido a que solo fue posible secuenciar 94 fragmentos diferenciales de los 393 se buscará secuenciar y analizar el resto de los fragmentos con el fin de tener una mayor cobertura del análisis de expresión, así como corroborar la composición nucleotídica de las ESTs mediante secuenciación en sentido inverso utilizando los iniciadores arbitrarios.

Con la información de la composición nucleotídica de las ESTs obtenidas se podrían diseñar iniciadores para cuantificar los niveles de expresión por medio de RT-PCR en tiempo real de los genes, en diferentes etapas fenológicas del fruto y hacer comparaciones entre los genotipos. Los productos de PCR obtenidos de los fragmentos asociados con algún gen de interés podrían utilizarse como sondas en análisis del tipo Northern dot plot y/o diseñar iniciadores para la técnica "Primer walking" y así tratar de encontrar la secuencia completa de dichos genes. Se recomienda caracterizar la función de cada uno de los diferentes genes detectados y confirmar su asociación a alguna característica agronómica de interés antropocéntrico.

LITERATURA CITADA

- Acosta, D. E., Hernández, I. & Almeyda, I. H. 2012. Evaluación de aguacates criollos en Nuevo León, México: región sur. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. Vol.3, no.2, pp.245-257.
- Benbouza, H., Jacquemin, J.-M., Baudoin, J.-P. & Mergeai, G. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. Vol.10, no. 2, pp.77-81.
- Campos, R. E., Espíndola, B. M. de la C. & Mijares, P. O. 2008. Diversidad del género *Persea* y sus usos. Fundación Salvador Sánchez Colín, Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas del Aguacate en el Estado de México, S.C., Coatepec de Harinas, México. pp. 28-30.
- Chanderbil, A. S., Albert, V.A., Ashworth, V.E.T.M., Clegg, M.T., Litz, R.E., Soltis, D.E. & Soltis, P. S. 2008. *Persea americana* (avocado): bringing ancient flowers to fruit in the genomics era. *BioEssays* Vol. 30, pp. 386-396.
- Crouzet, J., Trombik, T., Fraysse, A. S. & Boutry, M. 2006. Organization and function of the plant pleiotropic drug resistance ABC transporter family. *FEBS Letters*. Vol.580, pp.1123-1130.
- Cuiris-Pérez H., Guillén-Andrade, H., Pedraza-Santos, M.E., López-Medina, J. & Vidales-Fernández, I. 2009. Genetic variability within Mexican race avocado (*Persea americana* Mill.) Germoplasm collections determined by ISSRs. *Revista Chapingo Serie Horticultura* Vol.15, no. 2, pp. 169-175.
- Dixon, D.P. & Edwards, R. 2010. Glutathione Transferases. *The Arabidopsis Book*. DOI:e0131.10.1199/tab.0131, 15p.
- Galindo-Tovar, M. E., Ogata-Aguilar, N. and Arzate-Fernández, A. M. 2008. Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica. *Genetic Resources Crop Evolution* Vol. 55, pp. 441-450
- Gutiérrez-Díez A., Martínez-de la Cruz, J., García-Zambrano, E.A., Iracheta-Donjuan, L., Ocampo-Morales, J.D. & Cerda-Hurtado, I. M. 2009. Estudio de diversidad genética del aguacate nativo en Nuevo León, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*. Vol.32, no. 1, pp.9-18.
- Lin R., Ding, L., Casola, C., Ripoll, D. R., Feschotte, C. & Wang, H. 2007. Transposase-derived transcription factors regulate light signaling in

- Arabidopsis*. Science. Vol. 318, pp.1302-1305.
- Litz R. E., Raharjo, S.H.T. & Gómez Lim, M. A. 2007. Avocado. In: Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 60. Transgenic Crops V (eds. E.C. Pua and M.R. Davey). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp.167-187.
- López-Gómez, R., Torres-Cárdenas, Y., Chávez-Moctezuma, M., Salgado-Garciglia, R., Jiménez-Moraila, B., Corona-Armenta, G. & Herrera-Estrella, L. 2007. Genómica del fruto de aguacate criollo (*Persea americana* Mill. var. *drymifolia*). Actas VI Congreso Mundial del Aguacate Viña Del Mar, Chile. pp. 1-10.
- Rincón-Hernández, C.A., Sánchez-Pérez, J. de la L. & Espinosa-García, F. J. 2011. Caracterización química foliar de los árboles de aguacate criollo (*Persea americana* var. *drymifolia*) en los bancos de germoplasma de Michoacán, México. Revista Mexicana de Biodiversidad. Vol. 82, pp.395-412.
- Slavikova, S., Ufaz, S., Avin-Wittenberg, T., Levanony, H. & Galili, G. 2008. An autophagy-associated Atg8 protein is involved in the responses of *Arabidopsis* seedlings to hormonal controls and abiotic stresses. Journal of Experimental Botany. Vol. 59, no. 14, pp. 4029-4043.
- Torres-Gurrola, G., Montes-Hernández, S. & Espinosa-García, F. J. 2009. Patrones de variación y distribución geográfica de fenotipos químicos foliares de *Persea americana* var. *drymifolia*. Revista Fitotecnia Mexicana. Vol.32, no. 1, pp.19-30.
- Winkel-Shirley, B. 2001. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. Plant Physiology. Vol. 126, pp. 485-493.
- Yamazaki, M. & Saito, K. 2002. Differential display analysis of gene expression in plants. Cell Molecular Life Science. Vol. 59, pp.1246-1255.
- Zamboni, A., Pierantoni, L. & De Franceschi, P. 2008. Total RNA extraction from strawberry tree (*Arbutus unedo*) and several other woody-plants. iForest pp.122-1



ACTAS • PROCEEDINGS

VIII CONGRESO MUNDIAL DE LA PALTA 2015

del 13 al 18 de Septiembre. Lima, Perú 2015

www.wacperu2015.com

