

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE
ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TEMA:

CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA *in situ* Y MOLECULAR DE CAPULÍ (*Prunus serotina* Ehrh.) DEL BANCO NACIONAL DE GERMOPLASMA DEL INIAP- ECUADOR.

TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO OTORGADO POR LA UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR, A TRAVÉS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE, ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA.

AUTOR:

JUAN JOSÉ CHUCURI MALÁN

DIRECTOR DE TESIS:

ING. CARLOS MONAR BENAVIDES M.Sc.

INSTITUCIÓN AUSPICIANTE: INIAP SANTA CATALINA, SENESCYT

GUARANDA – ECUADOR

2014

COLECTA Y CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA *in situ* Y MOLECULAR DE CAPULÍ (***Prunus serotina*** Ehrh.) DEL BANCO NACIONAL DE GERMOPLASMA DEL INIAP- ECUADOR.

REVISADO POR:

….....

ING. CARLOS MONAR BENAVIDES M. Sc.
DIRECTOR DE TESIS

…….

ING. KLEBER ESPINOZA MORA. Mg.
BIOMETRISTA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN DE TESIS.

…….

ING. SONIA FIERRO BORJA. Mg.
ÁREA TÉCNICA

……..

ING. NELSON MONAR GAVILANES. Mg.
ÁREA DE REDACCIÓN TÉCNICA

DEDICATORIA

Estoy muy contento de tenerlos conmigo a los que quiero y más amo en este mundo. Les agradezco con todo mi corazón a mí querido padre Manuelito y mi mami Juanita. Gracias por apoyarme a estudiar y estar siempre a mi lado, en los malos y en los buenos momentos de mi corta vida. Dios les bendiga. La vida nos ofrece a cada instante un espectáculo único y grandioso. Este trabajo va dedicado a ustedes con sobre de estos merecimientos.

Juan

AGRADECIMIENTO

Me gustaría agradecerte a ti Dios, porque hiciste realidad este sueño tan anhelado. A mí querida familia gracias por los consejos oportunos sobre la vida, el respeto, la humildad y su comprensión en mis buenos y malos momentos.

A la Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, Escuela de Ingeniería Agronómica y personal docente. De manera especial al Ing. Carlos Monar Benavides M.Sc, Director de Tesis, por la colaboración prestada en la realización de esta investigación y por su preocupación e interés en mi desarrollo profesional y de todos los egresados de nuestra carrera.

Las personas que lo conformaron el Tribunal de Tesis y supieron brindarme sus experiencias técnicas para realizar este trabajo, ellos son: Ings. Kléber Espinoza Mg (Biometrista), Sonia Fierro B. Mg. (Área Técnica), Nelson Monar G. M.Sc. (Área Redacción Técnica) y Lcda. Myriam Aguay secretaria de la Escuela de Ingeniería Agronómica.

Al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Experimental Santa Catalina, Departamento Nacional de Recursos Filogenéticos (DENAREF) y al Departamento de Biotecnología. Estos equipos de talentos humanos supieron brindarme sus conocimientos y crítica de mucho aspecto cotidiano de la vida, gracias por sus consejos, que me ayudaron a fomentarme como persona e investigador; Ings. César Tapia, Álvaro Monteros, y Andrés Cáceres, quienes con sus conocimientos valiosos lograron contribuir decididamente para realizar y culminar esta investigación.

Un agradecimiento especial a mis compañeros que en su momento aportaron con su más valiosa ayuda, alegría, amistad y académicamente: Daniel, Ángel, Valeria, Dianita, Galito, Patricio, Carmita, Kleber. Finalmente a mis Amigos Bolívar, Oswaldo, Hugo y David. Gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO		PÁGINA
I.	**INTRODUCCIÓN**……	1
II.	**MARCO TEÓRICO**….....	4
2.1.	IMPORTANCIA ECOLÓGICA DEL CULTIVO DE CAPULÍ….....	4
2.2.	ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN ……...…….....	4
2.3.	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA …….....	5
2.4.	CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS…….	8
2.4.1.	Raíz……..…	8
2.4.2.	Tallo……...……..	8
2.4.3.	Ramas……..…….	8
2.4.4.	Copa…….	9
2.4.5.	Hojas……	9
2.4.6.	Flores……..……...	9
2.4.7.	Frutos……...	9
2.4.8.	semillas…….	10
2.5.	CONDICIONES CLIMÁTICAS…….....	10
2.5.1.	Clima…….....	10
2.5.2.	Pluviosidad……...…	10
2.5.3.	Temperatura…….	11
2.5.4.	Suelos…….....	11
2.5.5.	Altitud……..	11
2.6.	VALORES NUTRICIONALES…….…….	12
2.6.1.	Usos……..	13
2.7.	VARIABILIDAD GENÉTICA EN PLANTAS…….……	14
2.8.	CONSERVACIÓN *EX SITU*……..….....	15
2.8.1.	Colecta……...…..	16
2.9.	CONSERVACIÓN *IN SITU*……..……..	16
2.10.	CARACTERIZACIÓN DEL GERMOPLASMA…….	17
2.10.1.	Caracterización morfoagronómica……...	17
2.10.2.	Descriptores……...……	18

2.10.3. Caracterización molecular……..…….... 19
2.10.4. Extracción y cuantificación de ADN……..……..… 20
2.10.5. Marcadores moleculares: Microsatélites……..... 21
2.10.6. Ventajas y limitaciones de los microsatélites……..... 23
III. MATERIALES Y MÉTODOS……..... 25
3.1. MATERIALES…….. 25
3.1.1. Ubicación del experimento…… 25
3.1.2. Material experimental……..…….. 25
3.1.3. Materiales…….…….. 25
3.1.4. Equipos……..……..... 25
3.1.5. Materiales para caracterización molecular ……...……..…...… 25
3.1.6. Equipos…….……..…… 26
3.1.7. Materiales de laboratorio……... 26
3.1.8. Reactivos de Caracterización molecular…… 27
3.2. MÉTODOS……..…...……..….. 27
3.2.1 Factor en estudio……..…….. 27
3.3. TRATAMIENTO…...……..…….. 27
3.3.1. Unidad experimental…….. 27
3.4. TIPO DE ANÁLISIS……...……. 28
3.4.1. Análisis Estadístico de la Caracterización Morfoagronómica……... 28
3.4.2. Matriz de similitud y distancia……..... 28
3.4.3. Determinación del Valor Discriminante entre Grupos..... 28
3.4.4. Caracteres Cualitativos……...……... 29
3.4.5. Caracteres Cuantitativos……..…….. 29
3.4.6. Análisis de componentes principales (ACP)…… ……..…… 29
3.4.7. Análisis discriminante canónico……..…….. 29
3.5. Análisis Estadístico para la caracterización molecular……..…… 29
3.5.1. Determinación del número de poblaciones……..…….. 30
3.5.2. Análisis de diversidad genética…….. 30
3.5.3. Análisis de agrupamiento……..……. 30
3.5.4. Análisis de Coordenadas Principales (PCoA)…… ……..…….. 31
3.5.5. Análisis molecular de varianza……..…… 31

3.5.6. Distancias genéticas de Nei……... 31
3.6.. MANEJO……..... 32
3.6.1. PARTICIPANTES……...……. 32
3.6.2. RECOLECCIÓN DE GERMOPLASMA……. 32
3.6.2.1. Fase de colecta……..…… 32
3.6.2.2. Procesamiento de muestras colectadas……..... 33
3.7. CARACTERIZACIÓN *IN SITU*…….. 33
3.7.1. Fase de Caracterización morfoagronómica *in situ*……..... 33
3.7.2. Descriptores Cualitativos y Cuantitativos……. 33
3.8. MÉTODOS DE EVALUACIÓN Y DATOS TOMADOS……... 34
3.8.1. Hábito de crecimiento (HC)…… …… 34
3.8.2. Diámetro del tallo (DT) (m)…… ……...…….. 34
3.8.3. Altura total (AT) (m)…...…… ……..…… 34
3.8.4. Altura de inserción de ramas secundarias (AIRS)… ……... 34
3.8.5 Número de ramas secundarias (NRS)…… ……..……. 34
3.8.6. Forma de las ramas (FR)…… ……..…. 35
3.8.7. Forma de la copa (FC)…… ……..…… 35
3.8.8. Base de la hoja (BH)…… ……..……... 35
3.8.9. Longitud del pecíolo de la hoja (LPH) (mm)……. ……... 36
3.8.10. Diámetro del pecíolo de la hoja (DPH) (mm)……..….. 36
3.8.11. Color de las hojas (CH)…… …… 36
3.8.12. Longitud de la hoja (LH) (mm)…… …… 36
3.8.13. Ancho de la hoja (AH) (mm)……..... 37
3.8.14. Longitud de inflorescencia (excluida el pedúnculo) (LIEP) (mm)... 37
3.8.15. Número de inflorescencia por rama terciaria (NIPRT)……..…… 37
3.8.16. Color del pedúnculo floral (CPF)……..……. 37
3.8.17. Longitud de pedúnculo floral (LPF) (mm)……..…. 37
3.8.18. Diámetro de la flor (DF) (mm)…… …… 38
3.8.19. Longitud de sépalo (LS) (mm)…… ……. 38
3.8.20. Ancho de sépalo, (ubicado en la parte más ancha) (ASPA) (mm) 38
3.8.21. Longitud de la flor (LF) (mm)…… ……. 38
3.8.22. Forma del fruto (FF)…… …… 38

3.8.23. Diámetro polar del fruto (DPF) (mm)…… …….. 39
3.8.24. Diámetro ecuatorial del fruto (DEF) (mm)……..… 39
3.8.25. Peso de la epidermis del fruto (PEF) (g)…….….. 39
3.8.26. Grosor de la epidermis (GE)…….… 39
3.8.27. Forma general de la semilla (FGS)……..… 39
3.8.28. Longitud de la semilla (LS) (mm)…….… 39
3.8.29. Diámetro de la semilla (DS) (mm)…….... 40
3.8.30. pH…….…. 40
3.8.31. Acidez titulable (AT)……..... 40
3.8.32. °Brix……..……. 40
3.8.33. Porcentaje de materia seca en el fruto (PMSF)…….…… 41
3.8.34. Peso del fruto (PF)……..... 41
3.8.35. Peso de la semilla (PS)…….…. 41
3.9. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR……... 41
3.9.1. Ubicación Geográfica……..…….. 41
3.9.2. Fase de laboratorio……..……..... 42
3.9.3. Procedimiento…….….. 42
3.9.3.1. Colecta del Material Vegetal…….. 42
3.9.3.2. Extracción de ADN genómico……...…… 42
3.9.3.3. La cuantificación de ADN genómico……..... 43
3.9.3.4. Amplificación de Microsatélites……...…. 43
3.9.3.5. Selección de los *primers* Microsatélites……. 45
3.9.3.6. Amplificación de microsatélites mediante el método de M13-SSR´s tailing para LI-COR 4300S…… 45
3.9.3.7. Visualización de los productos con metodología SSR-M13 en el Secuenciador LI-COR 4300s…… 47
3.9.3.8. Genotipaje de muestras de capulí (*Prunus serotina* Ehrh.) mediante uso de microsatélites con el software SAGA- GT Microsatélites… 48

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN……. 49
4.1. Análisis Estadístico de la Caracterización Morfoagronómica…….. 49
4.2. Asociación entre características …… 53

4.2.1. Valor discriminante de los caracteres…… 56
4.2.1.1. Caracteres cualitativos……... 56
4.2.2. Caracteres cuantitativos……. 57
4.3. Estructura de los agrupamientos……. 58
4.3.1. Grupo 1. Las 38 accesiones (Anexo. 8A) corresponden y conforman el grupo proveniente de las provincias de Cotopaxi (16), Tungurahua (7), Chimborazo (4), Cañar (2), Loja (1), Imbabura (2) y Carchi (6)……. 58
4.3.2. Grupo 2**.** Este clúster esta conformada por 6 accesiones (Anexo 8B) que corresponden a las siguientes provincias: Cotopaxi (2), Tungurahua (1), Chimborazo (1), Azuay (1) y Carchi (1)…….. 60
4.3.3 Grupo 3. A este conglomerado pertenecen los 103 accesiones (Anexo 8C) pertenecen a las provincias de: Cotopaxi (28), Tungurahua (20), Bolívar (4), Chimborazo (21), Cañar (5), Azuay (7), Loja (1), Pichincha (3), Imbabura (9) y Carchi (5)…… 61
4.3.4. Análisis de caracteres discriminantes……... 62
4.4. Hábito de crecimiento……... 63
4.4.1. Forma de la copa……... 64
4.4.2. Base de la hoja…….. 65
4.4.3. Color de la hoja……. 66
4.4.4. Forma general de la semilla…….. 67
4.5. Descripción de los morfotipos…….. 68
4.5.1. Morfotipo grupo 1…….. 68
4.5.2. Morfotipo grupo 2…….. 69
4.5.3. Morfotipo grupo 3…….. 70
4.6. Análisis de Componentes Principales…….**.....** 72
4.6.1. Análisis de Componentes principals……... 72
4.7. Análisis discriminante canónico……. 74
4.8 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR…… 75
4.8.1. Extracción y cuantificación de ADN genómico de tejido vegetal (primordios foliares), de los árboles de capulí (***Prunus serotina***

Ehrh.)…….... 76
4.8.2. Amplificación y genotipaje de Microsatélites……..... 77
4.8.2.1. Genotipaje de muestras de capulí **(*Prunus seotina*** Ehrh.**)** utilizando 5 primers microsatélites…… 78
4.8.3. Análisis de datos……..……... 79
4.8.4. Diversidad genética…….. 79
4.8.4.1. Contenido de información Polimórfica (PIC), de acuerdo a la información obtenida de la fracción de descendencia esperada…. 81
4.8.5. Análisis de agrupamiento……. 82
4.8.6. Análisis de Coordenadas Principales (PCO)…….……... 85
4.8.7. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)…… ……... 88
4.8.8. Distancia ge nética de Nei…….**.....** 89

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES……... 90
5.1. Conclusiones…….**.....** 90
5.2. Recomendaciones…….. 92
VI. RESUMEN Y SUMMARY…….**.....** 93
6.1. Resumen…… 93
6.2. Summary…….. 94
VII. BIBLIOGRAFÍA…….**.....** 95
ANEXOS.

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N^0 **PÁGINA**

N^0 1. Clasificación Taxonómica de Capulí…….…….. 5

N^0 2. Análisis bromatológico del capulí. (Happer, A. 2005)…..……. 12

N^0 3. Ubicación geográfica del laboratorio…...…… 41

N^0 4. Mix de reacción para la amplificación de PCR mediante microsatélite empleados para capulí (***Prunus serotina*** Ehrh)…..... 44

N^0 4.1. Programa de amplificación utilizado el en termorciclador PT-700. (Morrillo, E. et al. 2010)…….. 44

N^0 4.2. Monoplex de *primers* SSRs estandarizados para el LI-COR 4300S.. 45

N^0 4.3. Cóctel de reacción para microsatélites en monoplexaje M-13 "Tailing"…… ……. 46

N^0 4.4. Programa de amplificación M13-SSR´s utilizado el en termorciclador PT-700. (Morrillo, E. et al. 2010)…… ……..… 46

N^0 5. Parámetros estadísticos para los 27 descriptores cuantitativos en la estimación de la variabilidad genética de 147 accesiones en la colección nacional de capulí (***Prunus serotina*** Erh.)……. 49

N^0 5.1. Parámetros estadísticos descriptivos cualitativos en la estimación de la variabilidad genética de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Erh.)……... 51

N^0 5.2. Frecuencias y porcentajes de los descriptores cualitativos de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Erh.)……... 52

N^{0}5.3. Descriptores morfológicos utilizados con parámetros para la estimación del valor discriminante en caracteres cualitativos en la colección nacional de capulí **(*Prunus serotina*** Erh.)……..… 56

N^0 5.4. Cuadro generado a través de prueba de Duncan, con los descriptores cuantitativos de las 147 accesiones capulí (***Prunus serotina*** Erh.)…. 57

N^0 5.5. Morfotipos dentro del grupo 1, definidos por método de Ward de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.)…….…... 68

N^0 5.6. Morfotipos dentro del grupo 2, definidos por método de Ward de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.)…….…… 69

N^0 5.7. Morfotipos dentro del grupo 3, definidos por método de Ward de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.)...…….…….. 70

N^0 5.8. Análisis de componentes principales de los descriptores cuantitativas de las 147 accesiones capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.)…….... 72

N^0 5.9. Valores de la función canónica discriminantes de las variables cuantitativas de la s 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.)…….…… 74

N^0 5.10. Valores en función de los grupos formados a partir de la Lambda de Wilks obtenidos en las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.)…….. ……...…… 74

N^0 5.11. Detalle y características de los marcadores microsatélites empleados en el estudio (Origen, código del marcador, origen cloroplasto-núcleo, tamaño reportado, longitud de polimorfismos y frecuencias).…… ……..……. 79

N^0 5.12. Resultado del Contenido de Información Polimórfica de las accesiones de capulí.…… …...……..……..... 81

N^0 5.13. Análisis de Varianza Molecular de 147 accesiones de capulí analizadas con 5 *primer* microsatélites.……..…..….. 88

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N^0 **PÁGINA**

N^0 1. Como se pueden producir, células tetraploides a partir de una célula diploide. ……..…….. 7

N^0 2. Microsatélites, ejemplo de un di, nucleótido A-C(n)..……..……. 23

N^0 3. Esquema del hábito de crecimiento en árboles de capulí. (UPOV. 2002)…… 34

N^0 3.1. Esquema de forma de las ramas en árboles de capulí. (UPOV. 2002)..……. 35

N^0 3.2. Esquema de formas de la copa de árboles de capulí. (UPOV. 200….. 35

N^0 3.3. Esquema de las bases de las hojas de capulí. (UPOV. 2002)…..……. 35

N^0 3.4. Esquema de formas de los frutos de capulí. (UPOV. 2002)…..…… 38

N^0 3.5. Esquema de forma general de la semilla. (UPOV. 2002). …… 39

N^0 4. Identificación de número de conglomerados jerárquicos, para…… 147 accesiones de capulí ……..……...…… 54

N^0 4.1. Dendograma que se utiliza la vinculación de Ward y la distancia Euclídea al cuadrado, en 147 accesiones de capulí…...……. 55

N^{0}4.2. Accesiones de capulí para el Grupo 1 conformado por 38 accesiones.……..… ……...……...…...… 59

N^0 4.3. Accesión de capulí para el Grupo 2 conformado por 6 accesiones.… 60

N^0 4.4. Accesiones de capulí para el Grupo 3 conformado por 103 accesion.…….……..... 62

N^0 4.5 Porcentaje que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto los tres tipos de forma de la copa ……... 63

N^0 4.6. Porcentaje que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto los tres tipos de forma de la copa…..…….. 64

N^0 4.7. Porcentajes que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto a las dos formas de base en las hojas…..…….. 65

N^0 4.8. Porcentajes que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto a las colores de las hojas …….……. 66

N^0 4.9. Porcentaje que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto a las tres formas de la semilla……..……. 67

N^0 4.10. Se observa la distribución de las variables en los ejes del espacio formado por los dos componentes principales. Se visualiza la correlación entre las variables...…… ……..……..... 73

N^0 4.11. Gráfico de los discriminantes canónicas unidas a los grupos de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh)…… 75

N^0 4.12. Gráfico de los discriminantes canónicas unidas a los grupos de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh). 76

N^0 4.13. Muestras amplificadas con los primers: AB, PceGA34, PS12A02, pchgms3, pchgms2 (Anexo. 3), utilizados en la caracterización molecular de la colección de capulí **(*Prunus serotina*** Ehrh.)...….. 77

N^0 4.14. Lectura de gel de acrilamida en el equipo LI-COR 4300s con el programa SAGA de las 87 muestras amplificadas de capulí cultivado mediante PCR monoplex con los primers PceGA34 y PM35..... 78

N^0 4.15. Obtenido mediante el programa Structure versión 2.3.4, de la media de los valores Ln P (D) convertido en Excel y se obtiene el valor K = 3, que se agrupan las accesiones ……... 82

N^0 4.16. Gráfico de barras muestra los coeficientes de pertenencia de las accesiones de capulí ordenados a un grupo determinado. Se muestran las 147 accesiones de capulí los coeficientes de pertenencia y (los colores, rojo, verde y azul) muestran cada una de las poblaciones y subpoblaciones……..……... 83

N^0.4.17. Dendograma de 87 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) incluidas en el estudio basado en una análisis de agrupamiento de UPGMA utilizando la matriz de similitud generada con el

coeficiente de Nei y Li después de amplificación con 5 pares de microsatélites..…….. 84

N^0 4.18. Análisis de coordenadas Principales, se distingue el grupo de accesiones agrupadas, que comprenden entre centro, sur y norte de la región interandina del Ecuador (se observa en los cuadro 4.18.1; 4.18.2 y 4.18.3)…….. 85

N^0 4.18.1. Distribución de las accesiones del Grupo 1, conformado por las accesiones de las provincias de: Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Imbabura y Bolívar …….. 86

N^0 4.18.2. Distribución de las accesiones del Grupo 2, conformado por las accesiones de las provincias de: Cañar, Azuay y Loja.……..... 87

N^0 4.18.3. Distribución de las accesiones del Grupo 1, conformado por las accesiones de las provincias de: Carchi, Imbabura y Pichincha…. 87

N^0 4.19. Representación gráfica de la distribución en porcentajes dentro y entre poblaciones……..……. 88

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N^0

N^0 1. Mapa de sitios de colectas y caracterización morfoagronómica de capulí **(*Prunus serotina*** Ehrh.) para el Banco Nacional de Germoplasma INIAP-Ecuador.

N^0 2. Libro de colectas diseñado de acuerdo al formato del Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos (DENAREF).

N^0 3. Microsatélites que amplificaron loci polimórficos o puntuables en los genotipos de capulí.

N^0 4 Datos Georeferenciados en las 10 provincias de la región interandina del Ecuador.

N^0 5. Tabla de colores Horticultural Royal Society.

N^0 6. Descriptores con valores totalmente homogéneos.

N^0 7. Correlación de Person para 8 descriptores cualitativos y 27 cualitativos.

N^0 8. Clúster obtenido a través de método de Ward y la distancia Euclídea al cuadrado correspondiente al grupo 1 de las 147.

N^0 9. Fotografías de la investigación, seguimiento y evaluación del ensayo

N^0 10. Glosario de términos técnico

I. INTRODUCCIÓN

El capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.), es un árbol con frutos comestibles, de enorme interés forestal originario de América (Vaungh, M. 1951) que ha sido también introducido en el continente Europeo y las islas Británicas donde se ha constituido una opción viable para lograr la forestación (Starfinger, U. 2010). Sin embargo los frutos de P. *serotina* de América del norte son pequeños con un diámetro entre 6 a 10 mm, poco carnosos, astringentes y no tienen valor comercial. (Fresnedo, J. et al. 2010)

En México y en el altiplano andino, sin embargo se domestica el cerezo negro llamado capulí, capulín o capullín (Muratalla, A. 1984). Tienen frutos mucho más grandes (promedio de 2 a 3.5 cm de diámetro) (Peopone, W. et al. 1922). El capulí no se cultiva en grandes cantidades sino más bien que se presentan habitualmente en los huertos familiares, junto a los caminos y cercas (Downey, S. 1999). En los últimos años los frutos son a menudos cosechados y vendidos como fruta fresca en los mercados de México y la región de los Andes (Pretell, C. et al. 1985). El gran resultado de la fruta se debe a la domesticación y selección por los pueblos nativos de América Central y Sur y en especial y en las localidades de las Provincia de Tungurahua y Cotopaxi. Ecuador. (Jácome, L. Comunicación personal. 2014)

Estudios Agronómicos en relación a la productividad y la fenología de capulí se han dirigido por el grupo muratalla en México (Muratalla, A. et al. 1984). En el Ecuador el INIAP, por medio del Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos (DENAREF), promueve la tarea de conservación, manejo y uso del germoplasma de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) del país y por esta razón lo ha identificado como una especie con potencial para su uso y conservación. La caracterización morfoagronómica y molecular del germoplasma está considerada entre las líneas de investigación más importantes. Estas técnicas constituyen un factor de peso decisivo para la solución de los problemas actuales y futuros relacionados con la productividad, erosión genética, adaptación a los cambios

climáticos y en la obtención de variedades mediante la utilización de métodos tradicionales o biotecnológicos. (Costa, C. 2010)

En base a la georeferenciación realizada por el DENAREF entre los años 1984 y 1985 en la Región Interandina, se identificaron accesiones cuyas semillas se conserva en el banco de germoplasma de INIAP. Durante 2012 y 2013 se recolectaron nuevas accesiones complementando vacíos de colecta de los cuales el presente estudio pretende generar información mediante la caracterización *in situ*. El conocimiento de la variabilidad genética de capulí en el Ecuador es indispensable para desarrollar un programa de conservación y uso de recursos genéticos gracias a la identificación de genotipos y microcentros de alta variabilidad.

Los árboles pueden ser considerados como plantas semicultivadas debido a que estos árboles no fueron plantados por los agricultores, pero ya que representa una fuente de frutas y madera son cuidados y conservados por los agricultores (Casas, A. et al. 2007). En los Estados Unidos, P *serotina* se ha estudiado para fines forestales, debido a su capacidad para regenerarse en ambientes perturbados (Maynar, A. et al. 1991). Los estudios existentes informan sobre la regeneración *in vitrio*. (Espinosa, A. et al. 2006)

La erosión genética representa una amenaza real para la diversidad de capulí que junto al calentamiento global han producido alteraciones en su desarrollo fisiológico y productivo dentro de su hábitat natural. A pesar de ser una fuente de sustento para algunas familias de la serranía, no se ha dado la importancia real a este frutal andino que contribuye al equilibrio del ecosistema así como a la subsistencia de la familia.

Se han desarrollado estudios de conservación debido a la erosión genética en la especie (Avitia, E. et al. 1982). El estudio de la diversidad molecular de germoplasma originario de los Estados Unidos, México y Ecuador identificó micro marcadores satelitales específicos para P. *serotina* (Downe, S. et al. 2000). Esta investigación permitirá identificar la variabilidad (diversidad morfoagronómica y molecular) de P. *serotina* existente en la colección del

germoplasma INIAP-Ecuador. Estos resultados han determinado un punto de referencia que facilitará y suministrará información valiosa para las futuras investigaciones de este frutal andino relacionadas al mejoramiento y conservación.

Los objetivos de esta investigación fueron:

- ✓ Caracterizar morfoagronómica *in situ* y molecularmente la colección nacional de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.), del Banco Nacional de Germoplasma del INIAP-Ecuador.
- ✓ Complementar las colectas de la variabilidad genética de capulí existente en la región interandina del Ecuador para su conservación en el banco de germoplasma de INIAP.
- ✓ Caracterizar *in situ* las accesiones identificadas como representativas de las provincias mediante descriptores morfológicos estandarizados.
- ✓ Caracterizar molecularmente mediante microsatélites la colección nacional de capulí.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. IMPORTANCIA ECOLÓGICA DEL CULTIVO DE CAPULÍ

Esta planta se la encuentra por lo general sobre pendientes acentuadas así como también en zonas de cultivos frutales (Flores, J. 2008). Es una especie de hoja caduca (caducifolia), semicultivada reservada en pequeñas superficies de terreno de bancos de recursos genéticos *in situ* (Longar, M. 2004). Es intolerante a la sombra, se desarrolla principalmente alrededor de los bosques y valles considerándose pionera en crecimiento en lugares claros, estableciéndose bien después de perturbaciones como fuego, tala (Starfinger, U. 2010). Los árboles nunca llegan a la parte alta del dosel en bosque, entre el Eucalipto (***Eucalyptus globulus***), pero si hay plántulas en el sotobosque que pueden sobrevivir hasta 5 años (Vaugh, M. 1951). Si no llegan a alcanzar el tamaño adecuado se estanca bajo los árboles primarios causando una probable muerte (CONABIO, 2012). Las hojas jaspeadas casi siempre estan faltas de clorofila y parecen necesita mucha energía (Burnie, G. et al. 2003). Posee la capacidad de reproducirse y mantenerse con hojas a partir de los tocones. (Flores, J. 2008)

El capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) es una especie con una extraordinaria capacidad de crecimiento y regeneración (Pretell, C. et al. 1985). En la práctica, el establecimiento de estos árboles en las regiones de los andes se concentra en los sectores rurales alrededor de los predios agrícolas (Vaugh, M. 1951). De tal manera, purifica el aire, retiene el agua, evita la erosión de los suelos disminuyendo la acción de la gravedad y las inundaciones (Pairon, C. et al. 2005). En España ha sido utilizada en arboretos, en parques con el fin de restaurar hábitat de zonas abiertas y recuperación de suelo. (Miendieta, L. et al. 2007)

2.2. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

Cerezo criollo (black cherry) americano, que proviene de mahua *capolli* (Villacorta, F. 2006). Es un árbol de América, una especie originaria de México conservada desde tiempos prehispánicos, según algunos autores (Pairon, M. et al. 2010). Posteriormente la variedad de capulí que crece en países como el Ecuador

recibió la denominación de ´´***Prunus serotina*** subsp. *Capulí (Cav.)´´* (Vaugh, M. 1951), nomenclatura con la cual se identifica hasta la actualidad. El capulí se encuentra en las montañas altas desde el sur de México con amplia distribución en los valles de las cordillera de los Andes (Suzanne, L. et al. 2000). También se han introducido en Sudáfrica y Europa como rompevientos. (Vaugh, M. 1951)

En estados Unidos fue cultivada por primera vez en 1629 prolongándose a Nueva Escocia (Canadá) (Vaugh, M. 1951). Es uno de los árboles más comunes alrededor de los valles desde el norte de México en manchas aisladas de Guatemala, Venezuela, Colombia y Ecuador hasta el sur de Perú. (León, J. 2000)

En el Ecuador la especie está presente a lo largo del callejón interandino con otros árboles que acompañan (CONABIO. 2012) como el yagual (***Polylepis serícea***), Guarango (***Mimosa quitensis***), arrayán (***Myrcianthes hallii***), aliso (***Alnus acuminata***) (Vázquez, H. et al. 2011), ubicándose desde la provincia del Carchi, parroquia Carmelo cerca del límite norte de Colombia, hasta la provincia de Loja ubicada al sur del país (Chucuri, J. Observación personal 2014). Su distribución varía entre los 2400 a 3900 m.s.n.m, con una mayor cantidad de individuos en las provincias de Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, seguido de las provincias de Bolívar, Cañar y Azuay para finalmente observar pocos árboles dispersos en el cantón Saraguro provincia de Loja.

2.3. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Tabla1: Clasificación Taxonómica de Capulí

Reino:	Plantae
división:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsyda
Orden:	Rosales
Subclase:	Monocotiledónea
Familia:	Rosaceae
Género:	Prunus
Especie:	Serotina

Nombre científico: *Prunus serotina* Ehrh.

Los nombres comunes: Capulí (Ecuador), Cerezo criollo (Colombia), Guida (Perú), Usun (Kichwa-Ecuador) (Chisaguano, L. 2010). Capulín o capullín (México) La subespecie *capulí* se describe como cultivada, mientras la subespecie *serotina* se considera, que se encuentra en proceso de domesticación. (Muratalla, A. 1984)

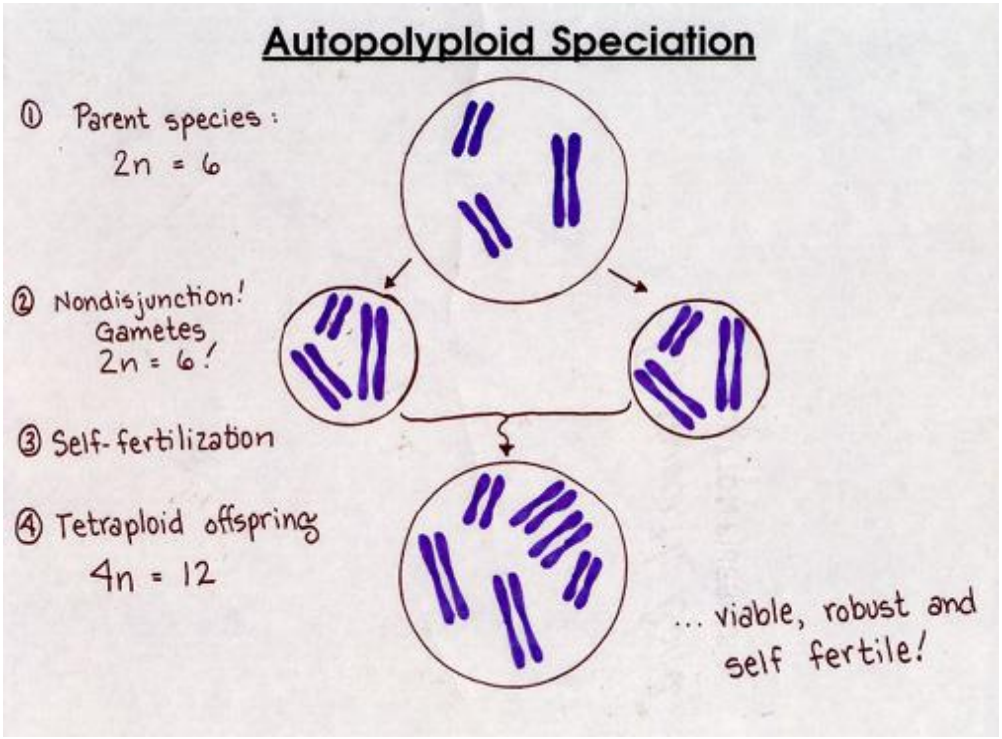
A nivel mundial Prunus es considerado uno de los principales géneros dentro de más de 90 géneros y 2520 especies de la familia rosáceae y se distribuye ampliamente (Pérez, A. 2007). En el Ecuador existen 71 géneros y 80 especies (Freire, A. 2004), conocidas por sus frutos comestibles, ubicados en los climas templados (Moraes, M. et al. 2006). Habitualmente se ha citado como una especie predominante de la zona templada y de la zona subtropical del hemisferio norte (Reynel, C. 2010). En estas regiones se han encontrado especies que presentan biotipos muy variados, cultivados en zonas templadas, desde árboles como el manzano, peral, melocotonero o duraznero, ciruelo, cerezo, albaricoquero, almendro, ciruela pasa, membrillo, frambueso, zarzamora, que forman matas muy ramificadas y a menudo espinosas, hasta arbustos como los rosales silvestres, mora andina (***Rubus adenotrichus***), frutilla (***Fragalia vesca*****)** con frutos pequeños llamados aqueños (Patzelt, T. 1996). A partir de estos biotipos se componen subespecies botánicas que han sido establecidas en base a características morfológicas de hoja, flores y frutos. (Fresnedo, J. et al. 2010)

En el Ecuador, dentro de la familia Rosáceae se encuentran especies de gran importancia económica como aquellas que pertenecen a los géneros *Rosa y Malus.* Hay un total de 12 géneros (7 son nativos) y 50 especies (Romoleroux, K. 2004). En la región andina encontramos dos especies de importancia: ***Prunus rugosa*** Koehne y ***Prunus serotina*** Ehrh, esta última ampliamente distribuida y cultivada (Vaugh, M. 1951). La mayoría de estas especies crecen sobre los 2500 m.s.n.m. y pueden ser hierbas, arbustos y árboles. (Patzet, T. 1996)

P. *serotina* Ehrh, es una especie tetraploide (2n=4x=32) (Suzanne, L. et al. 2000), cuyos cromosomas (2n=4x=32) provienen de especies de cereza agria y cereza dulce (Lie, Q. et al. 2000). Aunque no es información verificada hay indicios que surgió a través de una hibridación natural entre cereza dulce (2n = 2x = 16)

(Peace, C. et al. 2012) y el guido P. *cerasus L.* Aún no se sabe a ciencia cierta si esta especie es un alotetraploide 2n = 4x = 32 o autotetraploide, (Dikson, E. et al. 1992). Este resultado tiene sentido en otros estudios donde la poliploidía para P. *serotina* ha sido reportada como 4x, 5x y 6x) (Forbes, D. 1990), que probablemente son híbridos intraespecíficos (Pairon, C. et al. 2005). De no haberse propuesto ninguna especie progenitora (Valpuesta, V. 2002) considera que se ha generado a través de un proceso de alopolinización espontánea. (Gráfico 1) (Podrían explicarse parcialmente por la existencia de polinización entomófila) (Martínez, N. et al. 2013). Estudios de filogenética lo ubican en un lado cercano a los subgéneros *Padus* y *Laurocerasus.* (Pairon, M. et al., 2010)

Gráfico 1. Como se pueden producir, células tetraploides a partir de una célula diploide.



El guido (***Prunus ceraus*** L.) es una especie tetraploide (2n=4x=32) (Cordeiro, L. et al. 2008) que se utiliza como porta injerto del cerezo y que se cultiva por sus frutos ácidos y jugosos (Pérez, M. et al. 2008). Los híbridos (*Prunus x gondouinii* Rehd.) son tetraploides (2n=4x=32) y frecuentemente presentan características de flor, fruto, hoja y árbol intermedias entre las de sus progenitores. (Pérez, R. 2009)

2.4. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

P. *serotina*, es conocido comúnmente con los nombres de capulí, capullin y black cherry (cerezo negro). En el Ecuador a esta especie se describe como una planta leñosas perteneciente al género *Prunus* y cuyos individuos registran alturas que promrdian los 15 metros (Pretell, C. et al. 1985), con corteza interna de color blanquecino y externa de color café, con flores dispuestas en racimos de color blanco y de frutos con una drupa de color negro de una sola semilla. (Vaugh, M. 1951)

2.4.1. Raíz

Posee un sistema radical extendido o medianamente profundo donde la mayoría de las raíces ocupan los primeros 60 cm del suelo y tienen un crecimiento rápido (Infante, B. et al. 2008). La raíz es hipogea (geotropismo positivo) para dar soporte y tiene una raíz principal pivotante. (Núñez, G. 2012)

2.4.2. Tallo

El tallo es largo y recto con lenticelas y si está situado entre los árboles de otras especies forestales en el bosque llegan a tener un diámetro (DAP) de 1.2 metros (Patzelt, T. 1996). En sitios claros estos árboles son bajos en altura con mayor diámetro de tallo (DAP) (Pretell, C. et al. 1985). Esta cubierto por una corteza agrietada de color pardo oscuro en la madurez, exceptuando las ramas tiernas que a veces son pubescentes y de tonalidades grisácea (Flores, J. 2008). El capulí, es un árbol típicamente hermafrodita frondoso monopódico caducifolio que puede llegar a alcanzar hasta 38 metros de altura. (Apesam, 2006)

2.4.3. Ramas

Forman un ángulo y parten del tallo principal, extendidas, alternas entre sí (Niembro, A. et al. 2010). Desiguales por la presencia de corteza de grosor menor que el tronco manteniendo una longitud recta de 3 a 4 metros (Vaugh, M. 1951). Estas a su vez se dividen en ramas secundarias para posteriormente dividirse en

terciarias de las cuales nacen las ramas del año donde florecen y posteriormente fructifican los frutos. (Lascurain, M. 2010)

2.4.4. Copa

Copa con apariencia de un hongo que produce un sombra densa redonda de 6 a 10 m alrededor (Vaugh, M. 1951). Eventualmente el diámetro de la copa aumenta y se presentan ramillas horizontales delgadas y rígidas. (Peopone, W. et al. 1922)

2.4.5. Hojas

Son hojas simples, alternas, dispuestas en espiral (Longar, M. 2004). Los pecíolos miden 1 a 1.5 cm de longitud. Las láminas son lanceoladas y curvadas de 5 a 16 cm de largo por 2 a 5 cm de ancho, con ápice agudo (Peopone, W. et al. 1922). Los nervios secundarios son 12 a 14 pares con un margen aserrado, haces verdes oscuros y brillantes abundantes, con ausencia de pubescencia en el haz y envés. (Pretell, C. et al. 1985)

2.4.6. Flores

Es una panoja con apariencia de espiga semejante a una cola de gato, con espiguillas muy brevemente pediceládas dispuestas a un sólo lado del raquis (Ostrom, E. 2012). Cada una de estas flores posee pétalos 5 simétricos de al igual que los sépalos con un ovario unilocular con dos óvulos, rodeado de numerosos estambres simples y un único pistilo de 1 cm de longitud portando ambos sexos (Mille, P. 1942). Son flores terminales en racimo o cimas pequeñas colgantes de color blanco de polinización entomófila, es decir que atraen gran cantidad de abejas por el néctar que producen y suelen desprender una fragancia distintiva (Vaung, M. 1951). Estas flores se presentan numerosas en cada uno de los árboles de capulí, agrupados en racimos axilares colgantes y largos de 10 a 15 cm de largo con pedicelo de 5 a 10 mm de longitud. (Peopone, W. et al. 1922)

2.4.7. Frutos

Son globosos y se organizan en racimos delgados de color negro, con cáscara delgada de pulpa jugosa y con un sabor entre dulce y amargo (Sanjinés, A. et al.

2006). Su tamaño oscila entre 12 a 20 mm de diámetro con un peso promedio de 4 g (Peopone, W. et al. 1922). Fructifican abundantemente en su tercer o incluso segundo año de crecimiento, apetecidos por la aves, las cuales contribuyen a la dispersión de la especie aunque evita que llegue a su estado fisiológico óptimo de maduración (Reynel, J. et al. 2010). En el Ecuador esta especie florece desde inicios del mes de agosto hasta finales del mes de febrero, todo esto dependiendo del piso altitudinal.

2.4.8. Semillas

El capulí tiene una sola semilla por fruto de color café, redonda, protegidas por un hueso (Pretell, C. et al. 1985). Presentan forma esférica cubierta por un endocarpio o hueso leñoso (almendra) de sabor amargo. (Calero, L. 2011)

Las semillas son impermeables al agua. Un árbol aloja entre 4.000 a 6.000 semillas. (Pretell, C. et al. 1985)

2.5. CONDICIONES CLIMÁTICAS

2.5.1. Clima

2.5.1.1. Pluviosidad

Por lo regular la cantidad y frecuencia de riego está relacionado al tipo de suelo y clima. Los árboles de capulí en el presente estudio realizado están distribuidos en provincias como Carchi, Imbabura y Pichincha con precipitaciones entre 600 mm a 1000 mm mientras tanto en las provincias de Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja con 500 mm de precipitaciones repartidos durante los meses del año (Villavicencio, A. et al. 2008). Similar a los frutales de hueso como el manzano (***Malus domestica***), duraznero (***Prunus persica***), ciruelos (***Prunus salicina***, ***Prunus domestica***), peral (***Pyrus communis***), su consumo anual de agua es entre 2.500 a 4.000 m^3 por ha (Sánchez, D. et al. 2008). El capulí en el oeste y centro de México crece en zonas cercanas a los bosques de Querus y Pinus con 400 a 900 mm de lluvia al año. (Vaugh, M. 1951)

2.5.1.2. Temperatura

En la sierra norte entre las provincias de, Carchi, Imbabura y Pichincha se registra una temperatura media, de 16 °C a 20 °C. Dentro de las provincias de: Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja (región sierra centro y sur del Ecuador) a una temperatura media de 13 °C a 14 °C las especies de capulí han demostrado una mayor adaptación al conjunto de alteraciones meteorológicas (Hofstede, R. et al. 1998), como el frío, el calor, la humedad y las sequías prolongadas. (Villavicencio, A. et al. 2008)

2.5.1.3. Suelos

En las localidades de la región sierra centro de nuestro país donde se encuentran situados estos árboles de capulí, son suelos de tipo Andisol pedregosos oscuros, arenosos, franco arenosos y arcillosos con contenidos de humedad y buen drenaje (Luzuriaga, T. 1996). Estos suelos poseen altos contenidos de fósforo y aluminio asimilable (Hofstede, R. et al. 1998) y en este tipo de suelos el capulí se adapta y se desarrolla sin ningún inconveniente (Calero, L. 2011). Se ha notado la presencia de estos árboles con mayor frecuencia en suelos ácidos, relativamente infértiles (Marquis, D. 1990) con pendientes de 2° hasta 45° y en los filos de los riachuelos, alrededor de los predios en terrenos planos (Villavicencio, A. et al. 2008). Estos sitios se encuentran comúnmente ubicados al norte, centro y sur de la región sierra del Ecuador (Hofstede, R. et al. 1998). Existe un mejor desarrollo de los frutos al estar plantados en suelos arenosos ubicados en las localidades de la provincia de Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo. (Villavicencio, A. et al. 2008)

2.5.1.4. Altitud

Crece en forma arbustiva (sin flores) hasta los 3900 m.s.n.m. (Auclair, P. et al. 1971). Se ha desarrollado en Ecuador rangos altitudinales que oscilan entre los 2400 a 3900 m.s.n.m. Conforme se asciende en altura se reduce su tamaño y pierde capacidad de producción de fruto. (ATLAS, 2009)

2.6. VALORES NUTRICIONALES

La mayoría de los frutales nativos tienen propiedades nutraceúticas; a la vez que alimentan y nutren a la persona, proporcionan beneficios adicionales para la salud, fortaleciendo el sistema inmunológico y previniendo algunas enfermedades como la fiebre e inflamaciones de la vista, tos, tisis pulmonar y debilidad nerviosa (Vaugh, M. 1951). En la actualidad este cultivo tiene gran importancia por poseer una amplia gama de compuestos fenólicos como taninos y flavonoides de los que se conocen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y su capacidad para remover oxigeno reactivo y radicales libres. Dos antocianinas ya reportadas en capulí son la cianidina-3-glucosido y cianidina-3-rutinosido. (Jiménez, M. et al. 2011)

Esta especie destaca como una excelente fuente alimenticia por sus altos contenidos de nutrimentos. Cuadro 2. (Gavilanes, F. 1991)

Cuadro 2. Análisis bromatológico del capulí. (Happer, A. 2005)

Valor energético	81 Kcal
Humedad	77,2 g
Proteína	1,3 g
Grasa	0,2 g
Hidratos de Carbono	20,7 g
Fibra	0,6 g
Calcio	24 mg
Fósforo	24 mg
Hierro	0,8 mg
Vitamina A	45 mg
Tiamina	0,04 mg
Ácido ascórbico	18 mg

Análisis bromatológico de Capulí. (Happer, A. 2005)

2.6.1. Usos

Los frutos de capulí y en función de su tamaño color y sabor se los encuentra a la venta en los mercados locales. El capulí es parte de una práctica de intercambios en las ferias, ¨trueques¨, principalmente de las provincias de Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Imbabura, Carchi, Cañar, Azuay, Bolívar y Pichincha, como una costumbre conservada desde tiempos precolombinos por los agricultores ubicados en la región interandina del Ecuador. (Pretell, C. et al. 1985)

Los frutos se consumen como fruta fresca y en_platillos tradicionales como el "Jucho"(dulce preparado en Tungurahua y Chimborazo en los meses de marzo y abril) que incluyen frutas como el capulí, durazno, manzana fáciles de encontrar en temporada de cosecha (Flores, J. 2008). Su pulpa es utilizada principalmente en la elaboración de helados, mermeladas y bebidas (preservas o vino) (Calero, L. 2011). También se usa en pasteles que incluyen chocolate negro además de ser empleado como colorante para cocteles. (Beccaceci, M. et al. 2006)

Las semillas son tóxicas y contienen 30 a 40 % de aceites semi secantes apropiados para la fabricación de pintura y jabones (Flores, J. 2008). Adicionalmente la corteza y hojas se utilizan en infusión como calmante eficaz para la fiebre en los seres humanos. (Ruales, C. 2007)

Los frutos son muy apreciados por los campesinos ya que son usados en alimentación familiar, pudiendo elaborarse dulces, mermeladas, jugos y licores en procesos de fermentación y en varias zonas de la sierra se comercializa constituyéndose un ingreso significativo para el poblador rural (Hofstede, R. et al. 1998). En la fruticultura se puede usar como patrón para injertar especies afines tales como la ciruela, manzana y durazno (Pretell, C. et al. 1985). La madera es de buena calidad y tiene gran duración. Tiene un color rojizo y se usa para la construcción de arado, yugos, manceras, cabos de herramientas y leña. (Fuentes, A. 2005)

Los árboles nativos como el capulí tienen importancia por la riqueza genética al igual que por sus propiedades nutricionales y tolerancia a condiciones adversas (Ivette, S. et al. 2008). Realizando plantaciones de capulí en lugares despojados por la trasportación de minas a cielo abierto sirve en la recuperación del mismo (Uchytil, R. 1991). Los mejores resultados se obtuvieron realizando siembras de plantas de capulí de un año obtenidos desde un vivero (Houhg, R. 1957). En los andes ecuatorianos son usados como leña y carbón; la madera es aprovechable en la construcción rural, decoración de interiores, postes, carpintería en general ya que se caracteriza por tener un color rojizo brillante y facilidad de labrado lo que permite hacer esculturas y decoraciones de alto valor estético. (Flores, J. 2008)

En muchas de las regiones de los Andes se realiza festejos gracias a todas las bondades que genera esta especie y en algunos lugares como la provincia de Cotopaxi se ha levantado en su honor un santuario donde se presenta una imagen tallada en madera conocida como "señor del arbolito".

En la Ciudad de Quito tenemos al árbol de capulí sembrado colectivamente por la asamblea de la floresta-Quito en el redondel de dicho barrio principal, simbólicamente como la plantación de un proceso social en un espacio público retomado por esta organización política social barrial, la que surgió a partir de la protesta que defenestró al ex presidente Lucio Gutiérrez de su cargo.

La tercera parada del terminal Quitumbe del sistema de transporte público Ecovia lleva el nombre de capulí, ubicado en la avenida Maldonado al sur de la ciudad.

En la región de Caja Marca, Perú, se hace una fiesta alrededor del árbol que termina en su corte ´´tumbamonte´´; sin embargo se está buscando valorizar la importancia de este árbol y reducir esta tala perjudicial. (Vaungh, M. 1951)

2.7. VARIABILIDAD GENÉTICA EN PLANTAS

La variabilidad genética, conocida también como recursos genéticos, no es más que la variación que presenta el material genético de una población y/o especie (Zhang, D. 2004). El conocimiento de la variabilidad genética de las plantas ha permitido realizar un mejor aprovechamiento de los recursos fitogenéticos.

La caracterización de la especie nos da una estimación de la variabilidad existente en el genoma de la población de individuos que la conforman, la estructura genética a través de la determinación de poblaciones, identificación de duplicados dentro de una colección y de genes especiales o alelos particulares aprovechando todas las características o rasgos tanto genéticos como morfológicos beneficiosos que podrían ser de gran utilidad en el momento de tratar de obtener un producto más eficiente y con buenas características a la industria alimenticia. (Martínez, N. et al. 2013)

2.8. CONSERVACIÓN *EX SITU*

La conservación *ex situ* entendida como una disciplina dedicada a la protección, rescate, mantención, estudio y uso sustentable del patrimonio biológico de un país, es vital para mantener la diversidad genética de especies de un país o región, así como sus interacciones y los procesos evolutivos que las originan (Salazar, E. et al. 2006). La conservación de recursos genéticos vegetales (plantas útiles o potenciales para el ser humano) se puede practicar bajo dos modalidades: *in situ*, es decir en lugar donde crecen en estado silvestre o *ex situ*, fuera del lugar donde crecen en estado silvestre.

La conservación *ex situ*, se define como la conservación de muestras genéticamente representativas de las especies que se mantienen viables a través del tiempo, fuera de su hábitat natural o lugares de cultivo, en ambientes controlados y con el apoyo de tecnologías apropiadas para dicho propósito (Consorcio GTZ/FUNDECO/IE, 2001). Las muestras de una especie se agrupan en una colección. Estas colecciones pueden estar conformadas por unas pocas o muchas muestras de una especie. La conservación *ex situ* de plantas puede realizarse como plantas completas, en forma de semillas, partes vegetativas con capacidad reproductiva (bulbos, tubérculos, yemas, entre otras), tejidos vegetales (meristemas), polen y genes. A todas estas estructuras u organismos con capacidad reproductiva se les denomina germoplasma.

El Ecuador cuenta con varias colecciones nacionales de recursos fitogenéticos que se conservan en entidades públicas y privadas, universidades, centros e

instituciones de investigación e incluso a nivel personal o particular. Por mandato del estado, existe un banco de germoplasma nacional que ejecuta y coordina las acciones de conservación *ex situ.* Dicha entidad es el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), a través de su Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos (DENAREF). (Estrella, J. et al. 1995)

La conservación *ex situ* es un complemento indispensable de la conservación *in situ* de la diversidad biológica, además es una muy importante y comprobada vía para la conservación de los recursos genéticos agrícolas, realizadas fundamentalmente a través de los bancos de germoplasma. (González, E. 2002)

2.8.1. Colecta

Se define como la actividad o acción en la que el colector busca de manera activa a los organismos en su ambiente o en los sitios donde éstos se distribuyen (Medina, E. et al. 2003). Es la obtención de semillas o cualquier parte de la planta que contenga material genético necesario para regenerar y producir una nueva planta. (Sajinés, A. et al. 2006)

El INIAP a través del DENAREF y sus programas de mejoramiento realiza constantemente misiones de colecta de germoplasma a nivel nacional dirigida a una o varias especies. Es así como se ha recolectado semillas de diferentes cultivos provenientes de todas las regiones del país. Para cumplir este propósito debe existir un muestreo adecuado de los frutos o semillas en el campo, lo cual varía de acuerdo a la especie en cuestión sea ésta autógama o alógama, para así lograr una óptima representación del cultivo. (Velásquez, J. et al. 2008)

2.9 CONSERVACIÓN *IN SITU*

Es un método de conservación en el lugar donde un material ha desarrollado sus características particulares, sean reservas naturales o campo de agricultores (Velásquez, J. et al. 2008). La conservación *in situ* de la agrobiodiversidad por parte de los agricultores se lleva a cabo mediante sistemas de cultivos nativos o tradicionales que incorporan a los parientes silvestres de biodiversidad vegetal asociada con ellos.

Es la conservación de los ecosistemas, hábitats naturales y el mantenimiento y recuperación de poblaciones viables de especies en sus entornos naturales y en el caso de las especies domesticadas y cultivadas en los ambientes en que hayan desarrollado sus propiedades específicas. Cabe señalar que actualmente la mayoría de la agrobiodiversidad remanente *in situ* se encuentra en las fincas de subsistencia de los países más pobres y aún en "jardines caseros" de las naciones industrializadas. (Brookfield, H. et al. 2002)

La conservación del germoplasma *in situ* ha sido frecuentemente confundida con la conservación integral de la naturaleza sin embrago, son actividades muy diferentes. La conservación de la naturaleza, expresada en los parques nacionales, santuarios o zonas de reserva, trata principalmente de preservar el ecosistema. La conservación de recursos fitogenéticos *in situ* es ´´el mantenimiento continuado de una población en la comunidad a la cual pertenece, dentro del ambiente al cual está adaptado. (Mario, E. et al. 1998)

La conservación *in situ* permite que las plantas puedan continuar su proceso evolutivo en un ambiente natural, mientras que la conservación *ex situ* provee una seguridad y accesibilidad al germoplasma. (Mario, E. et al. 1998)

2.10. CARACTERIZACIÓN DEL GERMOPLASMA

El objetivo principal de la caracterización es describir y dar a conocer el valor del germoplasma. Existen otros objetivos como la identificación taxonómica correcta, la descripción morfológica y molecular, la evaluación de caracteres de valor agronómico, las estimaciones de la variabilidad fenotípica y genotípica y las relaciones entre características. (Sevilla, R. et al. 2004)

2.10.1. Caracterización morfoagronómica

Los caracteres morfológicos han sido muy usados para la identificación de especies, familias y géneros de plantas. Además, las características morfológicas y su etnobotánica han sido el tema de numerosos estudios en genética de poblaciones y agricultura donde la resistencia a plagas, enfermedades y el rendimiento han sido factores importantes. (González, E. 2002)

Los marcadores morfológicos y agronómicos siguen siendo utilizados ampliamente hoy día ya que no requieren medios o tecnologías complicadas y también son los únicos marcadores basados en la observación directa de la planta. También es notable la influencia de muchos factores sobre las medidas como por ejemplo la edad, el estudio fenológico y sanitario de la planta, el manejo del cultivo y las condiciones ambientales. Además, existe un alto grado de subjetividad a la hora de hacer la descripción. En consecuencia, se requiere personal con experiencia, que sea capaz, sobre todo, de diferenciar entre variabilidad debida a la genética y aquella debida a la fluctuación ambiental. (Fendri, M. 2008)

Una caracterización es una descripción varietal minuciosa de los atributos cualitativos y cuantitativos de la variabilidad genética de una especie o de individuos en particular (variantes) que sirve como respaldo o sustento de una variedad, clon, híbrido o de una línea pura cuando esta se somete a un proceso de mejoramiento genético a fin de desarrollar variables con alto potencial genético y de gran valor comercial con posibilidad de patentarlos (Hernández, J. 2012). Se define como una descripción de la variación que existe en una colección de germoplasma en términos de características morfológicas y fenológicas de alta heredabilidad, es decir características cuya expresión es poco influenciada por el ambiente. (Abadia, T. 2001)

En la caracterización de una especie se estima la variabilidad existente en el genoma de la población de individuos que conforman. Todos los genes cumplen determinadas funciones y sus efectos pueden o no expresarse en características identificables de forma visual. Esto quiere decir que hay una variabilidad que se puede detectar a simple vista y otra que, aunque no es visible fácilmente, también existe en la especie pero requiere de técnicas especiales para ser detectada. (Hidalgo, R. 2003)

2.10.2. Descriptores

Un descriptor es un atributo cuya expresión es fácil de medir y nos da una información referente a la forma, estructura o comportamiento de una accesión.

Los descriptores ideales son heredables, pueden ser detectados a simple vista de igual forma en todos los ambientes (Hidalgo, R. 2003). Los órganos más importantes para la descripción morfológica son aquellos que están menos influenciados por el ambiente (Enríquez, G. et al. 1991). Los descriptores nos ayudan a diferenciar entre los distintos fenotipos existentes.

También llamados codificadores o marcadores, son características que se expresan más o menos estables bajo la influencia de diferentes condiciones del medio ambiente y permiten identificar individuos. (Hidalgo, R. 2003)

Los definen como un rasgo o característica identificable y medible de una accesión; atributo referente a la forma, estructura o comportamiento de un individuo. (Velásquez, J. et al. 2008)

2.10.3. Caracterización molecular

La aparición de marcadores moleculares esta ayudando a eliminar tanto los inconvenientes de una selección basada en el análisis exclusivo del fenotipo como la identificación de especies y variedades de una forma más rigurosa. (Sajinés, A. et al. 2006)

La definición de la estructura molecular del ácido desoxirribonucleico (ADN) por parte de Watson y Crick en los años 50, abrió todo un mundo de nuevas posibilidades científicas para el conocimiento y mejor aprovechamiento de plantas, animales y microorganismos, contribuyendo en gran parte a lo que se ha dado en llamar la revolución biotecnológica. (Phillips, W. et al. 1998)

Los marcadores moleculares se han utilizado en los siguientes aspectos de la mejora de plantas: estimación de la distancia genética entre poblaciones, variedades, líneas puras e híbridos, identificación y distinción de variedades e híbridos para proteger los derechos del obtentor vegetal en el registro de variedades protegidas de cada país, establecimiento de relaciones de parentesco entre líneas de variedades para realizar estudios genéticos, localización e identificación de genes cualitativos o mayores y también de genes con efectos pequeños que afectan caracteres cuantitativos. (Azofeifa, T. 2006)

El desarrollo y utilización de marcadores moleculares en las últimas décadas ha contribuido a perfeccionar los estudios de los recursos genéticos, reduciendo las incertidumbres debido a la fluctuación en los caracteres morfológicos y agronómicos. Efectivamente, dichos marcadores presentan una buena constancia e incluso son completamente independientes de las condiciones externas en caso de los marcadores de ADN. Además los marcadores moleculares pueden ser analizados en distintos tejidos y en diferentes estadios de desarrollo de la planta. Especialmente en el caso de las izoenzimas y marcadores de ADN, se ha demostrado niveles de polimorfismo considerables y han sido de gran utilidad para estudios de identificación en especies. (Rallo, L. et al. 2005)

Las técnicas moleculares, han permitido conocer y caracterizar el contenido genético de los organismos, así como estimar su diversidad, las relaciones genéticas y el grado de similitud entre individuos de poblaciones naturales o mejoradas. Se ha demostrado su utilidad en estudios de mapeo genético, filogenia, sistemática molecular, estrategias de mejoramiento asistido por marcadores moleculares e identificación varietal. (Ferreira, M. et al. 1998)

2.10.4. Extracción y cuantificación de ADN

El aislamiento de ADN es una técnica básica en la biología molecular. La extracción y cuantificación de ácidos nucleicos constituye la primera etapa de la mayoría de los estudios de biología molecular y de todas las técnicas de recombinación de ADN. Los métodos de extracción permiten obtener ácidos nucleicos purificados a partir de todos los componentes de la célula. Para desarrollar experimentos con marcadores moleculares es indispensable una adecuada extracción del material genético de planta y la selección del tejido que va emplearse como fuente. Los tejidos jóvenes contienen más ADN que los tejidos viejos. Las plantas poseen tres tipos de ADN: nuclear, mitocondrial y cloroplasmático. La mayor parte de información genética se encuentra contenida en el núcleo de la célula. El ADN se encuentra empaquetado y asociado a proteínas histonas, conformando los cromosomas (Brown, M. et al. 1979). El ADN mitocondrial es aquel contenido por las mitocondrias en el citoplasma de la célula (Nijman, J. et al. 2003). El genoma mitocondrial tiene un tamaño de 15 a 17

kb, su longitud varía considerablemente entre especies (e.j. 30 micrómetros en plantas superiores) (Brown, M. et al. 1979). Finalmente tenemos el ADN cloroplasmático, que tiene forma circular de 120 a 200 kb, con intrones y exones que se considera muy conservado ya que se trata fundamentalmente del mismo genoma desde las hepáticas hasta las plantas superiores. Cada cloroplasto contiene varias regiones nucleotídicas, cada una con 8 a 10 moléculas de ADN (Brown, M. et al. 1979), sin embargo el tipo de información biológica que codifican es completamente diferente.

Por lo tanto, como regla general, un buen método de extracción debe mantener la integridad física y bioquímica del ADN e incrementar sus rasgos de pureza y concentración. (Sambrook, L. et al. 2001)

Cuando trabajamos en plantas, existen múltiples protocolos para extraer y purificar el ADN sin embargo, todos ellos incluyen cuatro pasos indispensables que son: Rompimiento celular, remoción de proteínas y ARN, concentración de ADN, determinación de la pureza y cantidad de ADN.

2.10.5. Marcadores moleculares: Microsatélites

Un marcador molecular es una señal o huellas genéticas detectables como una proteína o un segmento de ADN o ARN distinto, que permite estudiar un carácter o gen asociado a éste (Tanksley, S. 1993). Un marcador molecular es simplemente un segmento de ADN con una ubicación específica en un cromosoma (punto de referencia) cuya herencia puede seguirse en individuos de una población. (Levitus, G. et al. 2010)

Desde que Mendel realizó los primeros trabajos empíricos en genética, la búsqueda de ´´marcadores´´ ha permitido desarrollar el conocimiento acerca de las bases genéticas de la herencia, aplicados a la identificación de variedades, evaluaciones de germoplasma y protección. (Olsina, C. et al. 2012)

Entre estos están de tipo RAPDs (Random Amplification of Polymorphic) fueron desarrollados por (Williams, J. et al. 1990) y fueron los primeros marcadores basados en la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Los RAPDs son

secuencias de ADN del genoma amplificadas al azar utilizando cebadores cortos (Cushwa, W. et al. 1996). Este tipo de marcadores se ha usado con, aplicaciones en diversas especies y en la construcción de mapas de ligamiento en *Prunus.* (Chaparro, J. et al. 1994)

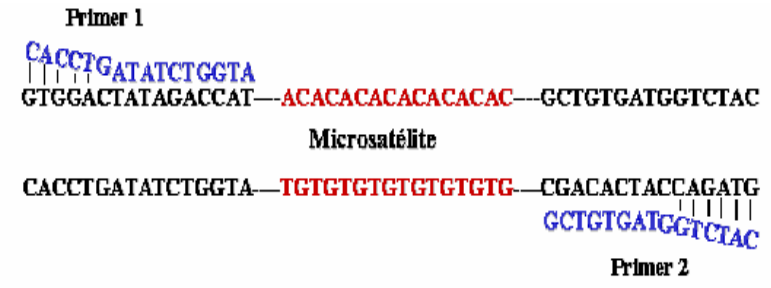
Los polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (FLPs), fue una de las primeras técnicas que se utilizaron para detectar variaciones a nivel de las secuencias de ADN, desarrollada en los años 70 (Botstein, D. 1980). Los FLPs han sido una herramienta muy útil en el mapeo genético de frutales como en manzano (Hemmant, M. et al. 1994), melocotonero (Rajapakse, S. et al. 1995), albaricoquero (De Vicente, M. et al. 1998), y albaricoque inconvenientes como su lentitud y complejidad.

Estos inconvenientes hacen que el uso de esta técnica haya disminuido en los últimos años y la llegada de la técnica de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa o Polymerase Chain Reaction) se han desarrollado nuevos marcadores moleculares que han sustituido casi totalmente el uso de RFLPs. Actualmente los marcadores tipo SSRs (Simple Sequence Repeat) llamados microsatélites, basados en la amplificación de secuencias conocidas de ADN mediante PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) son los más utilizados en la caracterización molecular del género *Prunus.* (Suzanne, L. et al. 2000)

Estos marcadores son polimórficos, abundantes y tienen una herencia codominante, desarrollados desde finales de los años 90 se han descrito un total de 800 marcadores de este tipo en diferentes especies como melocotonero, albaricoquero, cerezo y almendro. Han sido ampliamente utilizados en la caracterización de variedades en todas las especies de *Prunus* spp. y en la realización de estudios de relaciones genéticas. (Martínez, N. et al. 2013)

Las Secuencias simples repetidas SSR o microsatélites reflejan la existencia de variaciones en el número de veces que se encuentra repetido el motivo que origina el microsatélite (Reátegui, E. 2010). Los microsatélites o secuencias simples repetidas (SSR) son regiones de secuencias pequeñas (de dos a 10 pares de bases) repetidas. (Gráfico 2)

Gráfico 2. Microsatélites, ejemplo de un di, nucleótido A-C(n).



Son secuencias de ADN altamente variables dispersas a través de los genomas de hongos plantas y animales (Phillips, W. 1998). Estos marcadores son ideales para el estudio de ligamiento genético en plantas y el mapeo físico, los estudios poblacionales y la identificación de variedades, con la adición de una evaluación y secuenciación previa para determinar los iniciadores. La detección del polimorfismo SSR (Simple Secuence Repats) se realiza mediante electroforesis en geles de agarosa, poliacrilamida o geles de secuenciación. (Lowe, A. et al. 2000)

Estas características determinan las diferencias más importantes entre los microsatélites y otros marcadores como las isoenzimas, RFLPs, RAPDs y AFLPs (Aranguren, J. et al. 2001). Cada SSR (Simple Secuence Repats) examina una sola porción del genoma y por lo tanto se requiere de varios de ellos para hacer una estimación valida. Sin embargo una vez obtenidos, la metodología del análisis por SSRs (Simple Secuence Repats) es relativamente sencilla, además el análisis requiere solamente una cantidad escasa de ADN. (Reátegui, E. 2010)

2.10.6. Ventajas y limitaciones de los microsatélites

Los microsatélites se han convertido en marcadores preferidos de muchos investigadores por su alta variabilidad, por ser marcadores codominantes y la facilidad de conteo y registro. Su principal desventaja es la necesidad de aislarlos de nuevo en la mayoría de las especies que se analizan por primera vez. (Ñieto, J. 2010)

Se construyen iniciadores a partir de regiones genómicas que bordean varios microsatélites con la idea de detectar polimorfismo en los materiales de la

colección. Con la especificidad de los iniciadores desarrollados se puede distinguir entre los diversos materiales del germoplasma como por ejemplo híbridos, triploides y tetraploides de familias *Rosáceas.* Aún más, permiten demostrar la ocurrencia de recombinación durante la formación de gametos 2n a partir de plantas triploides y la heterocigosidad de cada accesión. (Crouch, K. et al. 2000)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Ubicación del experimento

Se desarrolló en las 10 provincias de la región interandina del Ecuador: Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Cañar, Azuay, Loja, Pichincha, Imbabura y Carchi.

3.1.2. Material experimental

3.1.3. Materiales

- ✓ Libro de colectas
- ✓ Libro de campo
- ✓ Tabla de colores
- ✓ Descriptores morfológicos
- ✓ Figuras con gráficos de descriptores
- ✓ Cinta métrica

3.1.4. Equipos

- ✓ Cámara fotográfica
- ✓ G.P.S
- ✓ Calibrador digital

3.1.5. Materiales para caracterización molecular

- ✓ Espátulas
- ✓ Pinzas
- ✓ Tijeras
- ✓ Guantes de vinil
- ✓ Papel filtro
- ✓ Tubos eppendorf (0.6, 1.5, 2.0)
- ✓ Pistilos de maceración

- ✓ Gradillas para tubos eppendorf
- ✓ Puntas 1 ml; 200ml, 1000ul
- ✓ Papel parafilm
- ✓ Papel absorbente
- ✓ Placas de vidrio LICOR
- ✓ Separadores, peines LICOR
- ✓ Placas de policarbonato para PCR de 219 muestras
- ✓ Matraces
- ✓ Vasos de precipitación
- ✓ Probeta de 100 ml, 250ml, 500ml y 1litro.

3.1.6. Equipos

- ✓ Baño maría
- ✓ Macerador electrónico
- ✓ Centrifuga
- ✓ Micro-centrifuga
- ✓ Vórtex
- ✓ Refrigerador -4
- ✓ Congelador -20
- ✓ Termocicladores
- ✓ Balanza analítica
- ✓ ADN Analyzer LI-COR 4300
- ✓ Cámaras de electroforesis horizontal
- ✓ Transiluminator UV. Sistema de fotodocumentación de geles
- ✓ Estufa

3.1.7. Materiales de laboratorio

- ✓ Micro pipetas (0,5-10; 2-20; 10-100; 50-200 y 100 – 1000 ml)
- ✓ Tubos eppendorf
- ✓ Placas pcr
- ✓ Erlenmeyer
- ✓ Gradillas

3.1.8. Reactivos de Caracterización molecular

- ✓ Etanol 75%
- ✓ Primers
- ✓ Buffer para PCR
- ✓ dNtp´ s
- ✓ Agua Ultrapura
- ✓ Agarosa.
- ✓ Tris Base
- ✓ Poliacrilamida
- ✓ Taq Polimerasa
- ✓ Cloruro de sodio
- ✓ Blue Juice 10X
- ✓ Low Mass Ladder
- ✓ TAE 10X
- ✓ TBE 1X

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Factor en estudio

Colecta y caracterización morfoagrónomica *in situ* y molecular de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.), para el Banco Nacional de Germoplasma del INIAP, Ecuador.

3.3. TRATAMIENTO

Se evaluó 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) georeferenciadas en toda la región interandina del Ecuador.

3.3.1. Unidad experimental

Cada unidad experimental estuvo constituida por una planta, que demostraba características fenotípicas diferentes en relación a otras accesiones. Se aplicó un método de muestreo aleatorizado por cada provincia. Estas accesiones no recibieron ningún manejo sanitario o nutricional.

3.4. TIPOS DE ANÁLISIS

3.4.1. Análisis Estadístico de la Caracterización Morfoagronómica

Uno de los aspectos esenciales en los trabajos de caracterización de especies es la descripción morfológica usando el programa SPSS Statistics 21 (2007), se obtuvieron resultados de las siguientes pruebas: estadística descriptiva, análisis multivariado, análisis de componentes principales y análisis discrimínate canónico.

Desde el punto de vista de sus árbitros morfoagronómicos en una serie de colecciones se determinó mediante el análisis descriptivo de los descriptores, se determinó la moda y la frecuencia para descriptores cualitativos. Los descriptores cuantitativos se analizaron usando la median aritmética y la desviación estándar y el análisis de correlaciones entre descriptores.

3.4.2. Matriz de similitud y distancia

La distancia Mahalanobis describe la relación entre descriptores cualitativos y cuantitativos de dos entradas en función de sus similitudes individuales basados en las metodologías del paquete estadístico SPSS (Estatistics. 21) (2007) y la distancia de Gower 1967 mediante el método euclídia al cuadrado permite formar la similitud taxonómica entre cada una de las accesiones y la formación del dendograma. Para la relación.

3.4.3. Determinación del Valor Discriminante entre Grupos

Mediante este análisis se reconocieron dentro del grupo de caracteres utilizados aquellos que tuvieron el mayor valor discriminante y por lo tanto permitieron una eficiente identificación de la relación entre los individuos de la población en estudio para un determinado carácter y para el grupo de caracteres.

3.4.4. Caracteres Cualitativos

El valor discriminante que permite separar por grupos se estimó mediante pruebas estadísticas como: el Valor de Cramer ¨V¨ (Kendall y Suart. 1979), coeficiente de correlación de Pearson ¨P¨ y chi al cuadrado ¨X^{2}¨. (Cochran, W. 1954)

3.4.5. Caracteres Cuantitativos

Para determinar el valor discriminante de los descriptores cuantitativos se realizó mediante la prueba rango múltiple de Duncan expresa una fracción del número total de posibles comparaciones dentro de un grupo. (Engeles, J. 1983)

3.4.6. Análisis de componentes principales (ACP)

Desde el punto de vista analítico la relación de los genotipos se efectuó mediante el método de taxonomía numérica: de análisis de componentes principales (ACP). Esta técnica se basa en la transformación de un conjunto de variables cuantitativas originales dentro de un conjunto de variables independientes no correlacionadas, llamadas componentes principales.

3.4.7. Análisis discriminante canónico

Es un método analítico que permite corroborar el análisis de componentes principales y separar características discriminantes. El objetivo de este análisis permitió cuantificar la validez de la relación entre las accesiones de un germoplasma (o variables) en grupos relativamente homogéneos con base a similitud existente entre ellas. Para probar la significancia de correlación canónica se usó la prueba de Lambda de Wilks.

3.5. Análisis Estadístico para la caracterización molecular

La diversidad dentro de la población se estimó con base al número de alelos o genotipos observados en la muestra (número de accesiones analizadas), reflejada la cantidad de variación genética en los organismos que se reproducen asexualmente o por autofecundación (Heterocigosidad Observada) y por lo tanto permite realizar comparaciones entre dicha población (Heterocigosidad Esperada).

3.5.1. Determinación del número de poblaciones

Descrito originalmente por (Pritchard, J. et al. 2010), es un método para identificar poblaciones diferentes considerando dos modelos: el primero es un "no admixture model" o modelo de individuos no mezclados, en el que se asume que los individuos son puros provenientes de alguna de las ´´k´´ poblaciones y el "admixture model" o modelo mezclado, en el que se supone que han existido cruzamientos de los ancestros; es decir una fracción ´´qk´´ del genoma de un individuo viene de la subpoblación K ($\Sigma k\ qk = 1$) en el que se asume que no hay ligamiento dando información propia de los ancestros.

En el programa Structure versión 2.3.4 (Pritchart, J. et al. 2010), se construyó un archivo de entrada el mismo que permitió importar los datos obtenidos en el programa SAGA, con todo los alelos reportados en cada locus y se crea un nuevo proyecto. Se usó el método de cadena de Montecarlo MCMC (Monte Carlo Markov Chain), con una serie de un modelo K poblaciones entre 1-10 y los parámetros predefinidas por el programa. También fue factible determinar el número de poblaciones (clústers) determinado y el set de frecuencias para cada locus.

3.5.2. Análisis de diversidad genética

La variación en la frecuencia alélica fue utilizado para el análisis de diversidad genética utilizando el set de frecuencias de alelos determinado por el paquete estadístico Structure. Y mediante el programa GenAlEx versión 6.5. (Peakall, J. et al. 2010), se determinó el promedio de la Heterocigosidad (observada y esperada) y el Contenido de Información Polimorfismo (PIC).

3.5.3. Análisis de agrupamiento

Mediante el programa Exeter NTSYSpc 2.11. (Rohlf, J. 2008), se realizó el análisis de conglomerados usando el método UPGMA (Unweighted Pair Group Arithmetic Mean Method). Para ello cada fragmento amplificado por los

microsatélites fue tratado como un carácter unitario se anotó de los códigos de la siguiente manera: 1 = presencia y 0 = ausencia.

Mediante el método de coeficiente de distancias genéticas de (Nei, M. 1979), se usó el método de re-muestreo (bootstrapping = 1000) del programa para inferir la estimación de la variabilidad genética. Mediante este análisis todos los árboles fueron visualizados y editados constituyéndose como una unidad taxonómica operacional (OTU).

3.5.4. Análisis de Coordenadas Principales (PCoA)

El análisis de coordenadas principales (PCoA), fue realizado mediante el programa GenAlEx versión 6.5 (Peakall, J. et al. 2010), con la matriz binaria previamente arreglada de acuerdo a las especificaciones del programa, se utilizó para explicar la mayor parte de la variabilidad total observada en un conjunto de descriptores con el menor número de componentes posibles. Transformando el conjunto de descriptores de acuerdo a su posible mutua asociación.

Los valores generados individualmente contribuyen en un 100% de la varianza total para cada coordenada.

3.5.5. Análisis molecular de varianza

La estructura genética (**AMOVA**), se realizó mediante el software GenAlEx versión 6.5. (Peakall, J. et al. 2010), con el fin de determinar el porcentaje de la varianza que aporta a la diferenciación entre poblaciones, que permitió conocer la estructura genética de poblaciones a partir de una matriz de datos binarios, varia en un rango de (-1 a 1) según el grado de diferenciación genética entre los grupos. (Excoffier, J. et al. 1992)

3.5.6. Distancias genéticas de Nei

La distancia genética de (Nei, M. 1987), puede adquirir valores entre cero e infinito donde cero indica que no hay diferencias algunas entre los grupos, es decir muy distantes genéticamente, fueron aislados hace mucho tiempo, que no comparten ancestros comunes. (Eguiarte, L. et al. 2007)

La distancia genética de Nei, fue calculada mediante el programa GenAlEx versión 6.5. (Peakall, J. et al. 2010), utilizando una matriz binaria.

3.6. MANEJO

3.6.1. PARTICIPANTES

Esta investigación fue promovida por el Instituto Nacional Autónomo de investigaciones Agropecuarias (INIAP), por medio del Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos (DENAREF) y el Departamento Nacional de Biotecnología (DNB), (Estación Experimental Santa Catalina ´´EESC´´), ´´Proyecto ´´ Generación de bioconocimiento para la conservación y uso sostenible de la agrodiversidad nativa en el Ecuador en apoyo a la seguridad y soberanía alimentaria. PIC-12 INIAP-13´´ con el auspicio de la Secretaria Nacional de Ciencia Educación Superior, Ciencia Tecnología e Innovación (SENESCYT). Esta investigación se realizó en 22 meses.

3.6.2. RECOLECCIÓN DE GERMOPLASMA

3.6.2.1. Fase de colecta

En esta fase de la investigación se realizó la colecta en las 10 provincias de la sierra Ecuatoriana (Anexo. 1), la mayoría de las zonas de ubicación no presentan pendientes superior al 5% son más o menos planas, con distintas condiciones edáficas y geográficas. Los puntos de colecta fueron ubicados en los predios de los agricultores y los datos pasaporte registrado en el formato para misiones de colecta propuesto y utilizado por el Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos incluyen información del colector, ubicación geográfica, latitud y longitud (Anexo. 2).

Con la información recolectada en los datos pasaporte el DENAREF asignó un código ´´ECU´´ a las 147 accesiones caracterizadas el mismo que sirve para su identificación e ingreso al banco de germoplasma.

3.6.2.2. Procesamiento de muestras colectadas

Frutos de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) fueron colectados en fundas de papel (60 a 100 semillas) por accesión con etiquetas e identificados de acuerdo al código de colecta. Estos frutos se trasladaron hasta el laboratorio de semillas del Banco de germoplasma del INIAP- Ecuador, donde se procedió a tomar descriptores de fruto: diámetro polar, diámetro ecuatorial, grosor de la epidermis, longitud, diámetro de la semilla, pH, acidez titulable, grados °Brix, porcentaje de materia seca deshidratado bajo estufa, peso de fruto y peso de la semilla. Luego de realizar secado de las semillas por 60 días bajo condiciones controladas, se empleó una balanza de precisión para registrar el peso y posterior almacenamiento en el banco base a -15 °C del DENAREF-INIAP.

3.7. CARACTERIZACIÓN *IN SITU*

3.7.1. Fase de Caracterización morfoagronómica *in situ*

Las accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) ubicados en las 10 provincias de la región interandina del Ecuador fueron caracterizadas con la ayuda de un GPS utilizado para la georeferenciación y una cámara fotográfica para la foto documentación. También se empleó materiales de oficina como el libro de colectas (código para cada accesión), libro de campo y los descriptores propuestos por (IBGRI) (2002) y la UPOV (2002), de los cuales 27 son cuantitativos y 8 cualitativos. Más 18 descriptores utilizados para hoja, flores se encuentra en el (anexo. 3).

3.7.2. Descriptores Cualitativos y Cuantitativos

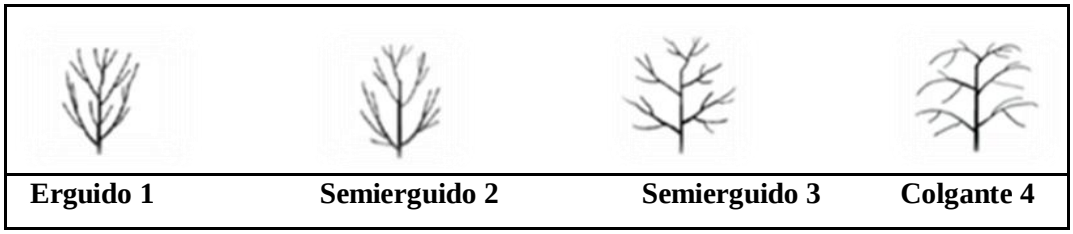
Se empleó los descriptores morfoagronómicos propuestos por Internacional Boar For Plant Genetic Resources. Rome, Italia (IBGRI. 2002) y la Unión Internacional para la protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV. 2002) además de incluir modificaciones basadas en la morfología propia de la especie. Se trabajó con un total de 35 descriptores.

3.8. MÉTODOS DE EVALUACIÓN Y DATOS TOMADOS

Para la caracterización morfoagonómica se registró los datos de 27 variables cuantitativas y 8 cualitativas que se detallan a continuación.

3.8.1. Hábito de crecimiento (HC)

Se evaluó por apreciación visual a cada uno de los árboles, considerando su hábito de crecimiento, de acuerdo al siguiente gráfico y escala:



Erguido 1	Semierguido 2	Semierguido 3	Colgante 4

Gráfico 3. Esquema del hábito de crecimiento en árboles de capulí. (UPOV. 2002)

3.8.2. Diámetro del tallo (DT) (m)

Esta variable se registró midiendo la circunferencia del fuste a la altura del pecho del evaluador ($\pm$ 1.30 metros) y posteriormente se dividió el dato exacto de la circunferencia del fuste entre (π = 3,1417).

3.8.3. Altura total (AT) (m)

Este descriptor se estimó en base al ángulo entre la base y la punta del árbol y se determinó su altura en metros. El dato del clinómetro se transformó mediante teorema de Pitágoras.

3.8.4. Altura de inserción de ramas secundarias (AIRS)

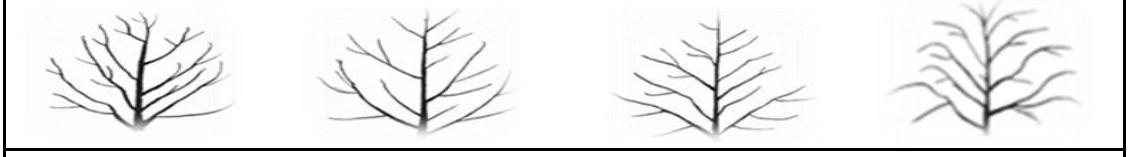
Es el valor medido desde el nivel del suelo hasta la altura de inserción de ramas secundarias. Este dato se registró en metros empleando un flexométro.

3.8.5. Número de ramas secundarias (NRS)

Se registró las ramas ubicadas a continuación del tallo principal contando el número exacto de ramas secundarias por árbol.

3.8.6. Forma de las ramas (FR)

Se evaluó por apreciación visual directa la forma de las ramas de acuerdo al siguiente gráfico y escala:



Recto 1	Semierguido 2	Extendido 3	Colgante 4

Gráfico 3.1. Esquema de forma de las ramas en árboles de capulí. (UPOV. 2002)

3.8.7. Forma de la copa (FC)

Se evaluó por apreciación visual directa la forma de la copa de acuerdo al siguiente gráfico y escala:



Agudo 1	Obtusa 2	Redondo 3

Gráfico 3.2. Esquema de formas de la copa de árboles de capulí. (UPOV. 2002)

3.8.8. Base de la hoja (BH)

Se registró por apreciación directa visual la base de la quinta hoja, contando desde el ápice de una "rama terciaria" un total de 10 hojas de acuerdo al siguiente gráfico y escala:



Agudo 1	Obtusa 2	Redondo 3

Gráfico 3.3. Esquema de las bases de las hojas de capulí. (UPOV. 2002)

3.8.9. Longitud del pecíolo de la hoja (LPH) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró la longitud en milímetros del pecíolo de la quinta hoja contando desde el ápice terminal de la rama terciaria seleccionada. Se promedió el valor de 10 hojas completamente abiertas en "ramas terciarias" diferentes.

3.8.10. Diámetro del pecíolo de la hoja (DPH) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró el diámetro milímetros del pecíolo de la quinta hoja contando desde el ápice terminal de la rama terciaria seleccionada. Se promedió el valor de 10 hojas completamente abiertas en "ramas terciarias" diferentes.

3.8.11. Color de las hojas (CH)

Se determinó según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS. 2007) (Anexo. 4) en el momento de la caracterización *in situ* y se codificó según los colores que presentaron.

Verde oscuro: 1

Verde claro: 2

Se tomó el valor de la quinta hoja contando desde el ápice terminal de la rama terciaria seleccionada un total de 10 ramas diferentes.

3.8.12. Longitud de la hoja (LH) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró la longitud en milímetros de la quinta hoja contando desde el ápice terminal de la rama terciaria seleccionada medida desde el punto de inserción del pecíolo de la hoja en el tallo hasta su ápice. Se promedió el valor de 10 hojas completamente abiertas en "ramas terciarias" diferentes.

3.8.13. Ancho de la hoja (AH) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró el punto más ancho en milímetros de la quinta hoja contando desde el ápice terminal de la rama terciaria seleccionada. Se promedió el valor de 10 hojas completamente abiertas en "ramas terciarias" diferentes.

3.8.14. Longitud de inflorescencia (excluida el pedúnculo) (LIEP) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró la longitud de inflorescencia medida desde la base, excluida el pedúnculo, hasta el ápice terminal en la etapa de la floración y se promedió 10 inflorescencias de "ramas terciarias" diferentes.

3.8.15. Número de inflorescencia por rama terciaria (NIPRT)

Se promedió el número de inflorescencias en 10 "ramas terciarias" diferentes, tomadas al azar, una vez que el árbol presentó más del 50% de floración.

3.8.16. Color del pedúnculo floral (CPF)

Se determinó según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS, 2007) (Anexo. 4) en el momento de la caracterización *in situ* y se codificó según los colores que presentaron.

Verde claro: 1

Verde amarillento: 2

3.8.17. Longitud de pedúnculo floral (LPF) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. La longitud de pedúnculo floral se registró en milímetros, medido desde el punto de inserción del cojinete floral hasta la inserción con el cáliz. Se promedió la longitud en cinco pedúnculos tomados al azar de distintas "ramas terciarias".

3.8.18. Diámetro de la flor (DF) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró el diámetro de la flor medida en milímetros en la parte más ancha de esta y se promedió el diámetro de cinco flores tomadas al azar de distintas "ramas terciarias".

3.8.19. Longitud de sépalo (LS) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró la longitud de sépalo medidas en milímetros desde la base del sépalo hasta el ápice y se promedió el valor de cinco flores tomadas al azar de distintas "rama terciarias".

3.8.20. Ancho de sépalo, (ubicado en la parte más ancha) (ASUPMA) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró en milímetros el ancho de sépalo tomando la parte más ancha de este. Se promedió el ancho en cinco flores tomadas al azar de distintas "ramas terciarias".

3.8.21. Longitud de la flor (LF) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se registró la longitud en milímetros de la tercera flor, contando desde el ápice, medida desde el punto de inserción de los sépalos con el pedúnculo hasta el ápice. Se promedió la longitud en cinco flores tomadas al azar de distintas "ramas terciarias".

3.8.22. Forma del fruto (FF)

Para este descriptor se registraron los datos mediante apreciación visual directa en la fase de madurez óptima y se determinó la forma en 10 frutos tomados al azar de acuerdo al gráfico y escala:



Oblongo 1	Elíptico 2	Esférico globoso 3	Rondo 4

Gráfico 3.4. Esquema de formas de los frutos de capulí. (UPOV. 2002)

3.8.23. Diámetro polar del fruto (DPF) (mm)

En el momento de la cosecha se determinó empleando un calibrador. Se registró el diámetro polar en milímetros de 10 frutos tomados al azar y se promedió su valor.

3.8.24. Diámetro ecuatorial del fruto (DEF) (mm)

En el momento de la cosecha se determinó empleando un calibrador. Se registró el diámetro ecuatorial en milímetros de los mismos frutos del descriptor 23.

3.8.25. Peso de la epidermis del fruto (PEF) (g)

Se registró en gramos empleando una balanza de precisión. Se promedió el peso de la epidermis de 10 frutos blandos (maduros) tomadas al azar.

3.8.26. Grosor de la epidermis (GE)

Se registró en milímetros empleando un calibrador. Se promedió el grosor de la epidermis de 10 frutos blandos (maduros) tomados al azar. (Fresnedo, J. et al. 2011)

3.8.27. Forma general de la semilla (FGS)

Se determinó la forma general de semillas tomadas al azar de cada accesión de acuerdo al siguiente gráfico y escala:



Elíptico estrecho 1	Elíptico 2	Esférico redondeadas 3

Gráfico 3.5. Esquema de forma general de la semilla. (UPOV. 2002)

3.8.28. Longitud de la semilla (LS) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se promedió la longitud en milímetros de 10 semillas tomadas al azar. (Fresnedo, J. et al. 2011)

3.8.29. Diámetro de la semilla (DS) (mm)

Se determinó empleando un calibrador. Se promedió el diámetro en milímetros de 10 semillas tomados al azar. (Fresnedo, J. et al. 2011)

3.8.30. pH

Se determinó mediante el uso de un potenciómetro extrayendo con un lienzo fino el jugo de 50 gramos de capulí (madurez óptima) y se determinó el valor obtenido con dos repeticiones de la misma accesión. (Brito, B. et al. 2013)

3.8.31. Acidez titulable (AT)

Se determinó tomando un gramo de jugo de capulí extraído con lienzo fino, el cual se homogenizó y se tituló con una solución alcalina estandarizada hasta el viraje de color, determinado por el pH 8,2 del indicador fenolftaleína (NaOH 0.1 N) (Brito, B. et al. 20013). Se realizó dos repeticiones de la misma accesión empleando la siguiente fórmula:

Acidez (%) = B x N x E x 100/ W; donde:

B= mL de NaOH

N = Normalidad de NaOH

E = Representativo de la fruta

P = Peso muestra en ml

3.8.32. °Brix (°B).

Se determinó la concentración solidos solubles por refractómetria (Brito, B. et al. 2013), exprimiendo el zumo sobre el lente del brixométro y se determinó en 10 frutos tomados al azar.

3.8.33. Porcentaje de materia seca en el fruto (PMSF)

Se evaluó pesando 30 gramos de fruta fresca sin semilla, sometido al secando durante 72 horas en la estufa a 75°C. Se expresó mediante la siguiente fórmula: M.S. (%) = (Wseco/ Winicial) x 100;

Dónde.

MS = Materia seca en %

W seco= Peso Seco

W inicial = Peso inicial o fresco.

3.8.34. Peso del fruto (PF)

Se determinó empleando una balanza de precisión. Se promedió el peso en gramos de 10 frutos (con semilla y pulpa) tomados al azar de cada accesión.

3.8.35. Peso de la semilla (PS) (g)

Se determinó empleando una balanza de precisión. Se promedió el pesó en gramos de 10 semillas tomadas al azar de cada accesión.

3.9. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

3.9.1 Ubicación Geográfica

Ubicación geográfica del labotarorio (Cuadro 3).

Cuadro 3. Ubicación geografica.

Provincia	Pichincha
Catón	Mejía
Parroquia	Cutulagua
m.s.n.m.	3050 msnm
Longitud	78°33´15´´Oeste
Latitud	0°22´00´´Sur

(INAMHI, 2012).

La caracterización molecular se realizó en el laboratorio de biología Molecular del Departamento Nacional de Biotecnología en la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones agropecuarias (INIAP).

3.9.2. Fase de laboratorio

3.9.3. Procedimiento

3.9.3.1. Colecta del Material Vegetal

Se colectaron primordios foliares de capulí conservadas en fundas de papel perforadas, que contenían silica gel, durante 72 horas Y su posterior desecamiento maceración y extracción.

3.9.3.2. Extracción de ADN genómico

La extracción de ADN se realizó mediante el protocolo de (Ferreira, M. et al. 1998), las modificaciones realizadas por Morillo y Miño (2010). Una vez macerado el tejido vegetal en cada tubo eppendorf de 2 ml se añade 700 ul de buffer de extracción CTAB 2X y 2 ul β mercaeptanol, se mezcló bien e incubó a baño maría a 65°C durante 60 minutos, agitando suavemente las muestras cada 15 minutos.

Una vez realizado el proceso de incubación, se centrifugó durante 15 minutos a 13200 rpm. Posteriormente se llevó el sobrenadante a un tubo nuevo y se añadió 700 ul de CIA (Cloroformo Alcohol isoamílico; 24:1) (24:1), esta mezcla se agitó fuertemente y se llevó al vórtex por unos segundos hasta que las dos fases fueron homogéneas para luego centrifugar a 13200 rpm por 5 minutos, teniendo que realizar dos veces el proceso anterior tomando precaución al capturar el sobrenadante que no se contamine con la interface.

Luego de esta centrifugación se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo con 700 µl de etanol al 100% mezclando suavemente y se colocó a – 20°C durante toda la noche. Al siguiente día se agitó y centrifugó por 5 minutos a 13200 rpm para recuperar la pastilla del ADN. Se lavó 2 veces la pastilla de ADN con 200 ul

de etanol al 75%. Luego de eliminar el etanol se secó en una microestufa a 37°C por 1 hora y se suspendió, la pastilla en un volumen mínimo de TE 100 ul e incubarlo por 1 hora.

Todos los tubos con el pellet se dejaron secar en el microestufa durante 1 hora. Una vez seco el tubo se resuspendió el pellet en 100 ml de TE 0,1 X (Tris-HCl 1 mM, EDTA (ácido etilendiaminotetra acético) 0,1 mM, pH 8) y se disolvió en el baño maría a 65º C durante 20 minutos, para posteriormente incubarlo a 4º C durante 5 minutos. Se conservó el ADN a -20°C.

3.9.3.3. La cuantificación de ADN genómico

La calidad de ADN extraído fue evaluada por espectrofotometría utilizando el equipo Epoch, visualizada mediante el monitor COMPAC y comparada mediante la concentración de absorbancia entre 260 a 280 nm y el peso obtenida con un patrón de bandas.

Una vez obtenida la calidad y concentración de ADN se realizó la disolución de las muestras de ADN en agua ultrapura y tartrazine hasta lograr una concentración final de 5ng/ul para las pruebas de amplificación.

3.9.3.4. Amplificación de Microsatélites

Para la validación de todas las muestras por medio de PCR se inició con el primer Ps12A02. La reacción de la amplificación se realizó en un volumen final de 7 ul el coctel de reacción (Cuadro. 4).

La reacción se amplificó mediante termocliclador Biometra TProfessional Basic. Iniciando con un ciclo inicial de desnaturalización 94°C por 5 minutos, 30 ciclos de 94°C por 45 segundos, la temperatura de annealing, este ciclo duró 1 minuto, la extensión está dada a 72°C por 90 segundos y finalmente una extensión final de 72°C por 7 minutos. Para lograr estabilizar las muestras es necesario realizar un paso adicional donde disminuye la temperatura a 10°C por 5 minutos.

Cuadro 4. Mix de reacción para la amplificación de PCR mediante microsatélite empleados para capulí **(*Prunus serotina* Ehrh).**

Reactivo	**Volumen 1 rx (uL)**	**Concentración final**
Agua Up	2.18	
Green Go Taq Flexi Buffer (5x)	1.5	1 X
MgC12 (mM)	0.6	2 mM
dNTP's (mM)	0.38	0.253 Mm
Primer forward (µM)	0.38	0.5 Mm
Primer Reverse (µM)	0.38	0.5 Mm
Taq Polymerase (5U/µl)	0.1	0.067 U/µl
DNA (5 ng/µL)	2	1.33 ng
Volumen Final	7.5	

Tomado y adaptado: Morillo, E. et al. 2011

Los productos de amplificación se analizaron por medio de la electroforesis en geles de agarosa al 2% en buffer de corrida TAE 1X. Utilizando 2 ul de peso molecular 100 pb DNA (Labnet International, Inc. Cat. No. R1000-100pb) depositado en el primer pocillo de cada carril. La visualización del ADN y su cuantificación se realizó por florescencia con bromuro de etídio utilizando un fotodocumentador digital (Dolphin- View, Modelo Wealtec V. 2.0).

Cuadro 4.1. Programa de amplificación utilizado el en termorciclador PT-700. (Morrillo, E. et al. 2010)

	Temperatura °C	**Tiempo**	
Ciclo inicial de denaturación	94	5 min	
Denaturación cíclica	94	45 seg	30 ciclos
Anillamiento	TA (De acuerdo al primero)	1 min	
Elongación cíclica	72	2 min	
Ciclo final de elongación	72	7 min	
Estabilización	10	5 min	

3.9.3.5. Selección de los *primers* Microsatélites

Se utilizaron 5 de pares primers microsatélites derivados de durazno, cerezos agria y dulce primers publicados por (Suzanne, L. et al. 2000) (Anexo.5). Se utilizó las combinaciones, de annealing y marcaje IRDye previamente establecidos por Morillo, E. et al. 2011, permitiendo trabajar mediante el monoplexaje de los microsatélites M13-Tailing (Tabla. 4.2).

Cuadro 4.2. Monoplex de *primers* SSRs estandarizados para el LI-COR 4300S.

Primer ID	Marcaje IRDye	Tamaño (bpd)	Temperatura final (°C)
AB	800	249	48.5
PceGA34	800	155	60
PS12A02	700	200	61
pchgms3	700	179	52
pcgms2	700	163	60

Suzanne, L. et al. 2000

Una vez realizada las pruebas se escogieron los marcajes para cada par de primers con un tamaño de los productos de amplificación específicos (Anexo. 5) y las temperaturas de annealing establecidas que permitió la obtención de un patrón de bandeó claro.

3.9.3.6. Amplificación de microsatélites mediante el método de M13- SSR´s tailing para LI-COR 4300S

La amplificación de las muestras de capulí con los marcadores microsatélites durante la reacción de la PCR, utilizando el método de M13- tailing (Tabla 4.3), consiste en añadir una secuencia de nucleótidos "forward" (5´- GCT GAA GCC ACG GTC - 3´) fluorescente infrarroja IDRye ^{TM}, el mismo que se combina con un reactivo especial de fluorescencia M13, a 700 ó 800 nm generándose imágenes de corrida en tiempo real detectados simultáneamente. De esta manera los productos de amplificación quedan marcados al ser separados por electroferesis y son visualizados en el equipo LI-COR 4300s (Li-COR, Lincoln, NE, USA, Biosciences.

Cuadro 4.3. Cóctel de reacción para microsatélites en monoplexaje M-13 "Tailing".

Reactivo	**Cantidad 1rx (µl)**	**Concentración Final**
Agua UP	0.32	
Buffer PCR (X)	1	1 X
MgCl2 (mM)	0.5	2.5 Mm
dNTP`s (mM)	0.2	0.2 mM
M13 700/800	0.8	0.16 µM
Primer (µM) F-M13	0.05	0.01 mM
Primer (µM) R	0.08	0.16 mM
Taq casera (U/µl)	0.05	0.05
Muestra (ng/µl)	2	10 ng
Volumen total (ul)	5	

Tomado y adaptado: Morillo, E. et al. 2011

La reacción fue cubierta con 9 ul de aceite mineral para evitar la evaporación de la muestra amplificada en un termo ciclador Biometra Profesional Basic, empleando el siguiente programa de amplificación (Cuadro. 4.4), con las condiciones PCR específicas durante la amplificación de las muestras de capulí adaptadas para P. *serotina* Ehrh, en el Departamento Nacional Biotecnología INIAP-Ecuador. 2013.

Cuadro 4.4. Programa de amplificación M13-SSR´s utilizado el en termorciclador PT-700. (Morrillo, E. et al. 2010).

	Temperatura °C	**Tiempo**	
Ciclo inicial de desnaturación	94	2 min	
Desnaturación cíclica	95	4 min	
Desnaturación cíclica	95	1 min	30 ciclos
Anillamiento	TA (De acuerdo al primero)	2 min	
Elongación cíclica	72	2 min	
Ciclo final de elongación	72	10 min	
Estabilización	4	10 min	

3.9.3.7. Visualización de los productos con metodología SSR-M13 en el Secuenciador LI-COR 4300s

Los productos de amplificación obtenidos con la metodología SSR-M13 presentaron bandas en el ordenador. Junto a una imagen en tiempo real visualizados en el secuenciador LI-COR 4300s (LI-COR, Lincoln, NE, USA, Bioscences).

La preparación del gel de poliacrilamida al 6.5% consiste en mezclar 20 ml de Gel Matrix KB Plus 6.5% (Cat. No 827-05607, LI-COR), 150 ul persulfato de amonio (APS) 10% y 15 ul de TEMED, esta mezcla se deposita entre dos placas de vidrio, previamente lavadas con agua-detergente y tratadas con isopronol. Seguidamente, se coloca el peine para formar la línea base y se deja polimerizar por 1 hora. Se retira el peine después de la polimerización del gel, se limpia con agua los excesos de poliacrilamida y se coloca nuevamente el peine para formar el lado lineal del peine. Una vez que se haya limpiado la parte superficial de las placas estas se ensamblan en el equipo LI-COR 4300. Para la corrida electriforética se utiliza 1 litro del buffer TBE 1x KB Plus LI-COR.

Previo al inicio de la corrida, es necesario realizar una pre-corrida de 25 minutos de las placas, con el objetivo que el láser se enfoque y reconozca el gel. Después de realizar la pre-corrida se limpian los canales del peine, asegurándose que no haya residuos de acrilamida, para posteriormente cargar las muestras.

Para cargar las muestras, estas deben ser preparadas por lo cual se colocó en el producto de amplificación 15 ul de blu stop (49ml Formamida 98%, 1 ml EDTA 0.5 M, 0.15 g Bromofenol 0.3%), seguido de la centrifugación de las placas a 3000 rpm por 1 minuto. Posteriormente se denatura los productos amplificados a 95°C por 5 minutos y se coloca inmediatamente la placa en hielo para impedir que las hebras de ADN se unan nuevamente.

En el momento de la carga de las muestras en el gel de poliacrilamida fue de 1 ul utilizando la micropipeta Hamilton de ocho canales, por lo que se necesitó ordenar las muestras en la placa PCR, para que concuerden los pozos con las muestras. En

el gel primero debe cargarse las muestras que contengan el M13 en 800 nm y después de unos cinco minutos de corrida en el gel, se procede a cargar las muestras en 700 nm. Con un marcador de talla se utilizó el IRDye 700 y el IRDye 800 nm que va desde 50 a 350 pb.

Para la corrida electroforética, determinada por LI-COR, se utilizó un voltaje de 1500 V con una temperatura de 45°C, el tiempo por corrida fue de 1 hora con 35 minutos. Finalizada la corrida el software automáticamente guarda la imagen en forma tiff tanto en 800 nm como en 700 nm.

3.9.3.8. Genotipaje de muestras de capulí (*Prunus serotina* Ehrh.) mediante uso de microsatélites con el software SAGA- GT Microsatélites

Para poder realizar el genotipaje de las muestras con el equipo LI-COR 4300S, se creó un proyecto denominado capulí en el sistema SAGA-GT Microsatelites, donde se ingresó los parámetros de: tallas de marcador de peso molecular, nombre, rango esperado, marcaje y combinación de los microsatélites. Una vez ingresado la información de los locus, se crea un gel donde se asigna la ubicación de las muestras.

Para determinar el rango alélico de las muestras amplificadas con cada marcador, se seleccionaron de acuerdo al motifs de cada uno de los primers. Estos rangos obtenidos son los que se incorporan al programa SAGA para la posterior lectura de los mismos. El sofwar SAGA se caracteriza por proveer una identificación rápida y precisa del tamaño y número de alelos. Los datos del genotipaje son importados a Excel, donde consta una tabla de tamaños (bp) de los alelos reportados por cada loci microstatélite. Cuando no existió la amplificación se etiqueto (-1), considerados como datos perdidos.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis Estadístico de la Caracterización Morfoagronómica

Cuadro 5. Parámetros estadísticos para los 27 descriptores cuantitativos en la estimación de la variabilidad genética de 147 accesiones en la colección nacional de capulí (***Prunus serotina*** Erh.).

Descriptor	Unidades	N	Rango	Media	Desviación Estándar	CV %
Diámetro de tallo	m	147	0.87	0.39	0.19	48.72
Altura del tallo principal	m	147	11.31	22.05	3.106	14.09
Altura de inserción de ramas secundarias	m	147	3.81	1.48	0.624	42.16
Número de ramas secundarias		147	18.00	10.31	3.59	17.53
Longitud del Peciolo de la Hoja	mm	147	13.36	16.66	2.92	17.53
Diámetro del peciolo de la Hoja	mm	147	1.54	1.06	0.24	22.64
Longitud de la hoja	mm	147	106.27	102.12	18.19	17.81
Ancho de la Hoja	mm	147	60.68	34.78	6.12	17.60
Longitud de la Inflorescencia excluido el pedúnculo	mm	147	91.94	88.57	20.58	23.24
Número de inflorescencia por rama terciaria		147	46.00	10.9	5.9	54.13
Longitud del pedúnculo Floral	mm	147	6.19	4.34	1.15	26.50
Diámetro de la flor	mm	147	9.34	8.91	1.8	20.20
Longitud de sépalo	mm	147	4.10	4.08	0.73	17.89
Ancho de sépalo, (ubicado en la parte más ancha)	mm	147	4.55	4.01	0.81	20.20
Longitud de la flor	mm	147	5.81	6.63	1.07	16.14
Diámetro polar del fruto	mm	147	10.54	12.57	1.73	13.76
Diámetro ecuatorial del fruto	mm	147	10.49	12.58	1.77	14.07
Peso de la epidermis	g	147	0.75	0.35	0.12	34.29
Grosor de la epidermis	mm	147	0.82	0.12	0.13	108.33
Longitud de la semilla	mm	147	8.46	9.11	1.02	11.20
Diámetro de la semilla	mm	147	4.87	7.98	0.87	10.90

Continuación parámetros estadísticos

pH		147	1.39	4.68	0.28	5.98
Acidez titulable	meq/100	147	0.83	0.66	0.21	31.82
°Brix	%	147	13.00	21.15	2.7	12.77
Porcentaje de materia seca en el fruto	%	147	12.56	17.32	2.83	16.34
Peso del fruto	g	147	3.98	1.73	0.69	39.88
Peso de 10 semillas	g	147	0.87	24.69	0.13	0.53

m: metros

mm:milímetros

g: gramos

meq/100: miliequivalente/ 100 gramos de fruta fresca

°Brix: contenido solidos solubles en la fruta

De acuerdo al análisis (cuadro. 5), los descriptores con mayor coeficiente de variación fueron los siguientes: grosor de la epidermis 108.33%, número de inflorescencia por rama terciaria 54.13% diámetro del tallo 48.72%, altura de inserción de ramas secundarias 42.16% y peso del fruto 39.88%.

Así también se obtuvieron valores más bajos del coeficiente de variación para el descriptor peso de 10 semillas 0.53% y el pH 5.98%.

Realizando un comparación con los resultados obtenidos por (Cuzco, H. 2008) en el duraznero (***Prunus persica***), especie de la familia rosáceae, las variables altura de tallo principal, contenido azúcares totales (°Brix) en el fruto y la acidez total (g/l), presentaron valores de coeficientes de variación similares a los rangos obtenidos por. (Cordeiro, L. 2008)

Se puede escribir que (Cordeiro, L. 2008), menciona que no existe variabilidad en los descriptores de fruto en cerezo (***Prunus avium*** L.), mientras que en el presente estudió, el descriptor peso de fruto fue uno de los que presento mayor variabilidad, explicada posiblemente por la diversidad de condiciones climáticas existentes en las que se encuentran los árboles de capulí.

En general estos resultados obtenidos de los 8 descriptores cualitativos se calculó, la moda, la mediana, el rango de variación, la media aritmética y la desviación estándar. (Cuadro 5.1)

Cuadro 5.1. Parámetros estadísticos descriptivos cualitativos en la estimación de la variabilidad genética de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Erh.).

Descriptor	N	Moda	Mediana	Rango	Media	Desv. Estándar
Forma de la copa	147	1	2	3	2	1.1
Forma de las ramas	147	2	2	2	2	0.7
Hábito de crecimiento	147	1	3	3	2	1.2
Base de la hoja	147	1	1	1	1	0.5
Color de las hojas	147	2	2	1	2	0.3
Color del pedúnculo floral	147	1	1	1	1	0.4
Forma del fruto	147	2	2	1	2	0.4
Forma general de la semilla	147	2	2	2	2	0.4

N: número de accesiones

El capulí es un árbol muy popular y se encuentra especialmente alrededor de las comunidades indígenas en el Ecuador (Moraes, M. et al. 2006), con efecto restaurador/ servicio al ambiente. A continuación se mencionan algunas descriptores de interés agrícola y maderero: el hábito de crecimiento, forma de la copa, forma de las ramas, color de la hoja siendo una especie ornamental, más común de los predios agrícolas (cerca viva en los agro hábitats) y en las áreas de recreación (desarrollándose bien en ambientes contaminados). (Sanjinés, A. et al. 2008)

Los frutos y la semilla empiezan a producir a los 5 años de edad desde el inicio de la plantación (Pretell, C. et al. 1985), la máxima producción de semillas se da después de 30 años, produciendo buena cosecha en intervalo de uno a cinco años. Se han hecho esquejes de madera suaves de plantas juveniles. El (cuadro 5.2) menciona un resumen de las frecuencias y porcentajes de los descriptores mencionados.

Cuadro 5.2. Frecuencias y porcentajes de los descriptores cualitativos de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Erh.).

Descriptor	Estado del descriptor	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Hábito de crecimiento	Erguido	68	46.3	46.3
	Semierguido	32	21.7	68.0
	Extendido	21	14.2	82.3
	Colgante	26	17.6	100.0
Forma de las ramas	Recto	46	31.1	31.3
	Semierecto	27	18.2	49.7
	Extendido	32	21.6	71.4
	Colgante	42	28.4	100.0
Forma de la copa	Agudo	18	12.2	12.2
	Obtuso	77	52.0	64.6
	Redondo	52	35.1	100.0
Base de la hoja	Agudo	94	63.5	63.9
	Obtuso	53	35.8	100.0
Color de las hojas	Verde oscuro	12	8.1	8.2
	Verde amarronado	135	91.2	100.0
Color del pedúnculo floral	Verde Claro	124	83.8	84.4
	Verde amarillento	23	15.5	100.0
Forma del fruto	Elíptico	125	84.5	85.0
	Esférico Globos	22	14.9	100.0
Forma general de la semilla	Elíptica estrecho	3	2.0	2.0
	Elíptico	123	83.1	85.7
	Esférico redondeadas	21	14.2	100.0

*P= probabilidad

(Cuadro 5.2), en lo que respecta al hábito de crecimiento de las accesiones son de crecimiento erguido 46.3%, generalmente con ramas de forma colgantes 28.4% con una forma de la copa obtuso 52.0%. El color predominante de las hojas de las 147 accesiones es verde claro 91.2%, con una base aguda del 63.5%. Estas accesiones tienen frutos de forma elíptica 84.5%.

En la descripción realizada por (Flores, J. 2008), los árboles de capulí tienen copa ancha de forma ovoide, hojas estipuladas simples de color verde oscuro. Con frutos de drupa globosa de color negro rojizo y sus usos son para consumo directo o en la industria para la obtención de: mermeladas, bebidas refrescantes y embriagantes. Y sirve para la obtención y elaboración de colorantes con una tonalidad de color morado violeta a rojo oscura (Vásquez, A. 2012) y estas semillas contienen ácido palmítico el 30 a 40% apropiado para la fabricación de jabones y pintura. (Calero, L. 2011)

4.2. Asociación entre características

Se efectuó el análisis correlación de los descriptores cualitativos utilizando el coeficiente de correlación de Person (Anexo. 6). Se observó que el descriptor forma de las ramas con relación al forma de la copa (*P = 0.407) de igual forma existe correlación significativa entre forma del fruto con forma general de la semilla (P = 0.213)

Para los descriptores cuantitativos (Anexo. 6A), presentan una correlación lineal significativas entre: longitud de la hoja con relación al longitud del pecíolo de la hoja (P = 0.323), ancho de la hoja correlacionado al longitud de la hoja (P = 0.276) y el longitud de la semilla correlacionado con él y diámetro ecuatorial del fruto (P= 0.2387).

En resultados hallados en estudios por (Hochmaier, V. 2010), en manzano (***Malus domestica***) la variable intercepción de la radiación fotosintéticamente activa por árbol (I-PAR) a cosecha correlacionó significativamente en función de la radiación interceptada (P=0.51). La correlación entre el descriptor longitud de la semilla y el diámetro ecuatorial de la semilla es debido a la influencia de la

radiación. Los niveles de luz solar menores al 50% de radiación incidente disminuye la coloración en manzanas rojas, debido a una menor concentración de antocianinas. (Awad, M. et al. 2001). En el manzano, la producción total de materia seca se correlacionó fuertemente con la radiación interceptada por el follaje durante la temporada de crecimiento. (Monteith, L. 1977.)

Ya que es común en otras especies frutales comestibles, debido a la importancia del crecimiento vegetativo y en la acumulación de azucares en los frutos. (Fresnedo, J. et al. 2010)

El análisis multivariado de conglomerdos jerárquicos se identificaron 3 grupos en base ya obtenidos anteriormente por (Fresnedo, J. et al. 2010) y (Chucuri, J. et al. 2013), donde el número de grupos se define realizando una gráfica que relaciona el número de conglomerados vs los coeficientes calculados por la distancia euclídea al cuadrado, el número de grupos esta determinado por el punto donde cambia la pendiente de la curva (Gráfico. 4). Estos tres grupos conformados y representados mediante un dendograma (Gráfico 4.1), mantienen caracteres morfológicos similares en: tamaño, color de frutos o su vez este dendograma muestra la relación o parentesco genético entre los grupos y la variabilidad existente en cada uno de los agrupamientos.

Grupo 1, conformada por 38 accesiones Grupo 2 con 6 accesiones, y Grupo 3 con 103 accesiones (Anexo .7A; 7B; 7C).

Gráfico. 4. Identificación de número de conglomerados jerárquicos, para 147 accesiones de capulí.

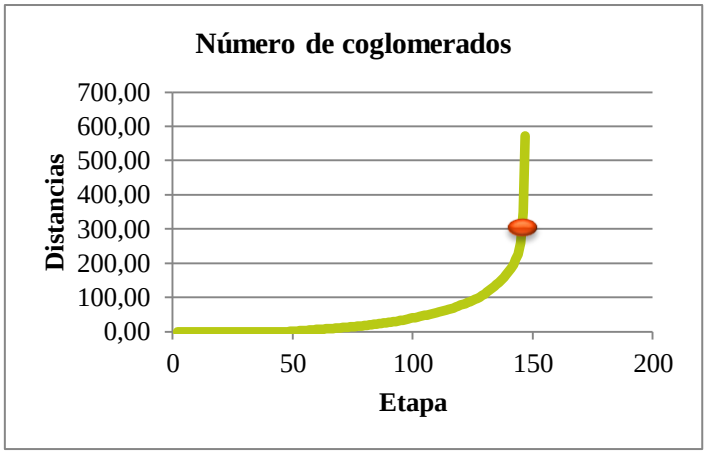
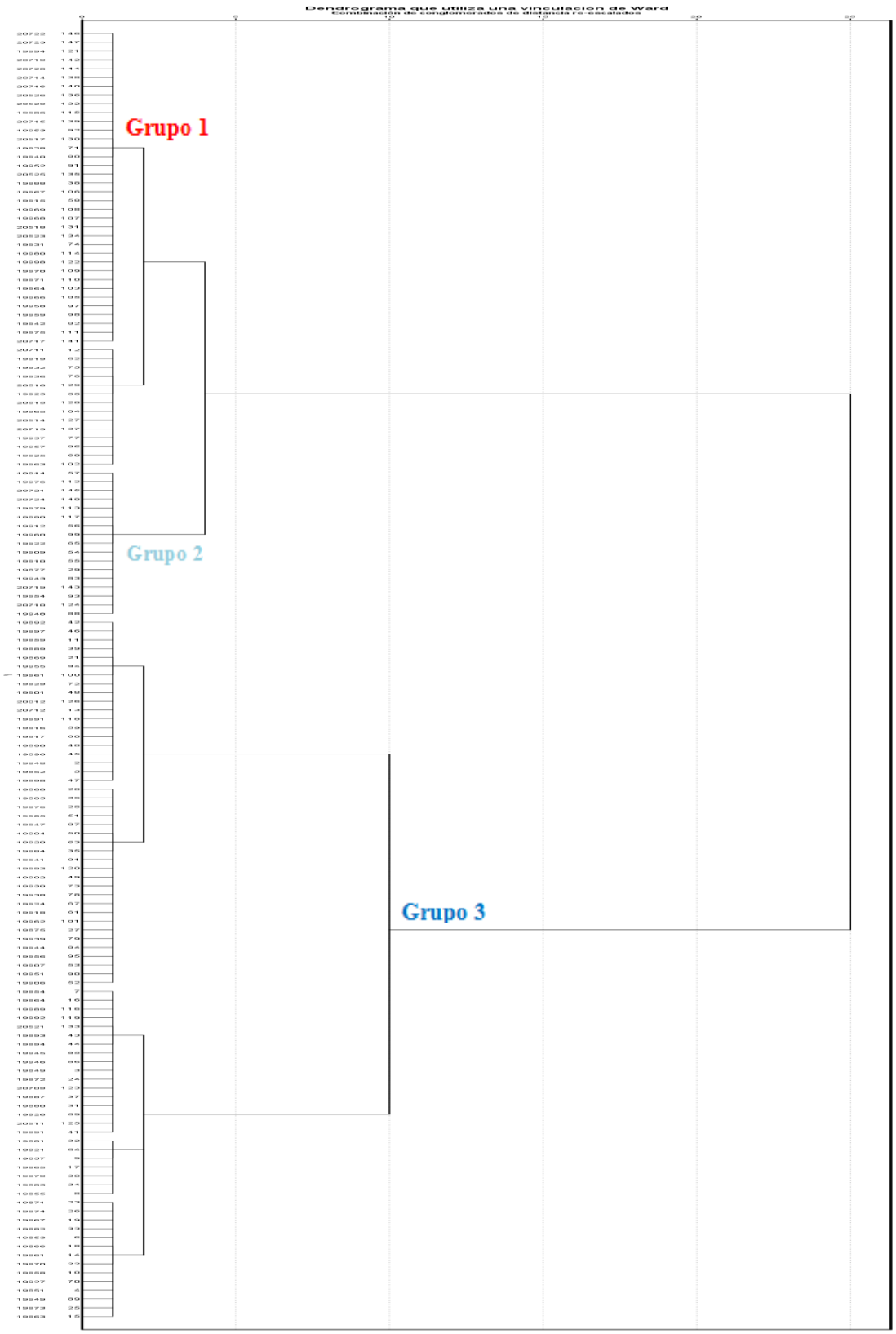


Gráfico 4.1. Dendograma que se utiliza la vinculación de Ward y la distancia Euclídea al cuadrado, en 147 accesiones de capulí.



4.2.1. Valor discriminante de los caracteres

Los parámetros estadísticos para la selección de los descriptores discriminantes cualitativos y cuantitativos se detallan a continuación:

4.2.1.1. Caracteres cualitativos

Cuadro 5.3. Descriptores morfológicos utilizados con parámetros para la estimación del valor discriminante en caracteres cualitativos en la colección nacional de capulí **(*Prunus serotina*** Erh.).

Variable	Chi-Cuadrado	Gl	Sig. Bilateral	V Cramer	Coeficiente Contingencia
Hábito de crecimiento	9.79*	3	0.2	0.26	0.25
Forma de la ramas	6.38ns	3	0.9	0.21	0.20
Forma de la copa	4.33*	2	0.1	1.72	0.17
Base de la hoja	1.52*	1	0.2	0.10	0.10
Color de las hojas	1.05*	1	0.4	0.60	0.84
Color del pedúnculo floral	0.27ns	1	0.6	0.04	0.04
Forma del fruto	3.51ns	1	0.6	0.05	0.05
Forma general de la semilla	4.81*	2	0.1	0.18	0.15

De los 8 descriptores cualitativos evaluados, se aplicó la prueba de chi-cuadrado (X^2) con el fin de determinar descriptores discriminantes (Cuadro 5.3). Los caracteres estadísticamente significativos fuero: hábito de crecimiento (9.79), forma de la copa (4.33), base de la hoja (1.52), color de las hojas (1.05) y la forma general de la semilla 4.81. Mientras tanto el descriptor color del pedúnculo floral y la forma del fruto fueron estadísticamente no significativos.

Los descriptores con valores totalmente homogéneos (18 de los 53 descriptores), no fueron considerados dentro del análisis estadístico.

4.2.2. Caracteres cuantitativos

Cuadro 5.4. Cuadro generado a través de prueba de Duncan, con los descriptores cuantitativos de las 147 accesiones (***Prunus serotina*** Erh.).

Descriptor	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Estadístico de Levene	Sig.	Sig.
Diámetro de Tallo	0.424 A	0.437 B	0.3357 A	0.23	0.79 ns	0.79
Altura del tallo Principal	21.774 A	21.588 A	22.480 A	0.31	0.73 ns	0.73
Altura de inserción de ramas secundarias	1.423 A	1.481 A	1.479 A	0.19	0.82 ns	0.82
Número de ramas secundarias	11.095 B	11.447 B	8.179 A	4.54	0.01 *	0.01
Longitud del Peciolo de la Hoja	16.759 A	16.553 A	16.661 A	1.84	0.16 ns	0.16
Diámetro del peciolo de la Hoja	1.015 A	1.100 A	1.029 A	0.53	0.59 ns	0.59
Longitud de la hoja	100.829 A	101.359 A	103.356 A	0.78	0.46 ns	0.46
Ancho de la Hoja	35.042 A	34.533 A	34.461 A	1.74	0.18 ns	0.18
Longitud de la Inflorescencia excluido el pedúnculo	89.812 AB	97.581 B	82.787 A	1.97	0.14 ns	0.14
Número de Inflorescencia por rama terciaria	10.786 A	14.158 B	9.134 A	5.57	0.00 **	0.00
Longitud del Pedúnculo Floral	4.051 A	4.327 A	4.519 A	4.93	0.01 *	0.01
Diámetro de la flor	9.067 B	8.246 A	9.672 B	0.96	0.38 ns	0.38
Longitud de sépalo	4.115 B	3.811 A	4.199 B	0.96	0.39 ns	0.39
Ancho de sépalo, (ubicado en la parte más ancha)	4.159 B	3.859 A	4.155 B	3.72	0.03 *	0.03
Longitud de la flor	6.484 A	6.47 A	6.824 A	0.43	0.65 ns	0.65
Diámetro polar del fruto	13.070 B	12.469 AB	12.316 A	0.11	0.90 ns	0.90
Diámetro ecuatorial del fruto	13.136 B	12.501 AB	12.271 A	0.43	0.65 ns	0.65
Peso de la epidermis	0.382 B	0.360 A	0.316 A	2.97	0.05 *	0.05
Grosor de la epidermis	0.115 A	0.154 A	0.108 A	1.77	0.17 ns	0.17
Longitud de la semilla	9.195 A	9.265 A	9.011 A	1.29	0.28 ns	0.28
Diámetro de la semilla	8.146 A	7.941 A	8.124 A	2.28	0.11 ns	0.11
Determinación de pH	4.601 A	4.689 A	4.721 A	2.31	0.10 ns	0.10
Acidez titulable	0.720 B	0672 AB	0.609 A	0.68	0.51 ns	0.51
Contenido de sólidos solubles en la pulpa °Brix	21.890 A	20.897 A	20.893 A	1.73	0.18 ns	0.18
Porcentaje de materia seca en el fruto	16.303 A	17.617 B	17.781 B	0.43	0.65 ns	0.65
Peso del fruto	1.914 B	1.763 AB	1.574 A	0.00	1.00 ns	1.00
Peso de 10 semillas	0.285 A	0.293 A	0.286 A	0.13	0.88 ns	0.88

Los valores discriminantes con los caracteres cuantitativos se calculó mediante la prueba rango múltiple de Duncan (Cuadro 5.4), que permitió realizar posibles comparaciones entre grupos y seleccionar descriptores cuantitativos de mayor poder discriminante como: el número de inflorescencia por rama terciaria.

Al realizar la prueba de Duncan con los descriptores cuantitativos, tuvo mayor número de ramas secundarias el 11.447 (Grupo 2), 11.095 (Grupo 1) y 8.179 Grupo 3, y el número de inflorescencia por rama terciaría el 14.158 (Grupo 2), 10.786 (Grupo 1) y el 9.134 Grupo 3 altamente significativas.

Se caracterizaron por poseer diámetro polar del fruto) en mm) 13.070 (Grupo 1) 12.469 (Grupo 2) y 12.316 (Grupo 3) y el 13.136 (Grupo 1) 12.271 (Grupo 2) 12.501 (Grupo 3) del diámetro ecuatorial del fruto. Del análisis de Duncan se desprende que, no existen diferencias significativas entre los grupos para descriptores restantes (Cuadro 4.5).

Estudios realizados por (Cuzco, H. 2008), la variable longitud de la hoja y el diámetro ecuatorial y polar del fruto es influenciado por el tipo de: suelo, fertilización y las podas, entre los tratamientos en plantaciones de durazno (***Prunus persica*** L). De igual forma la variable altura y crecimiento en diámetro basal fueron significativas debido a las características bioclimáticas similares en la zona (Chávez, A. 2006). A cambio en una plantación de dieciocho años del duraznero (***Prunus persica*** L), respecto a los parámetros de calidad del fruto no se encontraron diferencias significativas en la variable acidez valorable pero si en la variable índice de madurez en ciruelo (***Prunus salicina*** L). (Font, I. et al. 2012)

4.3. Estructura de los agrupamientos

4.3.1. Grupo 1. Las 38 accesiones (Anexo. 8A) corresponden y conforman el grupo proveniente de las provincias de Cotopaxi (16), Tungurahua (7), Chimborazo (4), Cañar (2), Loja (1), Imbabura (2) y Carchi (6) (Anexo. 8).

De estas accesiones el 46.25% posee un hábito de crecimiento erguido y el 31.29% con ramas de forma recto, 52.38% con copa de forma obtuso, 91.80% poseen hojas de color verde claro seguido el 63.94% de hojas con base agudo.

El 91.83% de estas accesiones el pedúnculo floral es totalmente verde amarillento y finalmente el 83.68% de accesiones se caracterizan por poseer frutos grandes de forma elíptica (capulí chaucha negro o rojo), de un 83.67% de forma elíptico en la semilla (Gráfico 4.2).

Gráfico 4.2. Accesiones de capulí para el Grupo 1 conformado por 38 accesiones.

Grupo 1



Características morfológicas

Ecu: 19854

Descriptor Cualitativo	**Estado**	**Estado**
Hábito de crecimiento	Erguido	46.25%
Forma de las ramas	Recto	31.29%
Forma de la copa	Obtusa	52.38%
Base de la hoja	Agudo	63.94%
Color de la hoja	Verde claro	91.80%
Color del pedúnculo floral	Verde amarillento	91.83%
Forma del fruto	Elíptico (Capulí chaucha negro o rojo)	83,68 %
Forma general de la semilla	Elíptico	83.67%

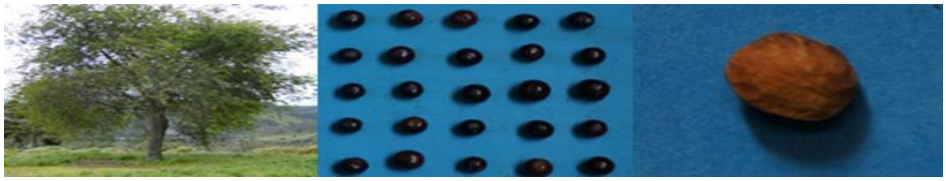
Estos frutos son conocidos y llamados por los agricultores como el capulí chaucha negro o rojo (Fabara, J. 2012. Comunicación personal), tienen sabor más dulce y mayor contenido de jugo hace que existan diferencias del capulí delgado (Calderón, R. et al. 2005), en el interior del fruto posee un color verde amarillento que se encuentra cubriendo la mayor parte de la pulpa junto a una semilla cubierta de una piel blanda de color predominante de la piel de color negro. Por lo general maduran entre la última semana del mes de enero hasta finales del mes de marzo. (Pretell, C. 1985)

4.3.2. Grupo 2. Este clúster ésta conformado por 6 accesiones (Anexo. 8B) que corresponden a las siguientes provincias: Cotopaxi (2), Tungurahua (1), Chimborazo (1), Azuay (1) y Carchi (1).

El 21.76% de los árboles poseen hábito de crecimiento semierguido seguido de 21.76% con ramas de forma extendido y el 52.38% forma de la copa redondo con un 36.05% de hojas con base obtuso esto se observó en árboles dispersos ubicados en las localidades de la provincia del Carchi. Finalmente el 8.2% de color verde oscuro de las hojas en estado fenológico maduro del árbol, 8.16% verde claro color del pedúnculo floral (Gráfico 4.3).

Gráfico 4.3. Accesión de capulí para el Grupo 2 conformado por 6 accesiones.

Grupo 2



Características morfológicas

Ecu: 19896

Descriptor Cualitativo	Estado	Estado
Hábito de crecimiento	Semierguido	21.76%
Forma de las ramas	Extendido	21.76%
Forma de la copa	Redondo	52.38%
Base de la hoja	Obtusa	36.05%
Color de la hoja	Verde oscuro	8.2%
Color del pedúnculo floral	Verde claro	8.16%
Forma del fruto	Esférico redondeadas (Capulí cuadrado coco)	14.28%
Forma general de la semilla	Esférico redondeadas	14.3%

También estas accesiones el 14.28% se caracterizan por presentar frutos de forma esférico redondeadas y el 2.04% presentan la forma general de la semilla esférico redondeadas.

Esta accesiones se encuentran ubicadas en las provincias de Azuay, Cañar, Pichincha y Carchi donde se presentan temperaturas bajas y condiciones climáticas adversas por ende los frutos de estas accesiones son de tamaño pequeño y forma esférico redondeadas (llamados capulí cuadrado o coco). (Fabara, J. 2012. Comunicación personal).

El color predominante de la piel de la pulpa en el fruto varia de color verde claro hasta verde amarillento debido a que estas accesiones se encuentran en las localidades con temperaturas bajas y menor incidencia de la luz solar y no se acumula los azucares en el fruto. Por ende los pocos frutos que producen por accesión son consumidos por las aves o a su vez se caen antes de madurarse y no son aprovechados por los agricultores.

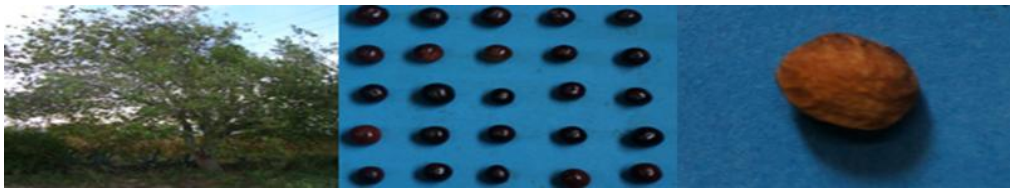
4.3.3 Grupo 3. A este conglomerado pertenecen los 103 accesiones (Anexo 8C) pertenecen a las provincias de: Cotopaxi (28), Tungurahua (20), Bolívar (4), Chimborazo (21), Cañar (5), Azuay (7), Loja (1), Pichincha (3), Imbabura (9) y Carchi (5).

En cuanto a las características morfológicas el 14.28% y el 17.65% respectivamente poseen hábito de crecimiento extendido y colgante, mientras el 18.38% y 8.16% se caracterizan por poseer ramas de forma semierectos y colgantes y el 35.40% con copa de forma redonda. A sí mismo el 8.2% el color de la hoja madura es verde oscuro con el 36.05% de base obtusa en la hoja.

El 8.16% del pedúnculo floral es de color verde claro en estado fenológico madura del árbol y finalmente el 14.28% dentro de este Grupo conformado por las accesiones poseen frutos pequeños de forma esférico globoso (llamado capulí cuadrado o coco) (Fabara, J. 2012. Comunicación personal) y el 14.3% de forma general de semilla esférico redondeados (Gráfico 4.4).

Gráfico 4.4. Accesiones de capulí para el Grupo 3 conformado por 103 accesiones.

Grupo 3



Características morfológicas

Ecu: 20711

Descriptor Cualitativo	Estado	Estado
Hábito de crecimiento	Extendido y Colgante	14,28% -17.68%
Forma de las ramas	Semierecto y Colgante	18.38% - 8.16%
Forma de la copa	Agudo	12.24%
Base de la hoja	Obtusa	36.05%
Color de la hoja	Verde oscuro	8.2%
Color del pedúnculo floral	Verde claro	8.16%
Forma del fruto	Esférico redondeadas (Capulí cuadrado o coco)	14.28%
Forma general de la semilla	Elíptico estrecho	2.04%

4.3.4. Análisis de caracteres discriminantes

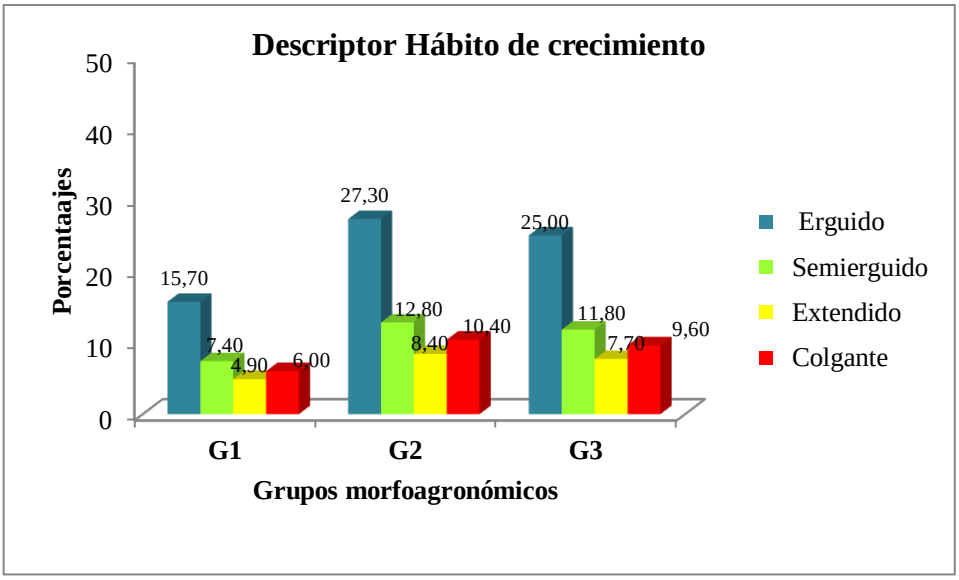
A continuación se realiza un análisis de los descriptores más discriminantes en relación a los tres grupos. Considerando desde el punto de vista fisiológico las características de fruto tienen importancia para la diferenciación y reconocimiento de las subespecies; se realizó un análisis de conglomerados jerárquicos con 147 accesiones, usando 27 descriptores cuantitativas y 8 cualitativas.

Una vez realizado el análisis discriminante se mostró de los caracteres cuantitativos evaluados el descriptor número de inflorescencia por rama terciaria posee una alta discriminación con un valor de estadística de Levene de 5.57, lo que no ocurre con el longitud del pedúnculo floral y ancho de sépalo (Cuadro 5.4). Mientras para caracteres cualitativos se observó que los descriptores más discriminantes son el: hábito de crecimiento, forma de la copa, base de la hoja, color de la hoja, forma general de la semilla.

A continuación se detalla la frecuencia de cada una de las características cualitativas observadas por grupos de conglomerados.

4.4. Hábito de crecimiento

Gráfico 4.5. Porcentajes que presentaron los grupos de accesiones de capulí en cuanto a los tres grupos de hábito de crecimiento de la planta.



De la colección nacional de árboles de capulíes evaluados en las 147 accesiones, son árboles vigorosos altos con un hábito de crecimiento erguido (árboles frondosos) el 15.70% (Grupo 1), 27.30% (Grupo 2) y 25.0% (Grupo 3). La forma de crecimiento permite tener una excelente estabilidad a los diversos factores climáticos, como el viento, de igual manera que facilita el crecimiento en altura y por ende mayor diámetro de tallo, para el uso de la madera. (Calvo, I. 2009)

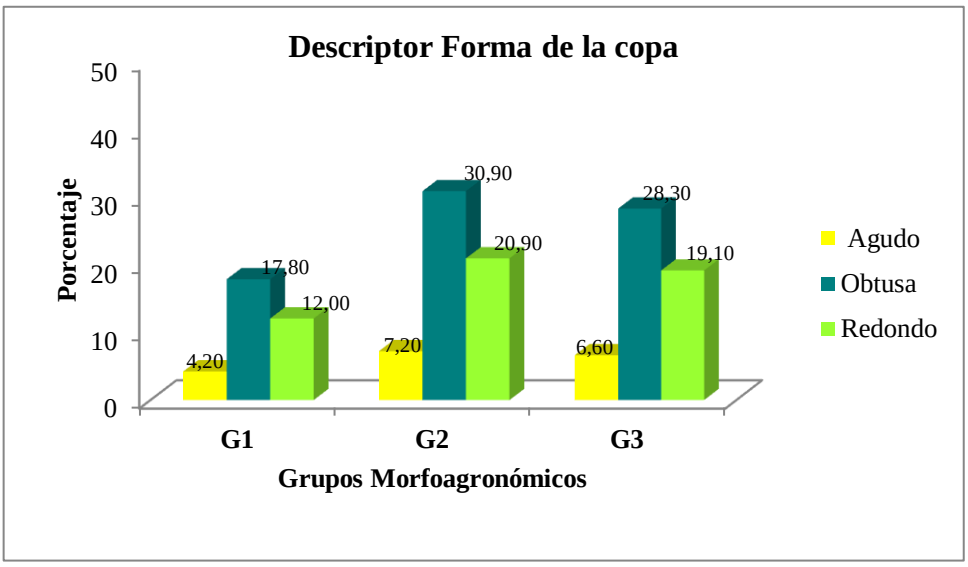
Con hábito de crecimiento semierguido 7.40% (Grupo 1), 12.80% (Grupo 2) y el 11.80% (Grupo 3). Además existen accesiones con hábito de crecimiento extendido con el 4.90% (Grupo 1), 8.40% (Grupo 2) y el 7.70% (Grupo 3). Las accesiones que mostraron hábito de crecimiento colgante (Gráfico 4.5) se distribuyeron en los siguientes porcentajes: 6.0% (Grupo 1), 10.40% (Grupo 2) y 9.60% (Grupo 3).

Estos resultados se podría relacionar con árboles de la familia rosácea con un hábito de crecimiento erecto, que carga abundantes frutos de cereza (***Prunus avium***) una vez al año (Cordeiro, L. 2008), son considerados medianamente bajos en altura de habito de crecimiento erguido ya que esto permite con mucha facilidad la cosecha de frutos. (Claverie, J. 2002)

De acuerdo a los descriptores analizados propuestos por la (UPOV. 2002) adaptados y empleados en este estudio se han considerado el hábito de crecimiento columnar, enhiesto, rastrero y llorón con las mismas características pero se los ha cambiado de nombre al adaptar al hábito de crecimiento del capulí interesantes para este estudio.

4.4.1. Forma de la copa

Gráfico 4.6. Porcentaje que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto los tres tipos de forma de la copa.

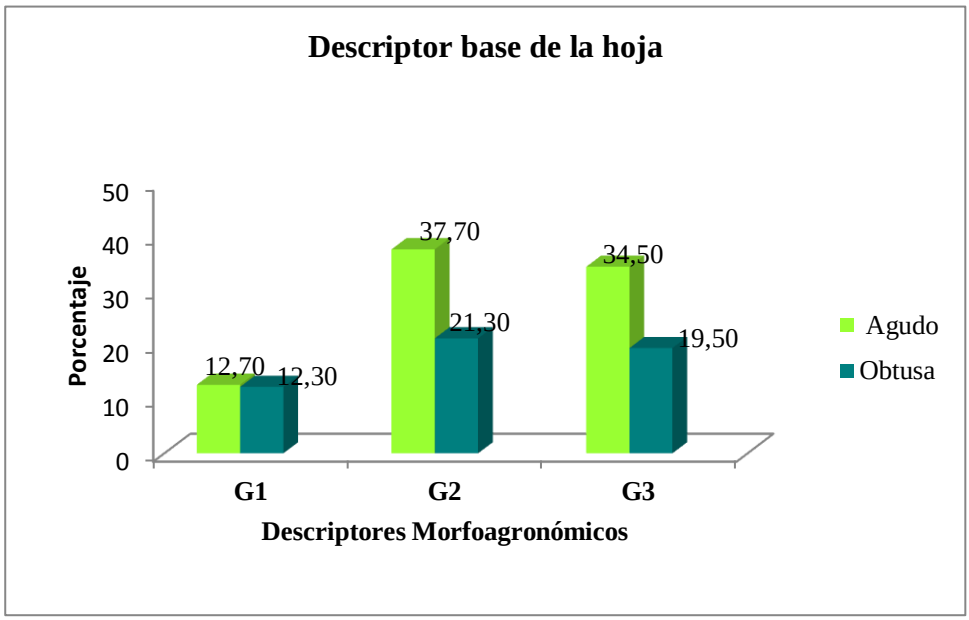


La mayoría de las accesiones presentaron forma de la copa obtusa el 30.90% (Grupo 2), 28.30% (Grupo 3) y 17.80% (Grupo 1). Con hábito de crecimiento redonda 20.90% (Grupo 2), 19.10% (Grupo 3) y el 12.00% (Grupo 1). A un no se puede descartar existen accesiones con forma de copa agudo 6.60% (Grupo 3), 7.20% (Grupo 2) y el 4.20% (Grupo 1) (Gráfico 4.6).

La mayoría de las accesiones caracterizadas y encontradas por (Vaugh, M. 1951) son de copa ancha de forma redonda y produce una sombra densa, sin darle ningún tipo de poda que permite darle forma al esqueleto del árbol realizadas en la mayoría de los árboles de la familia rosáceae (Álvarez, J. 1999). El conjunto de elementos activos de la parte aérea esta formado por los elementos tales como: ramas, yemas, hojas flores y frutos suelen ser cuerpos simétrico (piramidal = obtuso, esférico (copa abierta) = agudo, elipsoide = redonda) encontrados y caracterizados por cereza (***Prunus avium*** L). (Manzilla, P. et al. 2003)

4.4.2. Base de la hoja

Gráfico 4.7. Porcentajes que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto a las dos formas de base en las hojas.

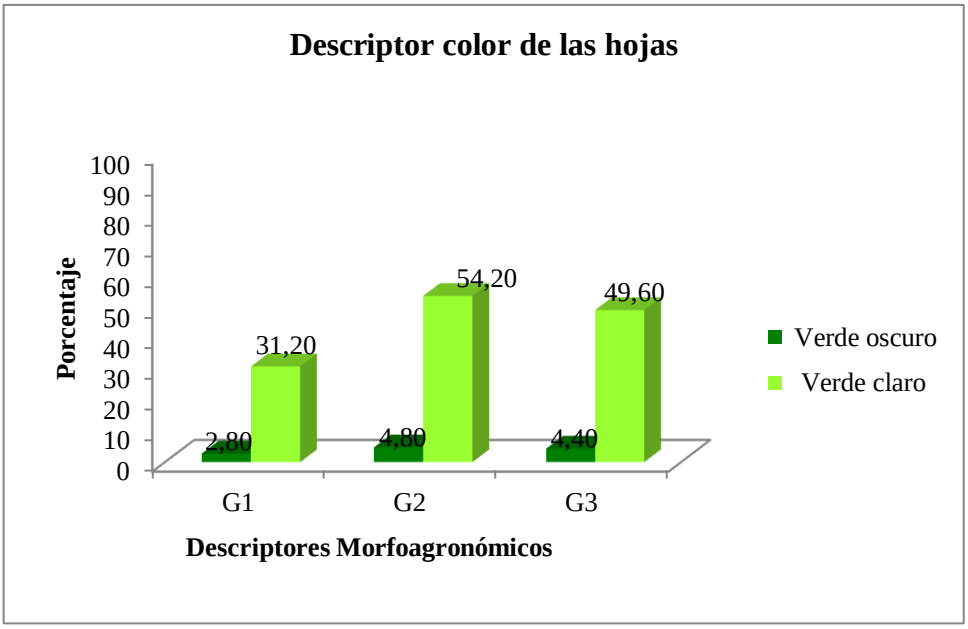


Los resultados de la variable forma de base de la hoja se presentan en el (Gráfico 4.7). Son hojas de forma agudo el 37,70% (Grupo 2), el 34,50% (Grupo3) y el 12.70% (Grupo 1), y. Con base de la hoja obtusa el 21.30% (Grupo 2), 19.50% (Grupo 3) y el 12.30% (Grupo1), caracterizados principalmente en las accesiones de la provincia de Carchi. (Freire, A. 2004) es debido a que el pecíolo puede ser simple o puede presentar con nectarios extra flórales (como en la base de las hojas de capulí).

En estudios efectuados en cereza por (Álvarez, J. et al. 2009), indica que la base de la hoja obtusa es debido a una mayor incidencia de las condiciones ambientales en la morfología de las hojas. En la localidad de la sierra Gardunha localizada en el interior-centro de Portugal con una temperatura máxima 23.0°C y mínima 6.5°C, el ángulo de la base de la hoja, es muy próximo a los 80°en las variedades de cereza Lisboeta y Maringa con un ángulo obtuso superior a 100°. (Cordeiro, L. 2008)

4.4.3. Color de la hoja

Gráfico 4.8. Porcentajes que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto a las colores de las hojas.

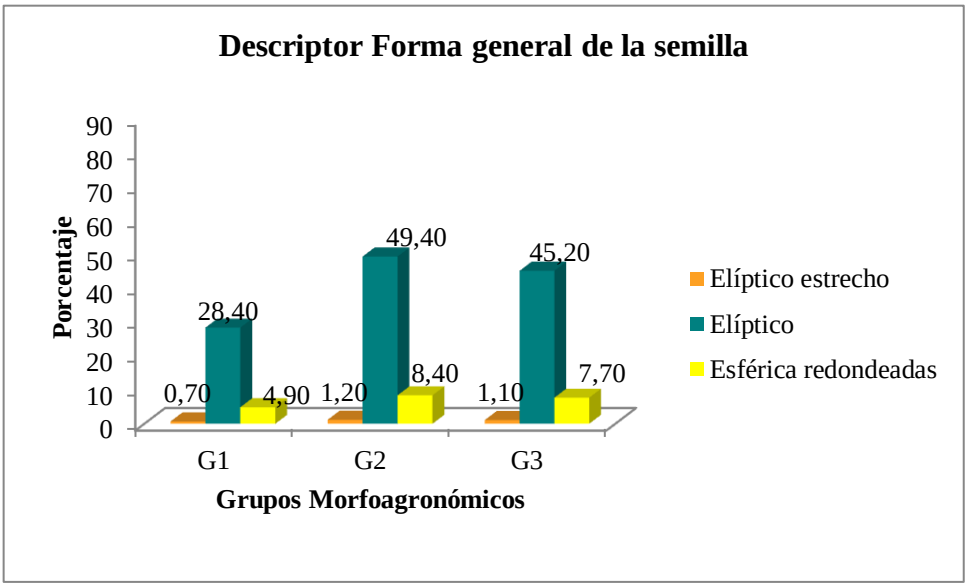


Para este descriptor las hojas maduras son de color verde claro 54.20% (Grupo 2), 49.60% (Grupo 3) y el 31.20% (Grupo 1), así también el 4,80% (Grupo 2), 4,40% (Grupo 3) y 2.80% (Grupo 1), poseen hojas maduras de color verde oscuro cabe mencionar en estas accesiones caracterizados la mayoría de las hojas son de color verde claro del 100% de accesiones.

Este descriptor hace posible diferenciar entre los tres grupos (Gráfico 4.8), en contrastes analizados por (Borja, A. et al. 1990) los árboles de capulí posee hojas lanceoladas con borde aserrado de un color verde claro), lustrosas por el haz, debido al contenido de las antocianinas y cambio de hoja en épocas de verano. (Álvarez, J. et al. 2009)

4.4.4. Forma general de la semilla

Gráfico 4.9. Porcentaje que presentaron los tres grupos de accesiones de capulí en cuanto a las tres formas de la semilla.



Para forma general de las semillas en los tres grupos el porcentaje más alto correspondió a la forma elíptico con el 28.40% (Grupo 1), 49.40% (Grupo 2) y el 45.20% (Grupo 3). Para la forma elíptica estrecho fueron porcentajes muy bajos el 1.20% (Grupo 2), 1.10% (Grupo 3) y 0.70% (Grupo 1).

Con forma de la semilla esférica redondeadas 8.40% (Grupo 2), 7.70% (Grupo 3) y el 4.90% (Grupo 1) (Gráfico 4.9), la forma de la semilla es una característica varietal son de mayor tamaño de forma elíptica los capulíes chauchas y de forma esférica redondeada de frutos pequeños capulíes cuadrado o coco.

Normalmente posen una semillas cubiertas por un hueso leñoso o endocarpio esto protege al embrión de sabor amargo debido a la forma elíptico de la semilla.

Estas semillas de capulí se consideran ortodoxa más la forma esférica redondeadas hace que el embrión mantenga latente. (Fresnedo, J. et al. 2011)

En la mayoría de las variedades de cereza (***Prunus avium*** L.), contienen una sola semilla de forma oblongo elíptico cubierto (Calvo, I. et al. 2009), de igual forma las semillas de la familia rosáceae presentan grueso de forma esférico globoso de color amarrillo pálido que lo rodea al embrión. (Vásquez, H. 2011)

4.5. Descripción de los morfotipos

De acuerdo a los resultados obtenidos anteriormente y en base a los análisis de conglomerados jerárquicos, se describió a las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.), en los diferentes morfotipos de la siguiente manera.

4.5.1. Morfotipo grupo 1

Cuadro 5.5. Morfotipos dentro del grupo 1, definidos por método de Ward de las 147 accesiones de **(*Prunus serotina*** Ehrh.**)**.

Grupo 1					
Morfotipo 1		**Morfotipo 2**			
19892	Cotopaxi	20721	Carchi	19849	Cotopaxi
19954	Chimborazo	19912	Tungurahua	19848	Cotopaxi
19923	Tungurahua	20723	Carchi	19885	Cotopaxi
19905	Tungurahua	20722	Carchi	19854	Cotopaxi
19894	Cotopaxi	20520	Imbabura	19853	Cotopaxi
19921	Tungurahua	19932	Tungurahua	20724	Carchi
19893	Cotopaxi	19941	Chimborazo	20716	Carchi
19863	Cotopaxi	19920	Tungurahua	20517	Imbabura
19851	Cotopaxi	19884	Cotopaxi	20718	Carchi
19855	Cotopaxi	19907	Tungurahua	19959	Chimborazo
19992	Cañar	19864	Cotopaxi		
19989	Cañar	19875	Cotopaxi		
19967	Loja	19859	Cotopaxi		
19940	Chimborazo	19891	Cotopaxi		
		19849	Cotopaxi		
		19848	Cotopaxi		
		19885	Cotopaxi		
		19854	Cotopaxi		
		19853	Cotopaxi		
		20724	Carchi		

Morfotipo 1: conformado por 14 accesiones de capulí los cuales se caracterizaron por poseer árboles con hábito de crecimiento erguido, de forma de copa obtuso y ramas de forma recto de un color verde amarillento del pedúnculo floral, frutos de tamaño grande (chaucha rojo o negro), semillas de forma elíptica estrecho y hojas de color verde claro y base de la hoja de forma aguda.

Morftipo 2 conformado por 24 accesiones de capulí las cuales presentaron hábito de crecimiento semierguido, forma de la copa redonda y ramas de forma extendido de un color verde claro del pedúnculo floral, frutos de tamaño pequeño (llamado capulí cuadrado o coco), semillas de forma elíptica y hojas de color verde claro. (Cuadro 5.5) se muestra los morfotipos 1 y 2 caracterizados en las provincias de: Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Imbabura y Carchi.

4.5.2. Morfotipo grupo 2

Cuadro 5.6. Morfotipos dentro del grupo 2, definidos por método de Ward de las 147 accesiones de **(*Prunus serotina* Ehrh.)**.

Grupo 2			
Morfotipo 1		**Morfotipo 2**	
19956	Chimborazo	19858	Cotopaxi
19904	Tungurahua	19852	Cotopaxi
		20715	Carchi
		19969	Azuay

Morfotipo 1: conformado por 2 accesiones de capulí se caracterizaron por poseer árboles con hábito de crecimiento semierguido, forma de la copa redonda y ramas extendido de un color verde claro del pedúnculo floral, frutos de tamaño pequeños (llamado capulí cuadrado o coco), semillas de forma elíptica redondeadas y hojas de color verde oscuro y base de la hoja forma obtusa.

Morfotipo 2: conformado por 4 accesiones de capulí las cuales presentaron hábito de crecimiento erguido, forma de la copa obtusa y ramas de forma recto de un color verde amarillento del pedúnculo floral de color de hojas verde claro de base agudo de la hoja, con frutos de grandes (llamado capulí chaucha negro rojo),

semillas de forma elíptica. (Cuadro 5.6) se muestra los morfotipos 1 y 2 caracterizados en las provincias de: Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, y Azuay.

4.5.3. Morfotipo grupo 3

Cuadro 5.7. Morfotipos dentro del grupo 3, definidos por método de Ward de las 147 accesiones de **(*Prunus serotina* Ehrh.)**.

Grupo 3							
Morfotipo 1		Morfotipo 2				Morfotipo 1		Morfotipo 2	
20521	Imbabura	19898	Cotopaxi	19944	Chimborazo	19994	Cañar	19868	Cotopaxi
19938	Bolívar	19876	Cotopaxi	19930	Tungurahua	19971	Azuay	19896	Cotopaxi
19929	Tungurahua	19916	Tungurahua	19924	Tungurahua	19936	Bolívar	19890	Cotopaxi
19993	Cañar	20712	Cotopaxi	19917	Tungurahua			19944	Chimborazo
19961	Chimborazo	19870	Cotopaxi	19955	Chimborazo			19930	Tungurahua
19906	Tungurahua	19861	Cotopaxi	20012	Imbabura			19924	Tungurahua
19897	Cotopaxi	19943	Chimborazo	19991	Cañar			19917	Tungurahua
20515	Imbabura	19877	Cotopaxi	19889	Cotopaxi			19955	Chimborazo
19965	Chimborazo	19857	Cotopaxi	19869	Cotopaxi			20012	Imbabura
20714	Carchi	19926	Tungurahua	19946	Chimborazo			19991	Cañar
19975	Azuay	19887	Cotopaxi	19945	Chimborazo			19889	Cotopaxi
20711	Bolívar	20516	Imbabura	19882	Cotopaxi			19869	Cotopaxi
19963	Chimborazo	19951	Chimborazo	19871	Cotopaxi			19946	Chimborazo
19953	Chimborazo	19918	Tungurahua	19873	Cotopaxi			19945	Chimborazo
19937	Bolívar	19962	Chimborazo	19867	Cotopaxi			19882	Cotopaxi
20511	Imbabura	19928	Tungurahua	19866	Cotopaxi			19871	Cotopaxi
19881	Cotopaxi	20514	Imbabura	19949	Chimborazo			19873	Cotopaxi
19880	Cotopaxi	20526	Imbabura	19872	Cotopaxi			19867	Cotopaxi
19874	Cotopaxi	19942	Chimborazo	20719	Carchi			19866	Cotopaxi
19927	Tungurahua	19948	Chimborazo	19922	Tungurahua			19949	Chimborazo
19883	Cotopaxi	20709	Pichincha	19990	Cañar			19872	Cotopaxi
19865	Cotopaxi	19976	Azuay	19960	Chimborazo			20719	Carchi
20713	Carchi	19914	Tungurahua	19986	Azuay			19922	Tungurahua
19979	Azuay	19910	Tungurahua	20518	Imbabura			19990	Cañar
19939	Bolívar	19909	Tungurahua	19980	Azuay			19960	Chimborazo
19888	Cotopaxi	20717	Carchi	19964	Chimborazo			19986	Azuay
20710	Pichincha	19968	Loja	19925	Tungurahua			20518	Imbabura
19902	Tungurahua	19919	Tungurahua	20523	Pichincha			19980	Azuay
19915	Tungurahua	19958	Chimborazo	19970	Azuay			19964	Chimborazo
20720	Carchi	19998	Cañar	19966	Chimborazo			19925	Tungurahua
19952	Chimborazo	19931	Tungurahua					20523	Pichincha
19957	Chimborazo	19947	Chimborazo					19970	Azuay
20525	Imbabura	19901	Tungurahua					19966	Chimborazo
19994	Cañar	19868	Cotopaxi						
19971	Azuay	19896	Cotopaxi						
19936	Bolívar	19890	Cotopaxi						

El morftipo 1: conformado por 36 accesiones de capulí los cuales se caracterizaron por poseer árboles de capulí con hábito de crecimiento erguido, forma de la copa obtusa y ramas de forma recto de un color verde claro del pedúnculo floral, frutos de tamaño grande (llamados capulí chaucha negro o rojo), semillas de forma elíptico estrecho y hoja de color verde oscuro y base de hoja elíptico.

Morfotipo 2: conformado por 66 accesiones de capulí los cuales presentaron árboles de capulí con hábito de crecimiento erguido, forma de la copa obtusa y ramas de forma recto de un color verde claro del pedúnculo floral, frutos de tamaño grande (llamados capulí chaucha negro o rojo), semillas de forma elíptico estrecho y hoja de color verde oscuro y base de hoja elíptico.

Morfotipo 1: conformado por 4 accesiones de capulí los cuales se caracterizan por poseer árboles de capulí con hábito de crecimiento erguido, forma de la copa obtuso y ramas de forma extendido de un color verde amarillento del pedúnculo floral frutos de tamaño grande (llamados capulí chaucha negro o rojo), semillas de forma elíptico y hoja de color verde claro y base de hoja obtusa.

(Cuadro. 7) conformado por 103 accesiones de las 10 provincias de la sierra. Sin embargo dentro del morfotipo 1 y 2 se caracterizan accesiones con hábito de crecimiento semierguido, de forma de la copa redonda y ramas de forma semierecto de un color verde claro del pedúnculo floral de color verde oscuro de la hoja de base obtusa de la hoja con frutos de tamaño pequeño (llamados capulí cuadrado o coco) con forma de la semilla esférica redondeadas.

En la caracterización realizado por (Vaugh, M. 1951), en el Ecuador existen dos subespecies botánicas: (P. ***serotina*** ssp). Capulí (Cav) localizados en las provincias del: Carchi, Imbabura y Pichincha al norte y al sur, Cañar, Azuay, Loja y Bolívar. Mientras que las accesiones de (P. ***serotina*** Ehrh.) presentan características morfológicas diferentes localizadas en las provincias de: Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo en la sierra centro del país.

Las diferencias que existen entre estas dos subespecies de capulíes se detallan continuación. (P. ***serotina*** ssp). Capulí (Cav), se caracterizan por poseer árboles con menor en altura total, frutos de tamaño pequeños llamados capulí coco o cuadrado de color verde oscuro en las hojas. A cambio (P. ***serotina*** Ehrh), se caracterizan por poseer árboles con mayor altura total, frutos grande llamado capulí chaucha rojo o negro de color verde claro y verde oscuro de la hoja.

4.6. Análisis de Componentes Principales

4.6.1. Análisis de Componentes principales

Cuadro 5.8. Análisis de componentes principales de los descriptores cuantitativas de las 147 accesiones **(*Prunus serotina*** Ehrh.**)**.

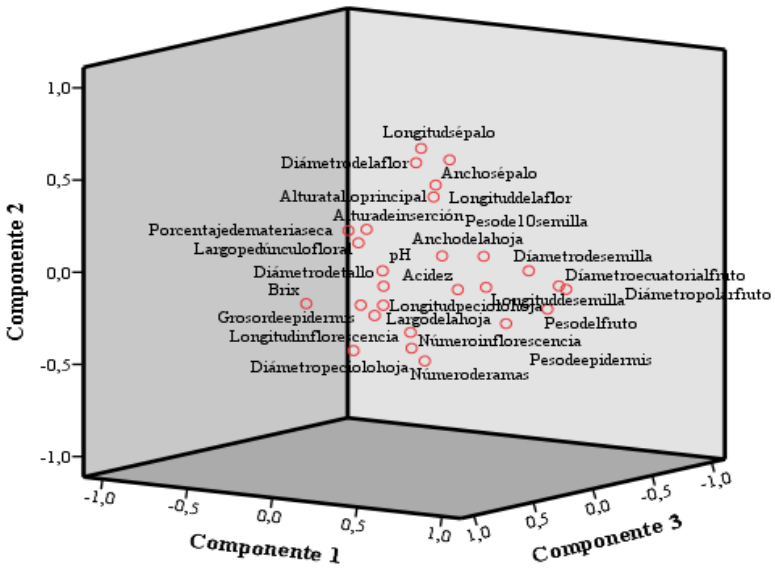
Descriptores	Componente	
	1	2
Diámetro de tallo	0.11	-0.10
Altura del tallo principal	0.12	0.32
Altura de inserción de ramas secundarias	-0.25	0.17
Número de ramas secundarias	0.07	-0.55
Longitud del peciolo de la hoja	0.06	-0.20
Diámetro del peciolo de la hoja	0.15	-0.43
Longitud de la hoja	0.12	-0.18
Ancho de la hoja	0.50	-0.06
Longitud de la inflorescencia excluido el pedúnculo	-0.14	-0.25
Número de inflorescencia por rama terciaria	0.07	-0.36
Longitud del pedúnculo floral	0.05	0.35
Diámetro de la flor	0.27	0.65
Longitud de sépalo	0.28	0.64
Ancho de sépalo, (ubicado en la parte más ancha)	0.34	0.60
Longitud de la flor	0.40	0.55
Diámetro polar del fruto	0.84	-0.05
Diámetro ecuatorial del fruto	0.83	-0.07
Peso de la epidermis	0.56	-0.31
Grosor de la epidermis	-0.23	0.01
Longitud de la semilla	0.54	-0.03
Diámetro de la semilla	0.64	-0.03
pH	0.04	0.10
Acidez titulable	0.25	-0.22
°Brix	-0.41	0.09
Porcentaje de materia seca en el fruto	-0.15	0.47
Peso del fruto	0.76	-0.19
Peso de 10 semillas	0.56	-0.04

El análisis de componentes principales realizando con las variables cuantitativas, permitió constatar que el primero y segundo componentes extrajeron el 24.180% de la variación total que corresponde al 14.345% (primero) y 9.656% (segundo) componente respectivamente. Las variables más contribuyeron para la variación en el primer componente fueron: diámetro polar, diámetro ecuatorial del fruto, peso de fruto y en el segundo componente diámetro de la flor, longitud de sépalo, ancho de sépalo ubicado en la parte más ancha y número de ramas secundarias (Cuadro 5.8).

En estudios similares reportado por (Fresnedo, J. et al. 2011) en la región occidental de México donde se realizó la caracterización *in situ* de las 295 accesiones de capulí (P. ***serotina*** Ehrh), se encontró que los dos primeros componentes extrajeron el 18% de la variación.

En el componente 1 el (0.76 g) la variable peso del fruto, valor positivo más alto corresponde a accesiones de P. ***serotina*** Ehrh. Mientras el (-0.03) la variable diámetro de la semilla valor más bajo de las accesiones de P**.** ***serotina*** ssp Capulí (Cav) (Vaugh, M. 1951) del componente 2 obtenido del Análisis de Componentes principales (Cuadro. 5.8).

Gráfico 4.10. Se observa la distribución de las variables en los ejes del espacio formado por los dos componentes principales. Se visualiza la correlación entre las variables.



(Gráfico 4.10) se visualiza la correlación de los descriptores cuantitativos existentes entre el: diámetro del tallo, altura del tallo principal, longitud de la flor, ancho de sépalo (ubicado en la parte más ancha) y el diámetro polar y ecuatorial del fruto. Esta correlación existente podría ser del resultado de los diferentes procesos de domesticación entre de árboles de capulí cultivados (mantenido alrededor de los predios) y los que (crecen en entorno natural) o árboles de capulí silvestres. (Fresnedo, J. et al. 2011)

4.7. Análisis discriminante canónico

Cuadro 5.9. Valores de la función canónica discriminantes de las variables cuantitativas de las 147 accesiones de capulí **(*Prunus serotina* Ehrh.)**.

Función	Autovalor	% de varianza	% acumulado	Correlación canónica
1	2.058[a]	71.4	71.4	0.820
2	.825[a]	28.6	100	0.672

a. Se han empleado las 2 primeras funciones discriminantes canónicas en el análisis.

El análisis discriminante canónico permitió corroborar el análisis de componentes principales y determinar características discriminantes usando las variables cuantitativas y cualitativas comparadas con la clasificación obtenida en el análisis de conglomerados.

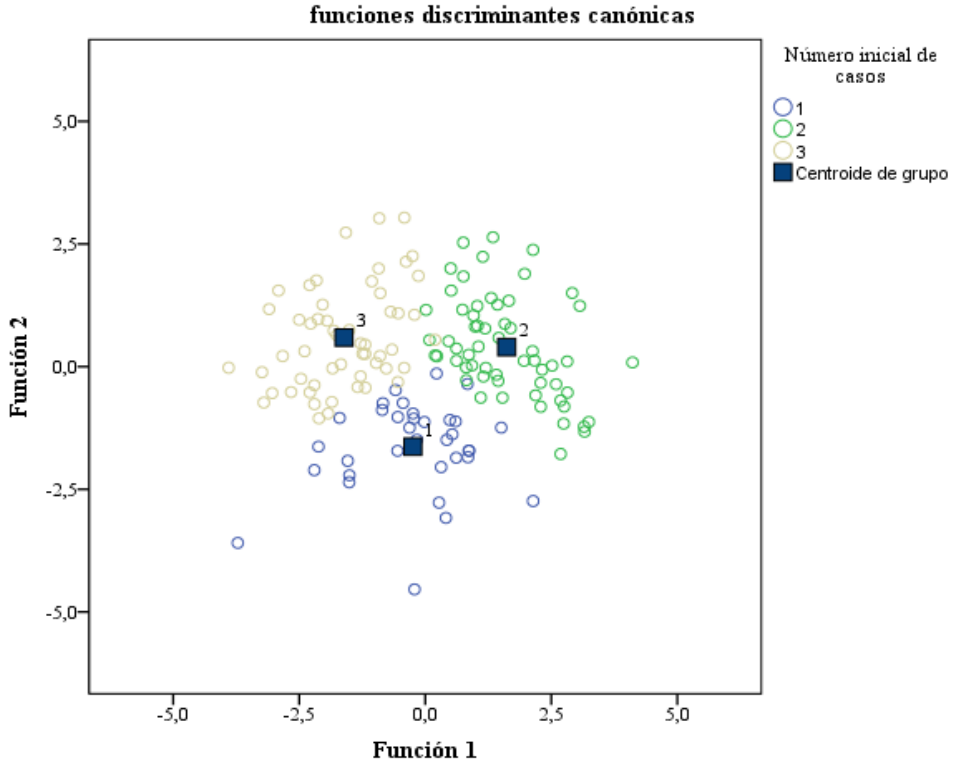
Los valores asociados con las funciones discriminantes canónicas (Cuadro 5.9) el valor asociado a la primera función es 2.058 y explica el 71.4% de la varianza.

Cuadro 5.10. Valores en función de los grupos formados a partir de la Lambda de Wilks obtenidos en las 147 accesiones de capulí **(*Prunus serotina* Ehrh.)**.

Contraste de las funciones	Lambda de Wilks	Chi-Cuadrado	Gl	Sig.
1 a la 2	0.179	244.958	8	0
2	0.548	85.7	3	0

El valor de Lambda de Wilks para esta función fue de 0.179 y 0.548 (Cuadro 5.10) ambos valores cercanos a cero con los que demuestra que esta función tiene alto poder discriminatorio.

Gráfico 4.11. Gráfico de los discriminantes canónicas unidas a los grupos de las 147 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh).



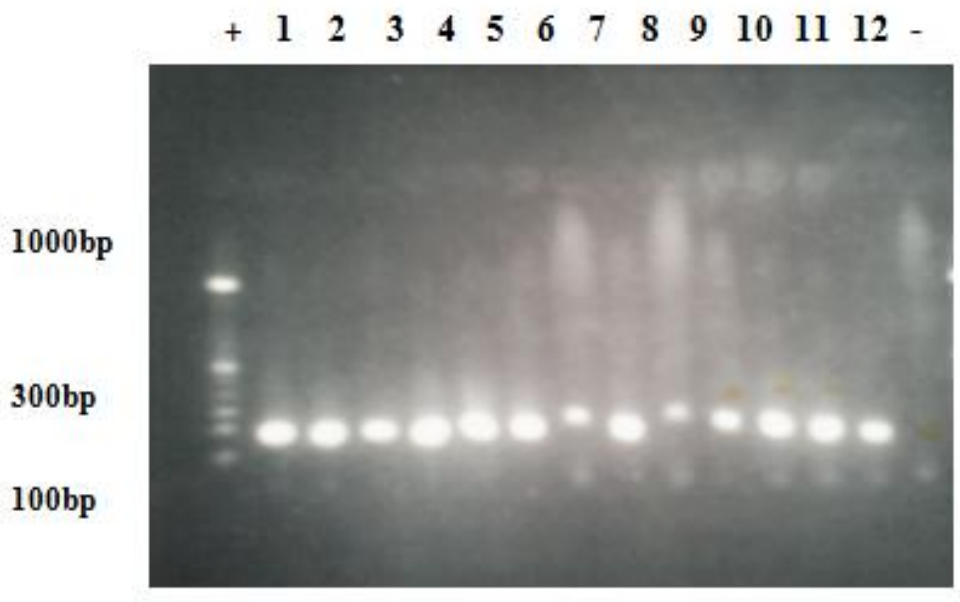
El Gráfico 4.11. Ofrece como se distribuyen los grupos definidos en análisis conglomerados. El Grupo 1 ocupa en su inmensa mayoría en área de cuadrante inferior, en el cuadrante derecho se concentraron las accesiones del Grupo 2 y el grupo 3 ocupa el cuadrante superior izquierdo. Esta distribución obedece a las características de las variables cuantitativas para cada grupo.

4. 8. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

Mediante la utilización de técnica microstelíte – SSRs. Se determinó la diversidad y la estructura genética dentro y entre poblaciones de (P. *serotina*).

4.8.1. Extracción y cuantificación de ADN genómico de tejido vegetal (primordios foliares), de los árboles de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.)

Gráfico 4.12. Validación de ADN genómico en un gel de agarosa al 2%. Utilizando muestras secas (carril inicial: marcador de peso molecular 100 pb DNA Lader).

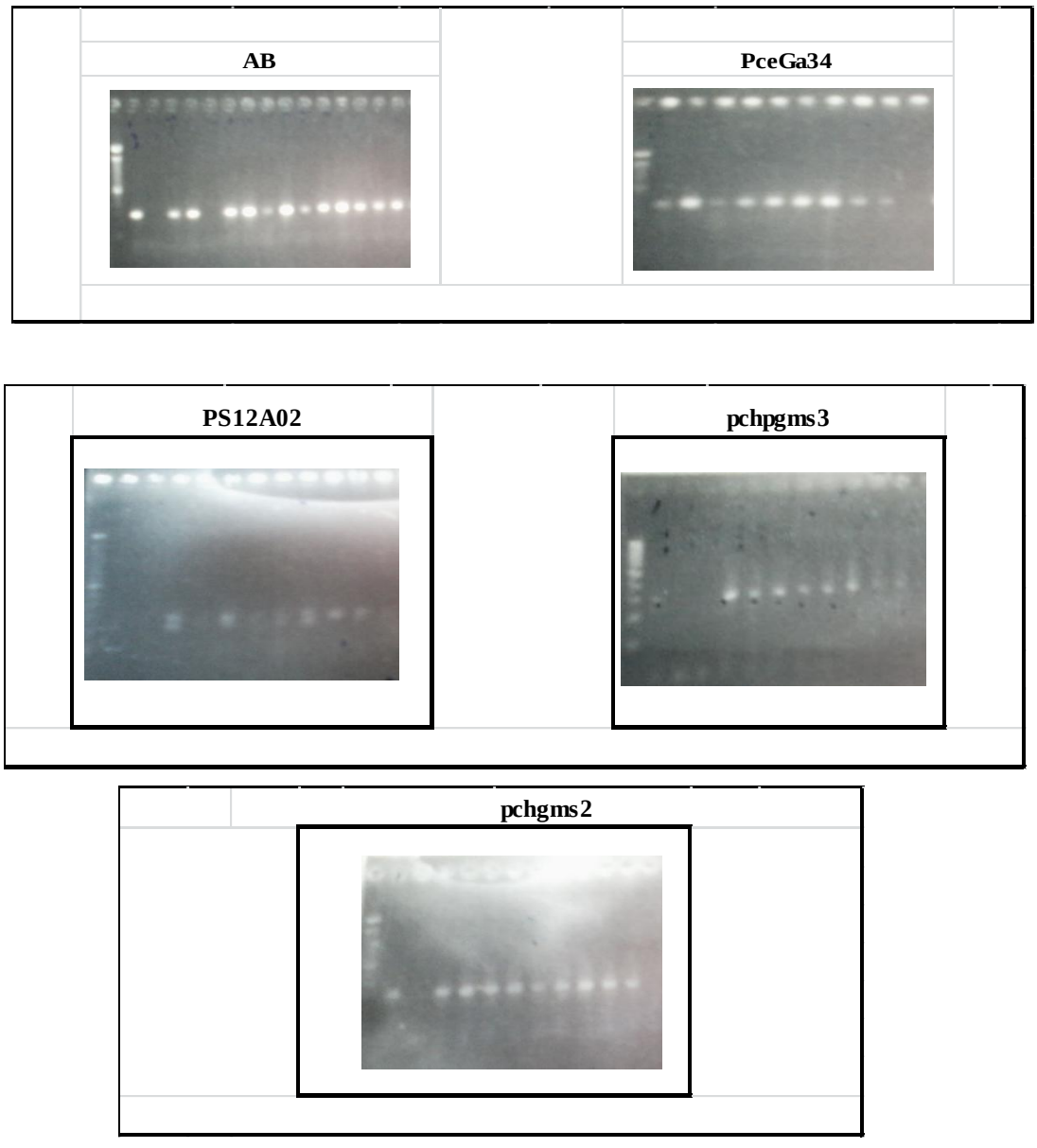


Al igual que otras especies forestales en la teca los polisacáridos fueron visualmente evidentes en el proceso de verificación del ADN notándose su presencia en la textura pegajosa y aspecto viscoso que presentaba el mix de extracción (Ñieto, J. et al. 2005). Además por la presencia de estos metabolitos se presentó inicialmente dificultades en la reacción de cadena de la polimerasa (PCR) inhibiendo la acción de Taq polimerasa. (Harvey, D. et al. 1995)

Se estimó la cantidad promedio de ADN usando espectrofotometría obteniéndose un valor medio de 500 ng/ul (Gráfico 4.12). El resultado está dentro del rango de 1.8 a 1.9 significa que el ADN es de buena calidad. (Orozco, G. et al. 2010)

4.8.2. Amplificación y genotipaje de Microsatélites

Gráfico 4.13. Muestras amplificadas con los primers: AB, PceGA34, PS12A02, pchgms3, pchgms2 (Anexo. 3), utilizados en la caracterización molecular de la colección de capulí **(*Prunus serotina* Ehrh.)**.



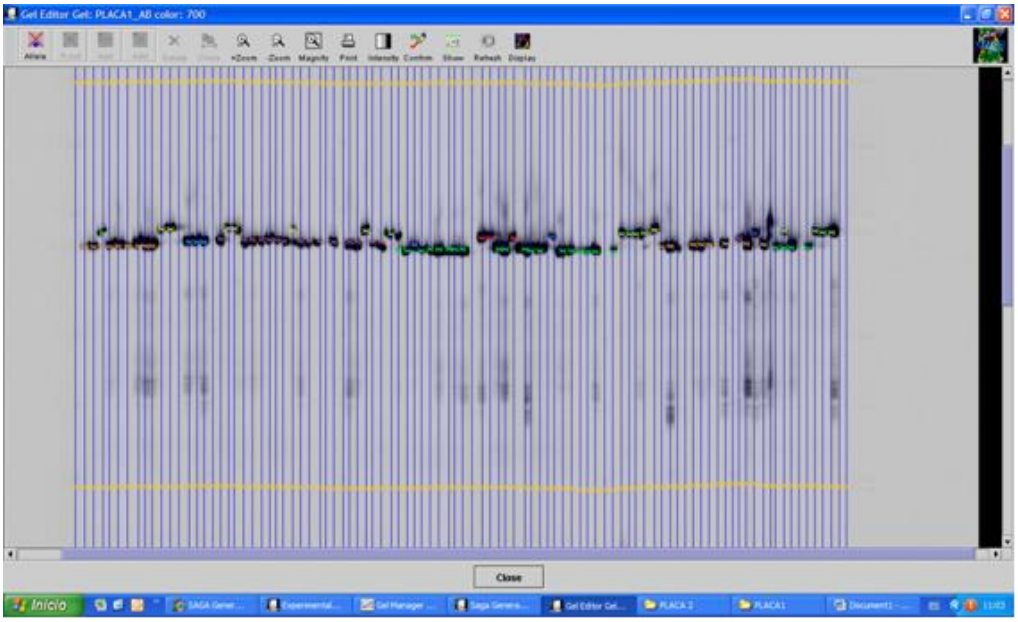
Se efectuó un *screening* con 5 pares de *primers* microsatélites, diseñados para genomas filogenéticamente en especies ***Prunus*** (Gráfico 4.13). El criterio tomado en cuenta para la elección fue la obtención de un patrón de bandeo claro.

De los 5 pares de *primers* uno de ellos es cloroplástico y cuatro de ellos corresponden a nucleares derivados de cereza (***Prunus avium*** L.) y melocotonero (***Prunus persica***). Anteriormente ya fueron utilizados en estudios con fines de identificación varietal y análisis de diversidad genética por (Suzanne, L. et al. 2000), (Guadalupe, J. 2013) y (Intriago, D. 2013), (Bouhadida, L. 2007) y. (Wunsch, A. 2003)

De los cinco *primers* dieron lugar a las respectivas amplificaciones (Gráfico 4.12) se observa que no existe un patrón de bandeo únicamente para el PS12A02 hay una alta presencia de alelos nulos.

4.8.2.1. Genotipaje de muestras de capulí (*Prunus seotina* Ehrh.) utilizando 5 primers microsatélites.

Gráfico. 4.14. Lectura de gel de acrilamida en el equipo LI-COR 4300s con el programa SAGA de las 87 muestras amplificadas de capulí cultivado mediante PCR monoplex con los primers PceGA34 y PM35.



El software-SAGA-GT permitió realizar lecturas de bandas. Este programa encuentra automáticamente el tamaño de los alelos. Únicamente el primer pchpgms3 genero cuatro alelos, los cuatro *primers* restantes detectaron 2 lelos por cada locus polimórfico (Gráfico 4.14).

4.8.3. Análisis de datos

4.8.4. Diversidad genética

Cuadro.5.11. Detalle y características de los marcadores microsatélites empleados en el estudio (Origen, código del marcador, origen cloroplasto-núcleo, tamaño reportado, longitud de polimorfismos y frecuencias).

Origen del marcador	**Código de marcador**	**Marcador ADN (Cloroplasto o nuclear)**	**Tamaño reportado**	**Número de alelos**	**Tamaño encontrado (bp)***	**Frecuencia**
Guida (P. *cerasus*)	AB	Cloroplasto	250 – 280	4	269	0.552
					271	0.013
					275	0.285
Cereza dulce (P. *avium*)	PceGA34	Nuclear	140 – 174	16	131	0.051
					133	0.036
					135	0.015
					139	0.022
					141	0.102
					143	0.066
					145	0.051
					147	0.180
					149	0.072
					151	0.036
					153	0.072
					155	0.094
					157	0.094
					159	0.044
					161	0.029
					163	0.037
Cereza agria (P. *avium*)	PS12A02	Nuclear	150 – 178	6	157	0.468
					149	0.013
					151	0.02
					155	0.301
					153	0.054
					159	0.144

A continuación Detalle y características de los marcadores microsatélites

Origen del marcador	Código de marcador	Marcador ADN (Cloroplasto o nuclear)	Tamaño reportado	Número de alelos	Tamaño encontrado (bp)*	Frecuencia
Melocotón (P. *Persica*)	Pchgms3	Nuclear	170 - 230	16	168	0.026
					170	0.131
					180	0.087
					186	0.011
					188	0.181
					200	0.058
					202	0.037
					210	0.015
					212	0.008
					214	0.031
					216	0.068
					218	0.053
					220	0.042
					222	0.096
					224	0.054
					226	0.103
Melocotón (P. *Persica*)	Pchgms2	Nuclear	130 - 152	13	131	0.042
					133	0.014
					135	0.036
					137	0.036
					139	0.064
					141	0.149
					143	0.238
					145	0.173
					147	0.128
					148	0.021
					149	0.043
					151	0.043
					153	0.015

Tamaños reportados por. Suzanne, L et al. 2000.

Inicialmente se identificaron 4 alelos para el *primer* cloroplasto AB derivado de cereza guinda (P. *ceraus*), PceGA34 16 alelos y el PS12A02 con 6 alelos (Cuadro 5.11). Debido a su diferente modo de herencia el *primer* Pchgms3 identificó 16

alelos, por último el pchgms2 presento 13 alelos de los cinco pares de *primers* en total amplificaron 55 alelos encontrados en esta investigación.

En contrastes con otros estudios utilizando los cinco pares de *primer* resolvieron 54 alelos putativos con las 66 muestras de accesiones de capulí provenientes de México, EEUU y Ecuador (Suzanne, L. et al. 2000). Durante primero y segunda fase encontraron 49 y 48 alelos con las 88 muestras de accesiones de capulí colectadas desde la provincia del Carchi hasta Azuay. (Guadalupe, J. 2013) y. (Intriago, D. 2013)

El pool genético al ser colectados, mediante la selección natural mantiene y acumulan genotipos en una misma población. (Cambell, P. et al. 1996)

4.8.4.1. Contenido de información Polimórfica (PIC), de acuerdo a la información obtenida de la fracción de descendencia esperada

Cuadro.5.12. Resultado del Contenido de Información Polimórfica de las 87 accesiones de capulí.

Locus	Tamaño muestra	N0 Observaciones	N0 alelos	He	Ho	PIC
AB	87	73	4	0.579	0.000	0.583
PceGA34	87	71	16	0.905	0.836	0.912
PS12A02	87	70	6	0.651	0.500	0.656
Pchgms3	87	68	16	0.904	0.971	0.911
Pchgms2	87	33	13	0.863	1.000	0.876
Promedio	87	63	11	0.780	0.661	0.788

Parámetros Obtenido mediante: Peakall, J. et al., 2010.

El valor más alto de la heterocigosidad esperada (He) 0.905 (PceGA34), donde el promedio es de 0.780, este mismo locus fue el más polimórfico (PIC=0.912), se puede considerar el locus AB es menos informativo con el valor más bajo (PIC=0.583).Y el (PIC = 0.788) promedio para esta investigación (Cuadro 5.12)

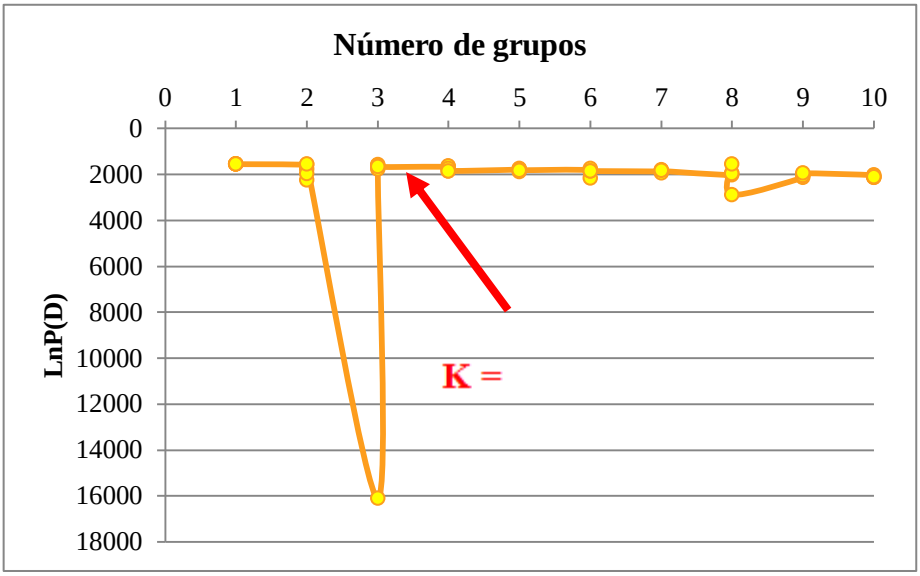
Las frecuencias génicas permanecerían constantes de una generación a otra (Hardy, G. et al. 1980), y el Equilibrio de Hardy-Weinberg permitió constatar significativo (pchgms3), (PceGa34 y el (PS12A02), (pchgms2) no significativo estadísticamente.

En estudios realizados por (Bouhadida, L. 2007) el promedio de la heterocigosidad esperada (He) en melocotonero fue de (0.57). Y el PIC (Polymorphic Information Content), indicador de calidad de un marcador utilizado para el reflejo del polimorfismo de cada par de *primers* (Botstein, D. et al. 1980), valor de PIC superior a 0.50 indica que un marcador es muy informativo. (Pairon, C. et al. 2005)

El capulí es una especie altamente heterocigótica con orígenes de aloploides nos explica la tetraploidia de la especie basados en los promedios de Heterocigosidad esperada (He) y el (PIC). (Pairon, C. et al. 2005)

4.8.5. Análisis de agrupamiento

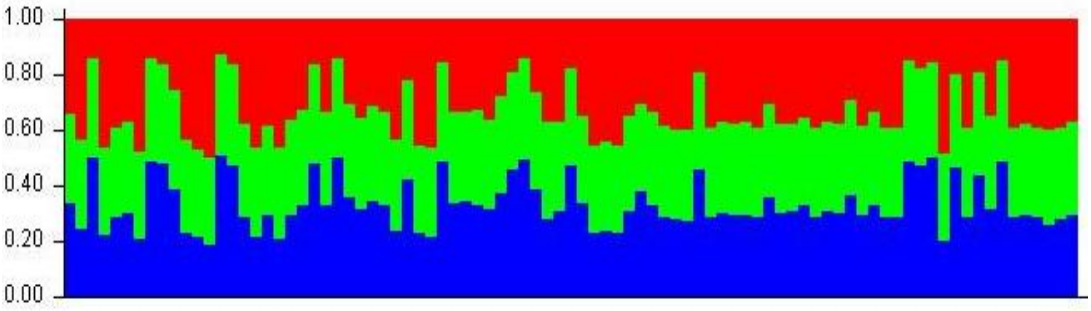
Gráfico.4.15. Obtenido mediante el programa Structure versión 2.3.4, de la media de los valores Ln P (D) convertido en Excel y se obtiene el valor K = 3, que se agrupan las accesiones.



El coeficiente de accesiones que forma el grupo K= 3 representado por una línea vertical dividido en segmentos. El resultado obtenido el K = 3 sugieren una estructura más compleja conformado entre los tres grupos bien definidos (Gráfico. 4.15).

En estudios realizados por (Mariette, S. et al. 2010) existen árboles mantenidos por los agricultores alrededor de los predios agrícolas con frutos grandes y el capulí con frutos pequeños que crece de forma silvestre.

Gráfico. 4.16. Gráfico de barras muestra los coeficientes de pertenencia de las accesiones de capulí ordenados a un grupo determinado. Se muestran las 147 accesiones de capulí los coeficientes de pertenencia y (los colores, rojo, verde y azul) muestran cada una de las poblaciones y subpoblaciones.

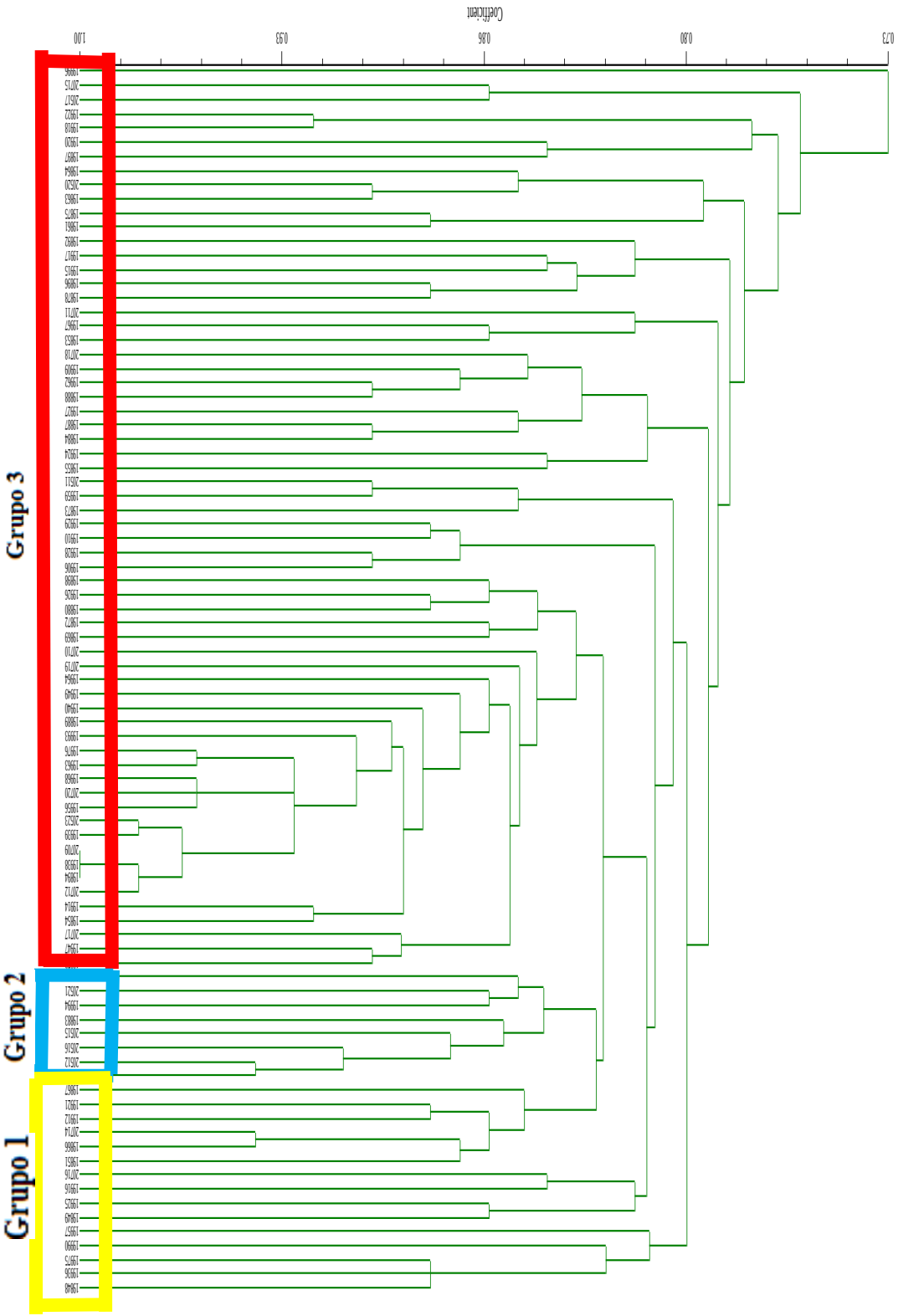


Resultados obtenidos de las muestras de cada poblaciones caracterizadas por (Mariette, S. et al. 2010) en las localidades de México, representados por (rojo, azul) representa subpoblaciones de capulí plantados alrededor del predio y el color verde a subpoblaciones de capulíes silvestres (Gráfico. 4.16).

Mediante resultados obtenidos en esta investigación las subpoblaciones de capulíes en el Ecuador, podría relacionarse las colores rojo y azul representan a las accesiones que conforman el Grupo 1 de frutos grandes llamados capulí chaucha negro o rojo y el capulí cuadrado o coco de las accesiones del grupo 2, 3 representados por el color verde.

El análisis de agrupamiento genético realizado en el programa Exeter NTSYSpc 2.11. (Rohlf, J. 2008) usando la distancia de Nei and Li (1979) y el método agrupamiento UPGMA (Unweighted Pairwise Group Method) se determinó en el cual se presentó gráficamente la certeza de las relaciones genéticas de 147 accesiones de capulí (Gráfico 4.17).

Gráfico. 4.17. Dendograma de 87 accesiones de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) incluidas en el estudio basado en una análisis de agrupamiento de UPGMA utilizando la matriz de similitud generada con el coeficiente de Nei y Li después de amplificación con 5 pares de microsatélites.



En el (Gráfico 4.17) se aprecia los clústeres, con los tres respectivos grupos agrupados de acuerdo a las localidades y áreas geográficas de origen representados el: 58 accesiones 66.67% (Grupo 1), 19 accesiones 21.83% (Grupo 2) y 11 accesiones 12.46% (Grupo3) (Anexo. 8). Ubicados en la localidades de sierra centro, sur y norte del país.

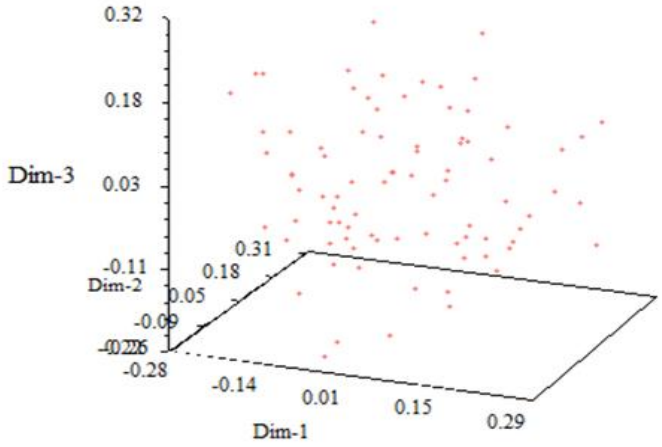
Para corroborar con los resultados obtenidos por (Mariette, S. et al. 2010) el grupo 1 conformó por accesiones de capulí de frutos grandes (llamados capulí chaucha rojo o negro) y el (capulí cuadrado o coco) de accesiones silvestres para el segundo tercer grupo.

Así también en la caracterización isoenzimática de variedad de cereza (***Prunus cerasus*** L.) se formó un dendograma con 5 grupos y estos grupos no demostraron diferencias debido estos patrones presentan características genéticas exactamente iguales. (Cordeiro, L. et al. 2008)

Mientras el clúster obtenido por (Wunsch, A. 2003) agrupa las variedades en grupos principales de acuerdo con su área geográfica, origen y área de cultivo caracterizadas mediante marcadores microsatélite.

4.8.6. Análisis de Coordenadas Principales (PCO)

Gráfico.4.18. Análisis de coordenadas Principales, se distingue el grupo de accesiones agrupadas, que comprenden entre centro, sur y norte de la región interandina del Ecuador (se observa en los cuadro 4.18.1; 4.18.2 y 4.18.3).



El análisis de componentes principales con los cuales se extrae el 5.45% de la variabilidad total y 83.12 % el (componente 1), 7.54% (componente 2).

La agrupación 1, conformado por poblaciones de capulí ***Prunus serotina*** Ehrh. Ubicados entre las provincias de: Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo y Ecu 20512; 20514; 20515; 20516; 20520 accesiones de la provincia de Imbabura, localizados en la entre de la dimensión uno, dos y tres del análisis de coordenadas principales.

El Grupo 2, conformado por poblaciones de capulí ***Prunus serotina*** ssp (Cav) (Vaugh, M. 1951), separadas de las accesiones del Grupo 1. Son las accesiones que se dispersaron hacia las provincias del norte y sur. Además las accesiones de la provincia de Chimborazo e Imbabura los Ecus: 19962; 20715; 20511 se encontró ampliamente distante del resto de las accesiones de toda la población de la especie en eje X (Gráfico 4.18).

La variabilidad genética de las especies del género *Prunus* es amplia debido a su origen la mayoría de estas especies son de clima templado que fueron trasladados de un continente a otro, a través de rutas comerciales. (Dosba, F. et al. 1994)

Gráfico 4.18.1. Distribución de las accesiones del Grupo 1, conformado por las accesiones de las provincias de: Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Imbabura y Bolívar.

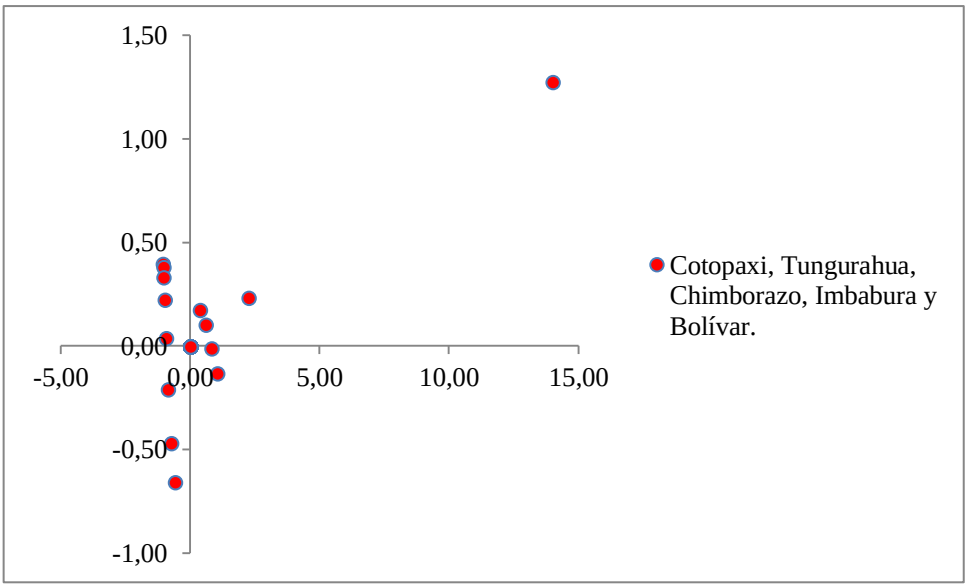


Gráfico 4.18.2. Distribución de las accesiones del Grupo 2, conformado por las accesiones de las provincias de: Cañar, Azuay y Loja.

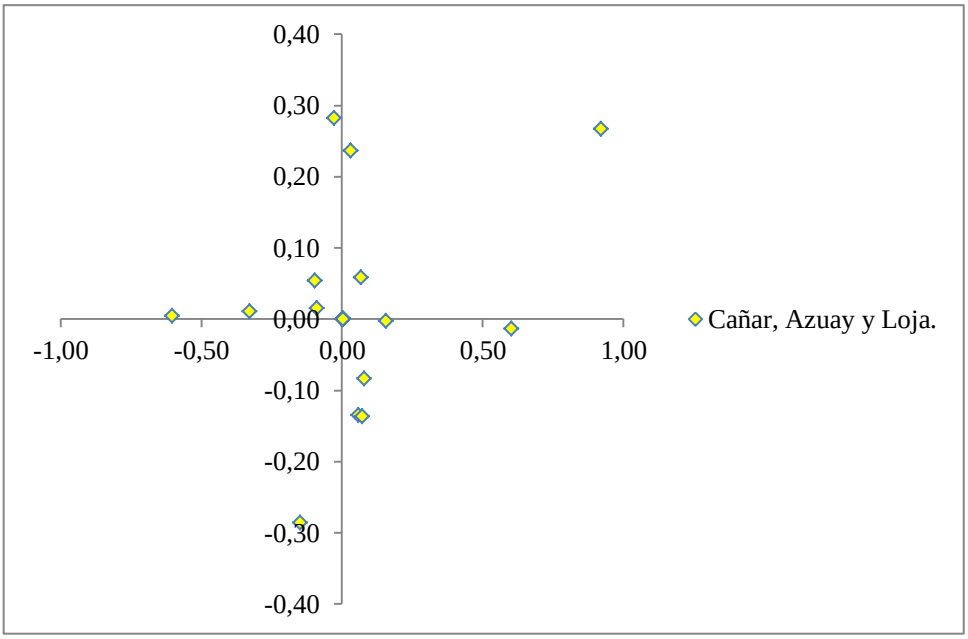
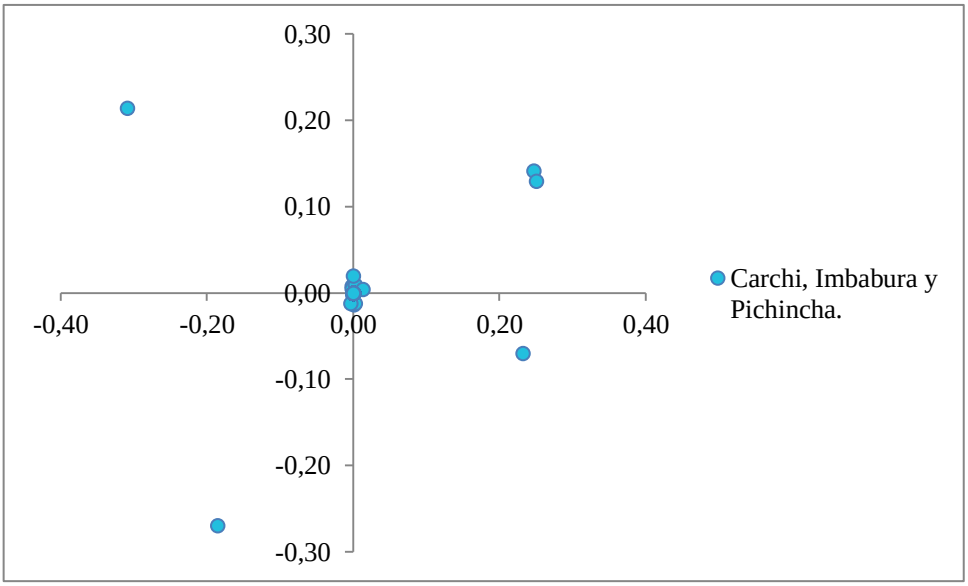


Gráfico 4.18.3. Distribución de las accesiones del Grupo 1, conformado por las accesiones de las provincias de: Carchi, Imbabura y Pichincha.



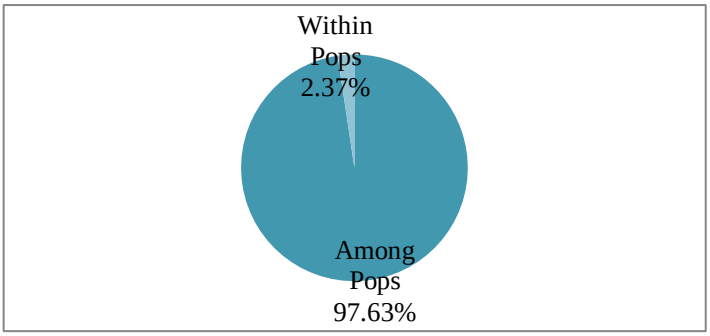
4.8.7. Análisis Molecular de Varianza (AMOVA)

Cuadro 5.13. Análisis de Varianza Molecular de 147 accesiones de capulí analizadas con 5 *primer* microsatélites.

Fuentes de variación	Df	Suma de cuadrados	Componente de la varianza	%	Prob.
Entre poblaciones	1	2.262	2.262	97.633%	
Dentro de poblaciones	86	203.5	2.366	2.366%	0.51
Total	87	205.762			

El análisis de varianza molecular permitió ddeterminar las diferencias existente dentro de un mismo grupo y entre poblaciones debido al alto nivel de confianza dado por los resultados del test de F_{ST} con el fin asegurar la validez de los agrupamientos obtenidos en el dendograma, las comparaciones de las poblaciones se realizó de acuerdo a los resultados obtenidos en la estructura de poblaciones.

Gráfico 4. 19. Representación gráfica de la distribución en porcentajes dentro y entre poblaciones.



El índice de fijación de subpoblaciones (F_{ST}) fue 0.062 indica la existencia de una diferenciación genética entre las subpoblaciones debido a la variación en las frecuencias genéticas y el coeficiente de diferenciación de genes analizados reducción de los heterocigotos por la subdivisión generada en la población. (Nei, M. et al. 1978)

El (0.010) valor de (F_{ST}) manifiesta que existe una mayor diferenciación entre las poblaciones de accesiones silvestres y cultivadas dentro de una población. (Mariette, S. et al. 2010)

Efectivamente la especie como el melocotonero dentro de la familia rosáceae es autocompactible y se autopoliniza en condiciones naturales y podría tener polinización cruzada menor del 5% (Fogle, H. 1977), para una mejor comprensión de la desviación del Equilibrio de Hardy-Weinberg la autofertilización y la fertilización cruzada hace que el nivel de F_{ST}.de la especie estudia sea más eficiente.

4.8.8. Distancia genética de Nei

Los componentes de varianza son utilizados para calcular el índice de fijación mediante Fst, entre los tres grupos, el valor más alto de (D=2.37) corresponde al grupo 1, mientras que el (97.63) al grupo 2 y el grupo 3, respectivamente, estos valores de acuerdo a la varianza que corresponde al grupo 1 y dos son muy similares, con diferencias al grupo 3 respectivamente.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Una vez realizado los diferentes análisis estadísticos y moleculares se sintetizan las siguientes conclusiones:

- ✓ El capulí, originario de América, en el Ecuador se conservan en toda la región interandina, mantenido desde tiempos prehispánicos, por los pueblos indígenas, alrededor de sus predios agrícolas.

- ✓ La caracterización morfoagronómica *in situ* presentó diferencias importantes entre las provincias y las localidades.

- ✓ Del análisis de conglomerados, se obtuvieron tres grupos de capulí, en función de los 27 descriptores cuantitativos.

- ✓ El grupo 3 tuvo el 70% de las accesiones de Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo de hábito de crecimiento extendido y colgante y el 29.08%, del grupo 1 y 2, de hábito de crecimiento erguido y semierguido del resto de accesiones de las 7 provincias restantes.

- ✓ La mayor cantidad de semillas por accesión colectadas se encontró en las provincias de: Cotopaxi 31.96%; Tungurahua 19.05% y Chimborazo 17.69%. Estás semillas estan siendo conservadas en el banco de germoplasma INIAP-Ecuador.

- ✓ Los marcadores microsatélites de tipo SSRs permitierón determinar polimorfismo con la utilización de 4 primers nucleares y 1 cloroplasmático derivados de especies prunus.

- ✓ En la diversidad genética de capulí mediante el número de bandas obtenidas en total amplificaron 55 alelos con las 87 accesiones. De acuerdo al Equilibrio de

Hardy- Weinberg, permitió constatar que se trata de una especie altamente heterocigótica.

- ✓ El valor del (Contenido de Información Polimorfica) PIC 0.50 permitió, constatar la eficiencia de los primers. Si bien es cierto, debe existir de 1 a 4 alelos por locus ya que se trata de una especie tetraploide, de los 5 pares de primers el pchpgm3 obtuvo 4 alelos y en el resto se encontraron, 2 alelos por locus.

- ✓ Mediante la matriz de similitud de distancia de Nei, se agruparon para el grupo 1 y 2 las accesiones representadas geográficamente de la sierra centro y sur. Sin embargo el grupo 3, tuvo las accesiones de la sierra norte con variabilidad genética reducida y moderado respectivamente.

- ✓ De acuerdo al análisis de componentes principales la mayoría de las accesiones agrupadas por provincias se ubica en la sierra centro ya que el pool genético pudo haber llegado a estas provincias en un principio. Desde estas localidades pudieron haber sido trasladados mediante el comercio hacia el sur y norte del país.

5.2. RECOMENDACIONES.

- ✓ Realizar una evaluación morfoagronómica en las plantaciones *in situ* de las provincias de Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo, desde los inicios de floración hasta el cuajado y formación del fruto con fines de fitomejoramiento.

- ✓ Plantar alrededor de los predios ya que demuestran un excelente desarrollo y adaptación a los distintos tipos de suelos de la sierra del Ecuador.

- ✓ Realizar refrescamiento de semillas con las accesiones colectadas en toda la región sierra del Ecuador conservadas en el banco de germoplasma del INIAP en las provincias de Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo y Bolívar por las condiciones climáticas y edáficas aptas que necesita para el desarrollarse los árboles de capulí.

- ✓ Colectar mayor número de muestras de primordios foliares con el fin de obtener mayor número de alelos por locus, dentro de la diversidad genética.

- ✓ Al menos duplicar el número de primers de tipo (SSRs) microsatélites con el fin de obtener mayor eficacia en la amplificación.

- ✓ Trabajar con programas estadísticos moleculares específicos para especies tetraploides y de esa manera, evitar la pérdida de eficiencia de los resultados obtenidos.

VI. RESUMEN Y SUMMARY.

6.1. RESUMEN.

En términos de conservación, el capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) es una de las más importantes dentro de las especies forestales distribuidas en las 10 provincias de la región sierra del Ecuador, debido a su riqueza genética, y contribución al bienestar familiar. Sin embargo la deforestación causado por los habitantes, ha reducido la diversidad de esta especie *in situ.* Se realizó la caracterización morfoagronómica *in situ* mediante descriptores cuantitativos y cualitativos, que describen al tallo, ramas, hojas, flores y frutos. A partir del análisis de conglomerados se determinó que el grupo 1 posee frutos grandes llamados capulí chaucha negro o rojo localizados en las provincias de Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo y para la sierra sur y norte son de frutos pequeños llamado capulí cuadrado o coco. Se encontró que el Ecuador cuenta con dos subespecies botánicas: P. *serotina* Ehrh y P. *serotina* ssp capulí (Cav) que presentan características morfológicas diferentes, las semillas de estas accesiones fueron recolectadas el 68.70% de la sierra centro; y sur el 31.96% del 100%, mismas que se conservan en el banco nacional de germoplasma, del INIAP-Ecuador. La obtención de datos de diversidad genética y el supuesto punto de origen de la llegada de capulí al país y su posterior desarrolló del árbol, se desarrolló mediante el uso de secuencias microsatélites desarrollados en especies cercanas. Las expectativas observadas de las bandas de amplificación se encontraron 55 alelos en total con los 4 pares de primers nucleares y 1 cloroplasmástico desarrollados en las 87 accesiones. Los grupos obtenidos y representados mediante un dendograma con el valor promedio de similitud 2.366 de distancia genética para el grupo 3; y el grupo 1 y 2, mantienen similitud. Además se trata de una especie tetraploide y se presume que se originó mediante la hibridación de P. *ceraus* L. y P. *avium* por lo que la determinación de parentales es difícil.

6.2. SUMMARY

In terms of conservation, the cherry tree (Prunus serotina Ehrh.) Is one of the most important within forest species distributed in 10 provinces in the highlands of Ecuador region because of its genetic diversity, and contribution to family welfare. However the deforestation caused by the inhabitants, has reduced the diversity of this species in situ. The morphoagronomic situ characterization was performed by quantitative and qualitative descriptors that describe the stem, branches, leaves, flowers and fruits. From the cluster analysis determined that the Group 1 has large fruits called black or red chaucha capulí located in the provinces of Cotopaxi, Tungurahua and Chimborazo and the southern highlands and northern fruits are small square called capulí or coconut. We found that Ecuador has two botanical supespecies: P. serotina and P. serotina Ehrh ssp capulí (Cav) that have different morphological characteristics, the seeds of these accessions were collected on 68.70% of the central highlands; south and the 31.96% of 100%, which are being kept in the national genebank INIAP-Ecuador. Data acquisition of genetic diversity and the alleged point of origin of the arrival of capulí the country and later developed tree was developed using developed microsatellite sequences in closely related species. Observed expectations amplification bands fifty 55 alleles were found in all the four pairs of primers, one nuclear cloroplasmástico accessions 87 developed. The groups obtained and represented by a dendrogram with the average value of similarity distance genetic 2,366 for group 3; and the group 1 and 2 remain similar. Furthermore it is a tetraploid species and presumably originated by hybridization of P. ceraus L and P. avium so parental determination is difficult.

VII. BIBLIOGRAFÍA.

1. ABADIA, T., BARRETA, A., 2001. Caracterización evaluación de recursos fitogenéticos. Uruguay, Programa Cooperativo para el desarrollo Tecnológico agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR).

2. APESAM (Asociación Provincial de Productores Ecológicos de San Marcos). 2006. Biodiversidad, Soberanía alimentaria y desarrollo de mercados alternativos. Programa Regional. Consorcio: AGRUCU (Bolivia) – ETC Andes (PERÚ) – EcoCiencia (Ecuador) (BioAndes). Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). Perú. P.17.

3. ÁLVARES, J. 1999. El Cultivo del Cerezo. Facultad de Agronómica. Cátedra de Fruticultura. Amanaque del Banco de Seguros del Estado. Editorial. Santiago. Santiago de Chile. Pp. 247-248.

4. ATLAS. (Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana). 2009. D.R. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Pp. 34, 45.

5. ARANGUREN, J., MÉNDEZ, JORDANA, J. 2001. Utilización de Marcadores de ADN (Microsatélites) en Poblaciones de Animales Domésticos en Peligro de Extinción. Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona. Programa de Conservación de Especies. Pp. 5-6

6. AVITIA, E., MURATALLA, A. 1982. Estudio de germinación de capulín avances en la enseñanza en la educación. Colegio de Posgraduados. México. Vol. 256-267 XV. 73-74: 133-385.

7. AWAD, M., WAGENMAKERS, A., DE JAGER. 2001. Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apples. *Sci. Hort*. 88:289-298.

8. AZOFEIFA, T. 2006. Uso de Marcadores Moleculares en Plantas: Aplicaciones en Frutales del Trópico. Agronomía Mesoamericana. México. Vol. 2: 221-242.

9. BECCACECI, M., BRUNICARDI, S., CAPUTO, A., LUNI, P., MELAGRANA, A. 2006. PAÍS, S., GIOVANNINI, F., Italia. La Cocina Mediterránea. Edición. 2-84308-359-2. Impreso en China. P. 166.

10. BROOKFIELD, H., PADOCH, C., PARSON, H., STOCKING, M. 2002. Cultivating Biodiversity. Understanding, Analyzing and Using Agricultural Diversity. London, The United Nations University, ITDG. Publications. Pp. 35-37.

11. BRITO, B., VÁZQUEZ, W., 2013. Manual para el Control de Calidad en la Pre y Pos Cosecha de las Frutas. Documento Interno del Departamento de Nutrición y Calidad y del Programa Nacional de Fruticultura. INIAP. Quito, Ecuador. P. 18.

12. BOSTSTEIN, D., WHITE, M., SKOLNICK, R., DAVIS, W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. American Journal of Human Genétics. Vol. 32: 314-331.

13. BORJA, A., LASSO, S. 1990. Plantas nativas par reforestación en el Ecuador. Editorial Fundación Natura. – AID, EDUNAT III. Quito. Ecuador. 1ra Edición. P. 64.

14. BROWN, M., GEORGE, J., WILSON, C. 1979. Rapid evolution of mitochondrial DNA. *Procariotas. Natl. Acad. Sci.* USA. Vol. 76: 443-444.

15. BOUHADIDA, 2007. L. Análisis de diversidad genética en melocotonero (***Prunus persica*** L.) Batsch y en patrones del género ***Prunus***. Tesis previo doctoral. Universidad de Zaragoza. Estación Experimental de Aula Dei – Zaragosa. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. P. 73.

16. BURNIE, G., FORRESTER, S., GRIEIG, D., GUEST, S., HARMONY, M., HOBLEY, S., JACKSON, G., LAVARACK, P. 2003. Botánica. Guía

ilustrada de plantas más de 10.000 especies de la Ala Z y Como cultivares. Edición. Alemana. Impreso. China. P. 23.

17. CAMBELL, P. 1996. Evaluation and rhetorical structure: The case of building reviews in the discourse of architects. Discourse analysis and terminology in languages for specific purposes. P. 45.

18. CALVO, I. 2009. El cultivo de ciruelo (***Prunus doméstica***). Área: Manejo integrado de cultivos / frutales de altura. Proyecto Microcuenca Plantón – Pacayas. INTA (Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria). Municipalidad de Alvarado. (INIA) Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria España. Boletín técnico No. 9.

19. CLAVERIE, J. 2002. Mejoramiento genético varietal de cerezo en Francia, Pontificia Universidad de Católica de Valparaíso. Seminario Cultivo del Cerezo en la Zona de Centro norte de Chile¨. Quillota. Pontificia Universidad de Católica de Valparaíso, 25 de Noviembre de 2002. Pp. 1-15.

20. CALERO, L. 2011. Estudio de la naturaleza química de los compuestos volátiles de aromas: identificación de aquellos presentes en varias especies frutales endémicas del Ecuador. Universidad San Francisco Quito. Tesis Magister en Tecnología. Ecuador. Quito Ecuador. P. 40.

21. CALDERÓN, R., RZENDOWSKI, J. 2005. La Flora Fanerogámica del valle de México, edición. CONABIO. Pátzcuaro. Michoacán, México

22. CASAS, A., SCHEINVAR, L., GALLEGOS, C. 2007. Manejo In situ y domesticación de plantas en Mesoamérica. Ann Bot 100: 1101-1115 Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales (OCVV) (2006) Protocolo para distinción, la homogeneidad y la prueba de estabilidad de ***Prunus avium*** L. Cereza dulce. OCVV Europa, Bélgica.

23. CONABIO. 2012. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. La biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)/Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE). Edición. Primera. Impreso en México. Guanajuato. México. Pp. 1, 29-30.

24. COSTA, C. 2010. Caracterización Molecular de maní (***Arachis hipogea***, L) del Banco Nacional del Germoplasma de la Estación Experimental Santa Catalina INIAP-Ecuador. Tesis previa a la obtención de título de ingeniera en Biotecnología. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolqui. Ecuador. P. 14.

25. (CONSORCIO GTZ/FUNDECO/IE), CONVENIO DE COOPERACIÓN TÉCNICA NO REEMBOLSABLE ATN/JF-5887-RG. 2001. Conservación *Ex situ* Estrategia Regional de Biodiversidad para los Países del Trópico Andino. Comunidad Andina Banco Interamericano de Desarrollo. La Paz - Bolivia. P.16.

26. COCHRAN, W. G. 1954. Some methods for strengthening the common χ^2 tests. Biometrics. Pp. 10, 417 – 451.

27. CORDEIRO, L., MORALES, R., BARTOLO, A., ORTIZ, M. 2008. Caracterización morfológica de cultivares de cerezo dulce y amargo en un banco de germoplasma en Portugal. Genet Resour Crop. Vol. 55: 593-601.

33. CUZCO, H. 2008. Comportamiento en campo de cuatro variedades de duraznero y tres variedades de ciruelo con abono químico y orgánico, en Picalquí- Tumbaco, Provincia de Pichincha.30 p.

28. CROUCH, K., CROUCH, J., MADSEN, S., VUYLSTEKE, D., ORTIZ, R. 2000. Comparative analysis of phenotypic and genotypic diversity among plantain landrace (***Musa*** *spp*., AAB, group). Theoretical and Applied Genetics 101(7):1056-1065.

29. CHAPARRO, J., WERNER, D., MALLEY, O., SEDEROFF, R., 1994. and ederoff, R.R. 1994. Targeted mapping and linkage analysis of morphological isozyme, and RAPD markers in peach. Theor. Appl. Genet. Vol. 87: 805-815.

30. CHAVEZ, A. 2006. Existe poca información sobre el comportamiento silvicultural de cedro de montaña (***Cedrela montana***), aliso (***Alnus acuminata***) sangre de drago (***Crotton leccheri***) en el crecimiento en plantación pura y en asocio con maíz, debido a los mínimos recursos para generar investigaciones en forma secuencial con proyección a mediano y largo plazo. Imbabura. Otavalo. Ecuador.

31. CHISAGUANO, L. 2010. Evaluación de la aplicación de tres productos inductores de brotación en capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.), Comunidad Quilajaló Universidad Técnica de Cotopaxi. Tesis de grado previo a la obtención del título de ingeniero agrónomo. Latacunga. Ecuador. Pp. 7-19.

32. CHUCURI, J. 2013. Comunicación personal.

33. CHUCURI, J., MONTEROS, A., BORJA, E., TAPIA, C. 2013. Colecta y Caracterización morfológica *in situ* de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.) del banco Nacional de Germoplasma del INIAP-Ecuador. Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos del Instituto Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP*)*. Quito. Ecuador. NUM PAG.

34. DENAREF. Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos y Biotecnología Estación Experimental Santa Catalina. Cantón Machachi. Sector Cutulagua. INIAP. Quito. Ecuador.

35. DE VICENTE, M., TRUCO, M., EGEA, J., BURGOS, L., ARÚS, P. 1998. RFLP variability in apricot (***Prunus armeniaca*** L.). Plant Breed. Vol. 117: 153-158.

36. DICKSON, E., ARUMUGANATHAN, K., KRESOVICH, S., DOYLE., J. 1992. La variación del contenido de ADN nuclear dentro del Rósaceae. Am J Bot. Vol. 79:1081-1086. CrossRef.

37. DOWNEY, S. 1999. Genetic diversity of ***Prunus serotina*** and the evaluation of other wild species for breeding sour cherry resistance to cherry leaf spot. MS thesis, Mich. State Univ. East Lansing.

38. DOWNEY, S., Iezzoni, A. 2000. Polymorphic DNA markers in black cherry (***Prunus serotina***) are identified using sequences from sweet cherry, peach and sour cherry. J. Amer. Soc. Hort.Sci. USA. Vol. 125:76-80.

39. DOSBA, F., BERNHARD, R., ZANETTO. A. 1994. Importance des ressources genétiques de ***Prunus***. CR Acad. Agri. Fr. Vol. 80: 45-57.

40. EGUIARTE, L., SOUZA, V., AGUIRRE, X. 2007. Ecología Molecular. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. P. 608.

41. ENRÍQUEZ., G, CASTILLO., R, ESTRELLA., J, TAPIA., C. 1991. Descripción y evaluación de los recursos genéticos. In Técnicas para el manejo y uso de los recursos genéticos vegetales. Editorial Porvenir. Quito. Ecuador. P. 9.

42. ESTRELLA, J., MUÑOZ, E., TAPIA, C., MAZON, N., VELÁZQUEZ, J. 1995. INFORME NACIONAL PARA LA CONFERENCIA TECNICA INTERNACIONAL DE LA FAO SOBRE LOS RECURSOS FITOGENÉTICOS. Quito. Ecuador. Pp. 22-25.

43. ESPINOSA, A., PIJUT, M., MICHLER, C. 2006. Utilización de brotes adventicios en regeneración y enraizamiento de ***Prunus serotina*** in vitro. Hort Sci. Vol. 41: 193-201.

44. EXCOFFIER, L., SMOUSE, L., QUATTRO, J. 1992. Analysis of Molecular Variance Inferred frommetric distances among DNA haplotypes:

application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131: 479-491.

45. FABARA, J. 2012. Comunicación personal.

46. FERREIRA., M., GRATTAPAGLIA, L. 1998. Introducción al uso de marcadores Moleculares en el Análisis Genético. Embrapa- Cenargen. Brasilia, Brazil.

47. FORBES, D. 1990. Auto incompatibilidad y cross-incompatibilidad en cerezo negro *(**Prunus serotina*** Ehrh.*)*. Disertación de la Universidad de Florida.

48. FONT, I., FORCADA, J., BOSQUE, J., BETRÁN, Y., MORENO, M. 2012. Influencia de patrones de ciruelo sobre las variedades R.C. de Bavay y R.C. Tardía de Chambourcy. Se han evaluado características agronómicas y la calidad del fruto durante dieciocho años de estudio. Departamento Podología. Estación Experimental de Aula Dei.Csic. Zaragoza. España.

49. FUENTES, A. 2005. Extracción, Cuantificación y Estabilidad de Colorantes Naturales Presentes en los Frutos de ***Prunus*** *capulí* Cav. (Cereza), ***Rubus urticaefolius*** Poir (Mora) y ***Sambucus canadensis*** L. (Sauco) Como Alternativas Naturales de Consumo de los Colorantes Artificiales Rojo No.40, Rojo No.3 y Rojo No. 2, En Bebida en el Rango de pH 3, 4 y 5. Para optar título de Químico. Universidad de San Carlos de Guatemala. Pp. 16 -17 58.

50. FLORES, J. 2008. Estudio de capulí e introducción en la cocina de la sierra Ecuatoriana. Tesis previa a la obtención de título de administración gastronómica. Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito. Ecuador. Pp. 6, 10, 34.

51. FRESNEDO, J., SEGURA, S., MURATALLALUA, A 2010. Morphovariability of capulín (***Prunus serotina*** Ehrh.), in the central-

western region of Mexico from a plant genetic resources perspective. Genétic Resources and Crop Evolution vol. 58, 481 – 495.

52. FREIRE, A. 2004. Botánica Sistemática Ecuatoriana, Missouri. Botánical Garden. FUNDACYT (Fundación para la Ciencia y la Tecnología), QCNE (Herbario Nacional del Ecuador), RBL (Red Latinoamericana de Botánica), FEBID (Fundación Ecuatoriana para la Investigación y desarrollo de la Botánica). St. Louis Aissouri. I-ix. Pp. 106, 107.

53. FENDRI, M. 2008. Uso de Marcadores Microsatéllites (SSRs) para el análisis de la variabilidad molecular y la identificación de las variedades de olivo del banco de germoplasma de ¨ Boughrara¨ (SFAX, Túnez). Tesis presentada para optar al título de MASTER OF SCIENCE. Universidad de Córdova. Argentina. Pp. 16-17.

54. FOGLE, H. 1977. Self-pollination and its implication in pecah improvement. Fruit Var. J. 31. 74-75.

55. GAVILANES, F. 1999. Evaluación de siete pregerminativos y seis sustrato para germinación de la semilla de capulí. Tesis previo obtención de título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Agronomía. Ambato. Ecuador. Pp. 5-10.

56. GONZALES, E. 2002. ´´Proyecto Estrategia Regional de Biodiversidad para los Países del Trópico Andino´´. Convenio de Cooperación Técnica no Reembolsable ATN/JF-5887/RG CAN-BID. Maracay. Venezuela. P. 46.

57. GOWER, J. 1967. Acompariso of some methods of clusters analysis. Biometrics. Vol. 23:623-637.

58. GUDALUPE, J. 2013. Análisis de la diversidad genética de capulí (***Prunus serotina*** subsp. capulí) en la región interandina del Ecuador mediante marcadores microsatélites.Tesis previa a la obtención de título de Licenciada en Biología. Universidad San Francisco de Quito. San José de Cumbaya. Ecuador. P. 17.

59. HARVEY, D., BRADSHAW, J., GRATTAPAGLIA, 1995. Mapeo de QTL En Interespecífica Híbridos de Árboles Forestales. Centro de Horticultura Urbana, Caja de 3541 15, la Universidad de Washington, SeattleWa 98195-4115, EE.UU. CENARGEN-EMBRAPA, SAIN. Parque Rural. Brasil. 02372. CP. 70879-970.

60. HARDY, G., WEINGERG, H. 1980. Comentarios anecdótico, históricos y críticos sobre genética. Gonville and Caius College. Cambridge CB2TA. Reino Unido. Genetictics. Vol 179. N0. 3. 1143-1150.

61. HARPER, A., MACDONALD, J., BURTON, J., CHEN, D., BROSOFSKE, C., SAUNDERS, S., EUSKIRCHEN, D., ROBERTS, S., JAITEH , P,. ESSEN. 2005. Edge influence in forest structure and composition in fragmented landscapes.Conservation Biology. 19:768-782.

62. HEMMANT, M., WEEDEN, N., MANGANARIS, A., LAWSON, D. 1994. Molecular marker linkage map for apple. J. Hered. 85: 4-11.

63. HERNANDEZ, J. 2012.Caracterización Morfoagronómica de la variedad de mango panadés (***Mangifera indica*** L.) en Finca la Granja Municipio de San Luis Talpa Departamento de la Paz. Previo a la obtención de título de ingeniero agrónomo. Universidad de el Salvador. San Salvador. 14 p.

64. HIDALGO, R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales. *In* TL Franco; R Hidalgo eds. Análisis estadísticos de datos de caracterización morfológica de recursos filogenéticos. Cali, CO. IPGRI (Instituto de Recursos Fitogenéticos IT). P. 89.

65. HOCHMAIER, A. 2010. Desarrollo y evaluación de métodos prácticos no destructivos para la estimación del Área Foliar (AF) por árboles y cálculo del Índice de Área Foliar (IAF) en montes de cerezo (***Prunus avium*** L.). Tesis previo a la obtención el título de master of scientia en fruticultura de clima templado-frio. University degli Studi di Bologna. P. 19.

66. HOFSTEDE, R., LIPS, J., JOSGSMA, W. 1998. Geografía Ecología y Forestación de la Sierra Alta del Ecuador. Quito. Ecuador. Edición. Editora. Abya-Yala. Quito. Ecuador. Pp. 21, 106-108.

67. HOUGH. R. 1957 Enciclopedia de maderas americanas. Nueva York, EE.UU.: R. ortográfico and Sons.

68. IBGRI, 2002. Descriptors for groundnut. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. Pp. 14-15.

69. INTRIAGO, D. 2013. Análisis de la diversidad genética de capulí (***Prunus serotina*** subsp. capulí) en la región interandina del Ecuador mediante marcadores microsatélites.Tesis previa a la obtención de título de Licenciada en Biología. Universidad San Francisco de Quito. San José de Cumbaya. Ecuador. Pp. 17-23.

70. INFANTE, B., JARA, A., RIVERA, O. 2008. Árboles y arbustos más frecuentes de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Herbario Nacional Colombia (COL). Instituto Nacional de Ciencias Naturales (INCN). Edición Unilibros. Bogotá. P. 27.

71. IVETTE, S., AGÜERO, T. 2008. Informe Nacional Sobre Estado de los Recursos Fitogenéticos para la Agricultura y la Alimentación. Mecanismo Nacional de Intercambio de Información sobre la Aplicación de Plan de Acción Mundial para la Conservación y Utilización Sostenible de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura. Santiago de. Chile. Pp. 20 - 21.

73. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI, 2012)

74. JACOME, L. 2014. Comunicación personal.

75. JIMENEZ, M., CASTILLO, I., AZUARA, E., BERISTAIN, C. 2011. Antioxidante and antimicrobial activity of capulín (***Prunus serotina***

subsp capulín) extracts. Rev. México. Ingeniería. Química. Vol.10. No1. México. P. 221.

76. LASCURAIN, M., AVENDAÑO, S., DELAMO, A. 2010. Guía de frutos silvestres comestibles en Veracruz. Fondo Secretarial para la Investigación, el Desarrollo y la Innovación Tecnológica Forestal, Conafor- Conacyt, México. P. 121.

77. LEVITUS, G., ECHENIQUE, V., RUBINSTEIN, C., HOPP, E., MROGINSKI, L. 2010. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. (ArgenBio)Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. (INTA) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Ministerio de Agricultura y Pesca. Argentina. P. 73.

78. LEÓN, J. 2000. Fundamentos Botánicos de Los Cultivos Tropicales. Del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Edición tercera revisada y aumentada. San José. Costa Rica. P. 183.

79. LIE, Q., OSADA, M., KASHIHARA, K., HIROHASHI, A., KIJIMA, 2000. Effects of ultraviolet irradation on genetical inactivation and morphological structure of sperm of the Japanese scallop, ***Patinopecten yessoensis***. *Aquaculture* 186: 233-242.

80. LOWE, A., GILLIES, A., WILSON, J., DAWSON, K., 2000. Conservation genetics of bush mango from central/west Africa: implications from random amplified polymorphic DNA analysis. Molecular Ecology. Vol. 9:7831 - 225.

81. LONGAR, M. 2004. Frutos Prohibidos. Pérdida de biodiversidad de especies frutales en México. Centro de Investigaciones Económicas, Administrativas y Sociales (CIECAS). Instituto Politécnico Nacional. Edición. Primera. Impreso. México. P. 15.

82. LUZURIAGA, T. 1996. Curso de Edafología General. Escuela Politécnica del Ejercito (ESPE). Instituto Agropecuario Superior Andino (IASA).

Facultad de Ciencias Agropecuarias. Editorial. Politécnico. ESPE. Sangolqui. Ecuador. Pp. 87-114.

83. MANZILLA, P., SALINERO, C., SABARÍS, M., PEREZ, R., RODRÍGUEZ, J. 2003. Medidas Culturales Preventivas para el Control Sanitario en árboles y arbustos: poda, cirugía arbórea e injerto. Cancillería de la Política Agroalimentaria e Desenvolvimiento Rural. Edición 2da. Corregida y aumentada. Impresión. Gráficas Anduriña. Santiago de Chile. P. 43.

84. MARTÍNEZ, N., SEGARRA, J., MORAGUES, G., MERLO, M., MOTA, F. 2013. Fitogeografía y Variabilidad Genética de ***Lepidium Subulatum*** L. a través de SSRR específico: hacia una estrategia para la conservación de la flora Gipsófila. Departamento de Biología y Geología. Universidad de Almería. 04120Almería. Libro de resúmenes. 6° congreso de Biología de la Conservación de plantas. Murcia España. P. 21.

85. MARQUIS, D. 1990. ***Prunus serotina*** Ehrh. Cherry Negro en Quemaduras RM, Honkala BH, coordinadores técnicos. Bioecología silvícola de América del Norte. Volumen 2 Las maderas duras. Washington, DC, EE.UU.: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio Forestal. Agriculture Handbook 654: 238-249.

86. MARIO, E., TAPIA, A. 1998. Agrobiodiversidad en la Encañada. Sistematización de las Experiencias en Conservación In Situ de los Recursos Fitogenéticos, Cajamarca. Codesan-Aspaderuc-CIP-GTZ. Cajamarca. Perú. P. 5.

87. MARIETTE, S., TAVAUD, M., ARUNYAWAT, U., CAPDEVILLE, G., MILLAN, M., SALIN, F. 2010. Population structure and genetic bottleneck in sweet cherry estimated with SSRs and the gametophytic self-incompatibility locus. 11:77. 1-13.

88. MAYNARD, A., KAVANAGH, K., FUERUKRANZ, H., DREW, P. 1991.Negro cereza (***Prunus serotina*** Ehrh.). En: Bajaj YPS edición. La

biotecnología en la silvicultura agrícola. Vol. 16 Springer, Berlín. Pp. 3-22.

89. MEDINA, E., SOTO M. 2003. Los sitios de colecta de las especies amenazadas o en peligro de extinción en el estado de Veracruz, México. Foresta Veracruzana, vol.5 N. 1, 2003. 7-8.

90. MILLE, P. 1942. El capulí. Flora Instituto de Ciencias Naturales del Ecuador. Vol. II. 50-51.

91. MIENDIETA, L., ROCHA, L. 2007. Sistemas Agroforestales. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. P. 25.

92. MORAES, M., OLLGARD, L., KVIST, F., BORCHSENIUS, H. 2006. Frutos Comestibles. Botánica Económica de los Andes Centrales. Herbario Nacional de Bolivia. Instituto de Ecología, Universidad Mayor de San Andrés. Department of Biológical Sciences. University of Aarhus. La Paz. 329:346.

93. MONTEITH, L. 1977. Climate and the efficiency of crop production in Britain. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 281:277-294.

94. MORILLO, E., MIÑO, G., (2010). Protocolos de Marcadores Moleculares (compilación). Departamento Nacional de Biotecnología del Instituto Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). NUM PAG.

95. MURATALLA, A. 1984. Factores Limitantes en la producción capulín (***Prunus serotina*** ssp. capulí), Boletín Técnico. Colegio de Posgraduados. Pp. 18-27.

96. ÑIETO, J., RAMOS, L., MOTTE, D. 2005. Extracción y purificación de ADN de ***Tectona grandis*** L. para su empleo en la técnica de RAPD Foresta. Recursos Genéticos Forestales. Veracruzana. México. Vol.7, núm. 2, 1-6. 1-6.

97. NIEMBRO, A., VÁZQUEZ, M., SÁNCHEZ, O. 2010. Árboles de Vera Cruz 100 Especies para la reforestación estratégica. Gobierno de Estado de Vera Cruz de Ignacio de la Llave para la conmemoración de la Independencia Nacional y Revolución, Centro de Investigación Tropicales. Edición. Primera. Impresión. México. Veracruz. México. Pp. 141, 127.

98. NEI, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press. New York, USA. P. 512.

99. NEI, M.; LI, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleasa. Proc nat Acad Sci. Vol. 79: 5267–5273.

100. NIJMAN, J., OTSEN, M., VERKAAR, L., RUIJTER, C., HANEKAMP, E. 2003. Hybridization of banteng (***Bos javanicus***) and zebu (Bos indicus) revealed by mitochondrial DNA, satellite DNA, AFLP and microsatellites. *Heredy*. Vol. 90: 10.

101. ÑIETO, J., 2010. Implementación de marcadores moleculares (microsatélites nucleares; SSRn), para la evaluación genética de áreas semilleros en especies del género *pinus.* Michocan. México. Tesis obtener título de ingeniero agrónomo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michogan. México. P. 14.

102. OLSINA, C., CAIRO, C., PESSINO, S. 2012. Desarrollo de un banco de datos genéticos de germoplasma de soja argentino. *Construction of a genetic database to characterize the argentine soybean germplasm*. Facultad de Ciencias Agrarias. Revista XX: 023 - 039 Rosario Argentina P. 45.

103. OSTROM, E. 2012. Revista Mexicana de Ciencias Forestales. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (inifap). Vol. 3 Núm. 11. 10-11.

104. OROZCO, G., AGUILAR, M., MUÑOS, J., CORIA, A., GARCIA, A., SALGADO, R., DÍAZ, R. 2010. Caracterización molecular en té nurite Satureja macrostema (Benth) Briq. Mediante marcadores RAPs. Forestaría Vera.

105. PAIRON, M., PETITPIERRE, B., CAMPBELL, M., GUISAN, A., BROENNIMANN, O., BARET, P. V., JACQUEMART, A-L., Y BESNARD, G. 2010. Multiple introductions boosted genetic diversity in the invasive range of black cherry (***Prunus serotina***) Rósaceae. Annals of Botany, 105, 881-890.

106. PAIRON, C., JACQUEMART, A. 2005. La segregación de disómico microsatélites en el tetraploide (***Prunus serotina*** Ehrh.) Rosáceae. J Am Soc Sci Hortic. Vol. 130: 729-734.

107. PARK, S. 2001. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection Universityof Dublin, Dublin.

108. PATZEL, T. 1996. Flora del Ecuador. Banco Central del Ecuador. Edición. Segunda. Imprenta. Banco Central del Ecuador. Vol. 25:103-143.

109. PÉREZ, A., 2007. Estudio sobre el género ***Prunus*.** Rosáceae en el Neotrópico: novedades taxonómicas y nomenclaturales para Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Biociencias. Medellín. Colombia. Vol. 64 2: 177-190.

110. PERÉZ, M., SÁNCHEZ, A., GÓMEZ, R., MORALES C. 2008. Agromorphological characterization of traditional Spanish swet cherry (***Prunus avium*** L). (***Prunus ceraus*** L), and duke cherry (***Prunus xgondouinii*** R.) cultivars. Área de Producción Vegetal. Departamento de Construcción y agronomía. Universidad de Salamanga. Salamanga. España. Vol. 6:1.

111. PÉREZ, R., 2009. Prospección y Caracterización Agromorfológica, Bioquímica y Molecular de cultivares Tradicionales de Cerezo (***Prunus***

avium L.), Guido (***Prunus cerasus*** L.) y sus híbridos (***Prunus x gondouinii*** Rehd.) de la provincia de Salamanga España. Tesis Doctoral en ciencias ambientales. Salamanga. Mexico. Pp. 14-17.

112. PEOPONE, W., PANCHANO. 1922. The capulín cherry. Journal of Hered. Vol. 13:50.

113. PEAKALL, R., SMOUSE, P. 2010. GenAILExV6: Genetic analysis in Excel. Population genetics software for teaching and research. Australia Nacional University, Canberra.

114. PHILLIPS, W. 1998. Biología Molecular y marcadores moleculares en la agricultura. Memoria II. Congreso Nacional de Estudiantes del sector Agropecuario. Costarricense. IICA-ESRTH-CATIE. Pp. 77-87.

115. PRETELL, C., OCAÑA, D., JON, R. 1985. Apuntes Sobre Algunas Especies Forestales Nativas de La Sierra Peruana. Proyecto FAO/Holanda /INFUR (GCP/PER/027/NET). Apoyo a las plantaciones forestales con fines energéticos y para el desarrollo de comunidades rurales de la Sierra Peruana. Pp. 1, 21.

116. PRITCHARD, J., WEN, X., FAULSH, M. 2010. Documentation for structure software: Version 2.3.4. Departament of Human Genetics, University of Chicago. Departament of Statistics. University of Oxford. 15-17.

117. RAJAPAKSE, S., BELTHOFF, L., HE, G., ESTAGER, A., SCORZA, R., VERDE, I., BALLARD, R.., BAIRD, W., CALLAHAN, A., MONET, R., ABBOTT, A. 1995. Genetic linkage mapping in peach using morphology, RFLP and RAPD markers. Theor. Appl. Genet. Vol. 90: 503-510.

118. RALLO, P., TENZER, I., GESSLER, C., BALDÓN, L., DORADO. G., MARTIN, A., 2005. Transferability of olivo microsatellite loci acorss the *genus olea.* Theor Apple Genetic. Madrid. España. 107. 940-946.

119. REÁTEGUI, E. 2010. Evaluación de la variabilidad genética de la castaña ***Bertholletia excelsa*** en la región de Madre de Dios, mediante marcadores microsatélites. Universidad Nacional de San Agustín. Tesis presentado por la bachiller para optar el título profesional de bióloga. Arequipa. Perú. Pp. 12, 13, 14.

120. REYNEL, C., MARCELO, J., 2010. Programa Regional para la Gestión Social de los Ecosistemas Forestales Andinos ECONOVA-INTERCOOPERATION. Árboles de los ecosistemas forestales andinos. Manual de identificación de especies. Primera edición. Editorial Artes. Lima. Perú. Pp. 6, 146.

121. ROYAL HORTYCULTURE SOCIETY (RHS), 2007. Método basado en el número de la carta de colores. Rome. Italia.

122. ROMOLEROUX, K. 2004. The genus *Lachemilla* (Rosaceace) in the northern Andes of South America. Herbario QCA. Pontificia Universidad de Católica de Ecuador. Universidad Ludwing Maximilian, Munich. Por publicar Quito. Ecuador.

123. ROHLF, J. 2008. NTSYSpc 2.11. Númerical Taxonomy and Multivariate Analysis Sytem. Department of Ecology and Evolution State University of New York Stany Brook. NY11794-5245.

124. SAMBROOK, L., RUSELL, D, 2001. Molecular Cloning. Edition tercera. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.

125. SÁNCHES. D., MANCILLA, R., HERNÁNDEZ, G., VERÁSTEGUI, F. 2008. Frutales De Clima Templado. Secretaria De Desarrollo Agropecuario y Recursos Hidráulicos (CENZONTLE). Hechos en el campo. México.

126. SALAZAR, E., LEÓN, P., ROSAS, C., MUÑOZ, C. 2006. Estado de la Conservación *ex situ* de los Recursos Fitogenéticos Cultivados y Silvestres en Chile. Boletín N°. 156. 21-31.

127. SANJINÉS, A., OLLAARD, B., BALSLEV, H., 2006. Frutos comestibles. Botánica Económica de los Andes Centrales. Herbario Nacional de Bolivia. Universidad Mayor de San Andrés. Departament of biologícal Sciences, University of Aarhus, Bulding. La Paz. Pp. 139-140.

128. STARFINGER, U. 2010. NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet – ***Prunus serotina***. – From: Online Database of the North European and Baltic Network on Invasive Alien Species – NOBANIS.

129. SEVILLA, R., HOLLE, M., 2004. Recursos Genéticos Vegetales. Edición primera. Lima. Perú. P. 283.

130. SUZANNE, L., AMY, F., 2000. Polymorphic DNA Markers in Black Cherry (***Prunus serotina*** Ehrh) Are Indentified Using Sequences form Sweet Cherry, Peach, and Sour Cherry. Departament of Horticulture, Michigan State University, East Lansing, MI 48824. P. 3.

131. TANKSLEY, S. 1993. Mapping Polygenes. Arival Review Genetics. Vol. 27:205-233.

132. THE RHS (Royal Horticultural Society), COLOUR CHART. 2007. Is the Standard reference for specifying flower colour. Since its first. Londres. Gran Bretaña.

133. Unión Internacional Para la Protección de las Obtenciones Vegetales. UPOV, 2002. TG/41/5. E. Guidelines For The conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability. European Plum (***Prunus domestica*** L.). Geneva. Pp. 6 – 31.

134. VAUGH, M. 1951. ***Prunus serotina*** *spp.* Capulí (Cav.)(SIRE) Sistema Nacional de Información Forestal (CONAFOR) Comisión Nacional Forestal (CONABIO) Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad. Publicación, Brittonia. Vol. 7: 299.

135. VÁZQUES, H., ZAPATA, O., FIERO, S. 2011. Gestión Agropecuaria N_0 2. Universidad Estatal de Bolívar. Facultad de Ciencias Agropecuarias,

Recursos Naturales del Ambiente. Impresión. Gutember. Aguacoto. II. Guaranda. Ecuador. Pp. 21-25.

136. VÁZQUES, A. 2012. Extracción, toxicidad y caracterización morfológica del Cerezo negro, como colorantes natural para la aplicación de uso industrial y su importancia médica. Universidad de el Salvador. Edición. Impreso. Copryright. El Salvador. Centro América. P. 11.

137. VELAZQUEZ, J., MONTEROS, A., TAPIA, C, 2008. Semillas Tecnología de Producción y Conservación. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias Estación Experimental Santa Catalina. Registro Nacional de Derecho N° 145 ISBN – 9978 – 92 – 658 – 1. Quito. Ecuador. P. 134.

138. VILLAVICENCIO, A., VÁSQUEZ, W., 2008. Guía Técnico de Cultivos. Instituto Autónomo de Investigaciones Agropecuarias p. Manual N0 .73. Quito. Ecuador. 2, p. Ficha 2 manzanos.

139. VILLACORTA, F. 2006. Clásicos Sanmarquinos. Colección Estudios Geológicos y Mineros para la Obra del Perú. Volumen II. Departamento de Ancachs. Editorial de la UNMSM. Primera Edición. P. 142.

140. WARD, J.M. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. Journal of the American Statiscal Association Us. Vol. 58: 236 – 244.

141. WILSON, A., CARLSON, S., WHITE, T. 1977. Biochemical evolution. Annu. Rev. Biochem. Vol. 46: 473-639.

142. WUSCH, A. 2003. Caracterización Molecular en Cerezo (***Prunus avium*** L.). Identificación Varietal, Relación de Similitud e Incompatibilidad Polen-Pistilo. Previo a la obtención de tesis de doctorado. Departamento de Producción Agraria De la Universidad Pública de Navarra. Navarra. España. Pp. 29-40.

Webgrafia.

http://www.elcomercio.com.ec/actualidad/negocios/capuli-fruto-andino-que-se.html.

http://www.hort.cornell.edu/reisch/grapegenetics/DNA_Protocol.html.

http://www.fs.fed.us/database/fei.nts/tree/pruser/introductory.htm.

http://www.genetics.org/content/179/3/1143.full.pdf+html.

http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html.

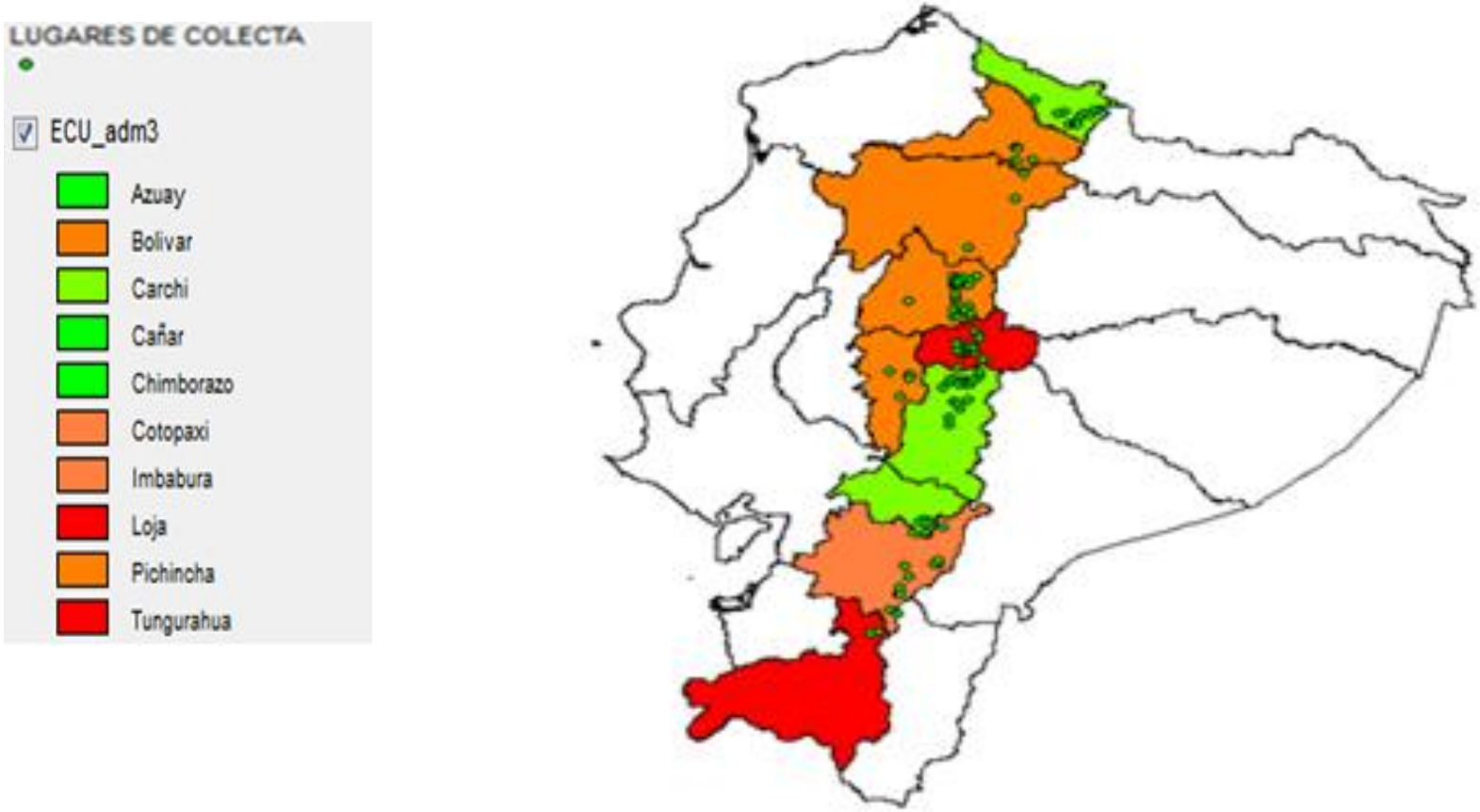
http://www.exetersoftware.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html.

http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html.

http: herb.bio.nau.edu/miller/amovaprp.htm.

ANEXOS

ANEXO 1. Mapa de sitios de colectas y caracterización morfoagronómica de capulí (*Prunus serotina* Ehrh.) para el Banco Nacional de Germoplasma INIAP-Ecuador



ANEXO 2. Libro de colectas diseñado de acuerdo al formato del Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos (DENAREF)



FORMATO DE A DE GERMOPLASMA
INIAP - DEPARTAMENTO DE RECUR! GENETICOS Y BIOTECNOLOGIA (DENAREF)

ACCESIÓN No. .....
INSTITUTO COLECTOR: ..... COLECTOR (ES): ..... FECHA: d...../m...../a.....
GÉNERO: ..... ESPECIE: ..... SSP: .....
NOMBRE LOCAL: ..... GRUPO ÉTNICO: ..... IDIOMA: .....
PAÍS: ..... PROVINCIA: ..... CANTÓN: ..... PARROQUIA: .....
LOCALIDAD: ..... NOMBRE DEL PREDIO: ..... PROPIETARIO: .....
LOCALIZACIÓN DEL SITIO (km) - Norte / Sur: ..... DESDE:..... HASTA: .....
LATITUD: ..... N/S LONGITUD: ..... .E/W ALTITUD: ..... msnm

ESTADO DEL GERMOPLASMA: **0)** se desconoce **1)** silvestre **2)** maleza **3)** material de mejoramiento **4)** cultivar nativo
5) cultivar mejorado **6)** material del agricultor **7)** variedades obsoletas **8)** otros .....

FUENTE DE COLECCIÓN:	**1) Hábitad silvestre**	**2) Campo cultivado**	**3) Mercado**	**4) instituto de investigación**	**5) Otro**
	1.1 bosque / arboleda	2.1 finca	3.1 ciudad	4.1 línea de mejoramiento	
	1.2 matorral	2.2 huerto	3.2 pueblo	4.2 material avanzado	
	1.3 pastizal	2.3 jardín	3.3 otros sistemas	4.3 variedad obsoleta	
	1.4 desierto / tundra	2.4 barbecho	de compra		
		2.5 pastura			

TIPO DE MUESTRA COLECTADA: **1)** Semilla **2)** Tallo **3)** Polen **4)** In vitro **5)** otro.....

FRECUENCIA DE LA MUESTRA: **1)** algunos individos dispersos **2)** muy escasos (menos del 1%) **3)** escasa (cubre 1 - 5 %)
4) presente (cubre de 5 - 25 %) **5)** alta (mayor del 25%)

LA POBLACIÓN ESTÁ AISLADA DE OTRAS: SI..... NO..... SE ENCUENTRA PARIENTES CULTIVADOS CERCA SI..... NO.....

NÚMERO DE PLANTAS MUESTREADAS: ..... en ..... m^2

ESTADO FENOLÓGICO DE LA POBLACIÓN: **1)** vegetativo **2)** floración **3)** con semillas maduras

USO DEL MATERIAL: **1)** alimento (procesamiento) **2)** fruto **3)** medicinal **4)** bebida **5)** fibra
6) artesanal **7)** forraje **8)** construcción **9)** ornamental/cultural **10)** otro .....

PARTE DE LA PLANTA UTILIZADA: **1)** tallo **2)** rama **3)** hoja **4)** corteza **5)** rizoma **6)** flor / inflorescencia
7) fruto **8)** semilla **9)** raíz **10)** tubérculo **11)** otro .....

FOTOGRAFÍA: SI..... NO..... EJEMPLAR DE HERBARIO: SI..... NO.....

MÉTODO DE MUESTREO: Randomizado..... Selectivo.....

A continuación del formato del libro de colectas

TOPOGRAFÍA: **1)** plano (0-0,5%) **2)** casi plano (0,6-2,9%) **3)** poco ondulado (3-5%) **4)** ondulado (6-10,95%)
5) quebrado (11-15,9%) **6)** colinado (16-30%) **7)** fuertemente escarpado (mayor 30%) **8)** montaöoso (mayor de 30%)
9) otro .....

FISIOGRAFÍA DEL TERRENO: **1)** planicie **2)** cuenca **3)** valle **4)** meseta **5)** ladera
6) colina **7)** montaña **8)** otro .....

VEGETACIÓN DE LOS ALREDEDORES: **1)** potreros **2)** arbustos **3)** bosque nativo **4)** arboleda **5)** otro .....

FORMA GEOGRÁFICA (MICROCLIMA) **1)** planicie **2)** cuenca **3)** valle **4)** meseta **5)** ladera
6) margen/bosque **7)** bosque quemado **8)** pradera quemada **9)** banco de arena **10)** orilla (río/mar)
11) estero **12)** urbano/periurbano **13)** borde de camino **14)** otro .....

FORMA DE LA PENDIENTE: **1)** recta ( ) **2)** cóncava ( ) **3)** convexa ( ) **4)** terrazada ( ) **5)** compleja ( )

ASPECTO DE PENDIENTE (ORIENTACIÓN): Norte ..... Sur ..... Este ..... Oeste .....

DRENAJE DEL SUELO: **1)** pobre **2)** moderado **3)** bueno **4)** excesivo

COLOR DEL SUELO: **1)** blanco **2)** rojo **3)** rojizo **4)** rojo amarillento **5)** pardo
6) parduzco **7)** pardo rojizo **8)** pardo amarillento **9)** amarillo **10)** amarillo rojizo
11) verdoso, verde **12)** gris **13)** grisáceo **14)** azúl **15)** negro azulado
16) negro

TEXTURA DEL SUELO: **1)** arenoso **2)** franco **3)** arcilloso **4)** orgánico **5)** otro

PEDREGOSIDAD: **1)** auesente **2)** bajo **3)** medio **4)** alto

EROSIÓN DEL SUELO: **1)** baja **2)** intermedia **3)** alta

CLIMA (DESCRIPCIÓN): Temperatura ..... Humedad .....

LUZ: **1)** sombreado **2)** soleado

PRÁCTICAS CULTURALES: **1)** roza-tumba-quema **2)** irrigado **3)** trasplante **4)** terrazas **5)** amarre del cultivo
6) control de plagas y enfermedades **7)** otro .....

PRÁCTICAS DE ASOCIACIÓN O ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS: .....

PLAGAS Y ENFERMEDADES PRESENTE: .....

OBSERVACIONES: .....

Fecha de siembra ..... Fecha de cosecha .....
Fecha de floración ..... Fecha de fructificación .....

ANEXO 3. Caracteres cualitativos y cuantitativos usados para la caracterización de las accesiones de capulí

1. Presencia de yemas vegetativas en ramas secundarias (PYVRS)

Se determinó por apreciación visual directa la presencia y ausencia de yemas vegetativas en ramas terciarias de acuerdo la siguiente escala:

No:	0
Si:	1

2. Ápice de la hoja (AH)

Se evaluó en el mismo material por apreciación visual directa el ápice de la hoja tomadas al azar de las "ramas terciarias" seleccionadas para los descriptores anteriores, de acuerdo al gráfico y escala:

	
Acuminado 1	**Agudo 2**

Gráfico 7. Esquema de formas de los ápices de las hojas en capulí

3. Presencia de pubescencia en el envés de la hoja (PPEH)

Se registró por apreciación visual y se determinó la presencia y ausencia de pubescencia en cinco hojas por entrada, entre la etapa de floración fenológicos de los árboles, de acuerdo la siguiente escala:

No:	0
Si:	1

4. Inserción del borde (IB)

Se evaluó el margen extremo en la hoja por apreciación visual directa en la quinta hoja desde el ápice terminal de la rama terciaria, de acuerdo al siguiente gráfico y escala:

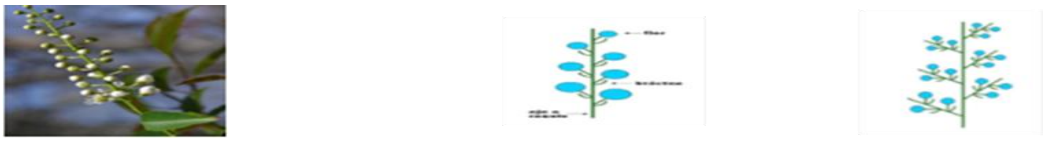


Crenadas 1	Crenadas aserradas 2	Aserrada 3

Gráfico 8. Esquema de la inserción de los bordes de las hojas en capulí. (UPOV, 2002)

5. Forma de la inflorescencia (FI)

Se determinó por apreciación visual, en etapa de floración fenológicos de los árboles seleccionadas al azar de las "rama terciaria", de acuerdo al siguiente gráfico y escala.



Racimo 1	Espiga 2	Espiguilla 3

Gráfico. 9. Esquema de las forma de las inflorescencias de capulí. (UPOV, 2002)

6. Tipo de flor (TF)

Se determinó por apreciación visual directa, una vez que las flores se encontraron completamente abiertas, en la etapa fenológica de floración de los árboles, de acuerdo al gráfico y escala.



1 sencilla 5 pétalos	2 Semidoble de pétalos	2 o 3 círculo máximo de 15	3 Doble más de 3 círculos

Gráfico 10. Esquema del tipo de flores de él capulí. (UPOV, 2002)

7. Color de la flor (CF)

Para este descriptor se determinó según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS, 2007) (Anexo. 4) en el momento de la caracterización *situ* y se codificó según los colores que presentaron.

Blanco: 1

8. Diámetro de la flor (DF) (mm)

Se midió en milímetros empleando un calibrador, ubicando entre la parte medio y se promedió el diámetro cinco flores tomadas al azar de la "rama terciaria".

9. Orientación de los sépalos (OS)

Se determinó por observación directa de acuerdo a la disposición en relación al cáliz en cinco flores tomadas al zar de la "rama terciaria" de acuerdo al gráfico y escala:

Replegados (ápice del sépalo con dirección al cáliz): 0
Horizontal (ápice del sépalo con dos direcciones contrarias al cáliz):1

10. Posición de las anteras (PA)

Se determinó por apreciación visual directa la posición que se encuentren las anteras en cinco flores tomadas al zar de la "rama terciaria" de acuerdo al gráfico y la escala:

Ausente (anteras que no están cubiertas por la capucha): 0

Normal (anteras cubiertas por la capucha): 1

11. Hábito de floración (HF)

Para este descriptor se indago a los 150 dueños de predios donde se encontraron los árboles de capulí (***Prunus serotina*** Ehrh.), establecidos y se determinó de acuerdo al siguiente gráfico y escala:

Florece una sola vez: 1

Florece dos veces: 2

Floración continúa: 0

12. Forma de inserción del pedúnculo del fruto (FIPF)

Para este descriptor se registró los datos por apreciación visual directa entre la unión del fruto y el pedúnculo; en la fase de madurez óptima y se determinó la forma de inserción en 10 frutos tomados al azar de acuerdo al gráfico y escala:

	
Superficial 1	**Hundido 3**

Gráfico12. Esquema de las formas de inserción de pedúnculo del fruto de capulí.

13. Forma de ápice del fruto (FAF)

Para este descriptor por apreciación visual directa en la fase de madurez óptima se determinó la forma de 10 ápices del fruto de acuerdo al gráfico y escala:

		
Agudo 1	**Obtuso 2**	**Redondo 3**

Gráfico13. Esquema de las forma de ápices del fruto de capulí

14. Tipo de fruto

Para este descriptor se registró mediante observación directa la clasificación botánica durante la fase óptima y se determinó el tipo de 10 frutos tomados al azar de acuerdo al gráfico y la escala:

	
Drupa 1	**Polidrupa 2**

Gráfico14. Esquema del tipo de frutos de capulí

15. Color de la epidermis (CE)

Se determinó según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS, 2007) (Anexo. 4) en el momento de la madurez optima se codificó según los colores que presentaron.

Negro: 1

16. Color de la pulpa del fruto (CPF)

Se determinó según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS, 2007) (Anexo. 4) en el momento de la madurez optima se codificó según los colores que presentaron.

Verde amarronado:

ANEXO 4. Tabla de colores Royal Horticultural Society (RHS, 2007)



ANEXO 5. Información de marcadores moleculares (SSRs) usados para la caracterización molecular de accesiones de capulí

Primer ID	Primer Forward	Primer Reverse	Rango de producto (bpd)	Producto Esperado (bpd)	TA. (°C)
AB	GCTGGAACCGTTGAATTCA	GGGGCATATCTAAGTATAA	250 – 280	249	48.5
PceGA34	GAACATGTGGTGTGCTGGTT	TCCACTAGGAGGTGCAAATG	140 – 174	155	60
PS12A02	GCCACCAATGGTTCTTCC	AGCACCAGATGCACCTGA	150 – 178	200	61
pchgms3	ACGCTATGTCCGTACCATCTCCATG	CAACCTGTGATTGCTCCTATTAAAC	170 – 230	179	52
pcgms2	GTCAATGAGTTCAGTGTCTACACTC	AATCATAACATCATTCAGCCACTGC	130 – 152	163	60

ANEXO 6. Correlación de Person para 8 descriptores cualitativos

	Hábito de crecimiento	Forma de la copa	Forma de las ramas	Base de la hoja	Color de las hojas	Color del pedúnculo floral	Forma del fruto	Forma general de la semilla
Hábito de crecimiento	1	,236**	,403**	.077	.031	.053	,237**	,191*
Forma de la copa	,236**	1	,407**	.125	-.047	.020	.144	.050
Forma de las ramas	,403**	,407**	1	.127	.139	.047	,199*	.124
Base de la hoja	.077	.125	.127	1	-.087	-,167*	.082	-.055
Color de las hojas	.031	-.047	.139	-.087	1	.128	.055	.095
Color del pedúnculo floral	.053	.020	.047	-,167*	.128	1	-.023	-.040
Forma del fruto	,237**	.144	,199*	.082	.055	-.023	1	,213**
Forma general de la semilla	,191*	.050	.124	-.055	.095	-.040	,213**	1

**. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

*. La correlación es significante al nivel 0,05 (bilateral).

6A. Correlación de Person para 27 descriptores cuantitativos

	Diámetro del tallo	Altura total	Altura de inserción de ramas	Número de ramas	Longitud del peciolo de la hoja	Diámetro del peciolo de la hoja	Longitud de la hoja	Ancho de la hoja	Longitud de inflorescencia	Número de inflorescencia	Longitud de pedúnculo floral	Diámetro de la flor	Longitud de sépalo	Ancho de sépalo	Longitud de la flor	Diámetro polar del fruto	Diámetro ecuatorial del fruto	Peso de la epidermis del fruto	Grosor de la epidermis	Longitud de la semilla	Diámetro de la semilla	pH	Acidez titulable	°Brix	Porcentaje de materia seca	Peso del fruto	Peso de 10 semilla
Diámetro del tallo	1	.052	.017	,253**	.039	.099	-.005	.009	.141	.086	.102	.135	.085	-.049	.087	.040	.003	.102	.050	.033	-.060	.110	-.020	.027	-.063	.016	-.102
Altura total	.052	1	.008	.010	-.065	-.002	-.019	.052	-,216**	-.056	.016	,290**	,236**	.114	.136	.023	.006	-.019	-.099	-.124	.074	-.016	.075	-.045	-.128	.044	.136
Altura de inserción de ramas	.017	.008	1	-.108	-.081	-,171*	.023	-.115	-.087	-.122	.003	-.072	.033	-.040	.012	-.115	-.106	-.078	.041	-.088	-,213**	-.153	-,169*	-.010	.051	-.132	-.083
Número de ramas	,253**	.010	-.108	1	-.044	,294**	.086	.094	.129	,288**	-.103	-.117	-.149	-.161	-,199*	.096	.099	,164*	-.009	.054	-.048	-.039	.130	.105	-.135	,172*	.066
Longitud del peciolo de la hoja	.039	-.065	-.081	-.044	1	,184*	,323**	,207*	,196*	-.065	.079	.035	-.111	-.004	,168*	.141	.053	-.040	,172*	.064	,186*	,174*	.001	.097	-.042	.136	-.057
Diámetro del peciolo de la hoja	.099	-.002	-,171*	,294**	,184*	1	,328**	,193*	,231**	-.002	,167*	-.010	-.059	-.151	-.060	.101	.143	,185*	.074	.062	.158	.007	.100	.041	-.079	,173*	.110
Longitud de la hoja	-.005	-.019	.023	.086	,323**	,328**	1	,276**	,165*	-.048	.101	.011	-.029	-.098	.003	.055	.023	-.027	,183*	-.015	.087	-.041	-.111	.055	-.076	.100	.052
Ancho de la hoja	.009	.052	-.115	.094	,207*	,193*	,276**	1	.051	-.093	.155	,175*	.132	,272**	.110	,259**	,237**	.026	.040	.042	,168*	-.005	-.029	-.151	-.041	,175*	,190*
Longitud de inflorescencia	.141	-,216**	-.087	.129	,196*	,231**	,165*	.051	1	,259**	,174*	-.145	-.039	-.080	-.058	.015	.033	.156	,192*	-.102	-.081	.024	-.017	,170*	.103	.088	-.049
Número de inflorescencia	.086	-.056	-.122	,288**	-.065	-.002	-.048	-.093	,259**	1	.038	-.131	-.088	-.083	.116	.104	.108	,239**	.015	.020	-.099	.122	.081	,165*	.038	,195*	-.036
Longitud de pedúnculo floral	.102	.016	.003	-.103	.079	,167*	.101	.155	,174*	.038	1	,169*	,211*	.051	,339**	.046	.023	-.104	.071	.058	-.012	,171*	-.055	.120	.156	.083	-.065
Diámetro de la flor	.135	,290**	-.072	-.117	.035	-.010	.011	,175*	-.145	-.131	,169*	1	,384**	,289**	,500**	,165*	.105	-.117	-.046	-.040	.043	.034	.000	-.018	.052	.092	-.041
Longitud de sépalo	.085	,236**	.033	-.149	-.111	-.059	-.029	.132	-.039	-.088	,211*	,384**	1	,561**	,363**	.079	.088	.014	-.079	-.070	-.005	-.028	-.103	-.078	.044	.028	.136
Ancho de sépalo	-.049	.114	-.040	-.161	-.004	-.151	-.098	,272**	-.080	-.083	.051	,289**	,561**	1	,233**	,192*	.157	.079	-.018	-.009	.083	-.028	-.004	-.144	.137	.046	.134
Longitud de la flor	.087	.136	.012	-,199*	,168*	-.060	.003	.110	-.058	.116	,339**	,500**	,363**	,233**	1	,283**	,252**	.015	-.027	.069	.144	.086	.003	-.080	.050	,209*	.007
Diámetro polar del fruto	.040	.023	-.115	.096	.141	.101	.055	,259**	.015	.104	.046	,165*	.079	,192*	,283**	1	,889**	,363**	.077	,242**	,416**	.061	.111	-,194*	-,165*	,720**	.156
Diámetro ecuatorial del fruto	.003	.006	-.106	.099	.053	.143	.023	,237**	.033	.108	.023	.105	.088	.157	,252**	,889**	1	,371**	-.053	,237**	,387**	.003	.128	-,174*	-,183*	,752**	,204*
Peso de la epidermis	.102	-.019	-.078	,164*	-.040	,185*	-.027	.026	.156	,239**	-.104	-.117	.014	.079	.015	,363**	,371**	1	.028	.084	,179*	-.072	.160	-.129	-.150	,439**	.105
Grosor de la epidermis	.050	-.099	.041	-.009	,172*	.074	,183*	.040	,192*	.015	.071	-.046	-.079	-.018	-.027	.077	-.053	.028	1	.025	.042	.008	-.052	.120	.086	-.052	-.079
Longitud de la semilla	.033	-.124	-.088	.054	.064	.062	-.015	.042	-.102	.020	.058	-.040	-.070	-.009	.069	,242**	,237**	.084	.025	1	,459**	.077	.028	-.132	-.029	,226**	.143
Diámetro de la semilla	-.060	.074	-,213**	-.048	,186*	.158	.087	,168*	-.081	-.099	-.012	.043	-.005	.083	.144	,416**	,387**	,179*	.042	,459**	1	.019	.086	-,373**	-.062	,321**	,276**
pH	.110	-.016	-.153	-.039	,174*	.007	-.041	-.005	.024	.122	,171*	.034	-.028	-.028	.086	.061	.003	-.072	.008	.077	.019	1	.065	.002	.054	-.078	-.056
Acidez titulable	-.020	.075	-,169*	.130	.001	.100	-.111	-.029	-.017	.081	-.055	.000	-.103	-.004	.003	.111	.128	.160	-.052	.028	.086	.065	1	-.061	-.018	.103	.111
°Brix	.027	-.045	-.010	.105	.097	.041	.055	-.151	,170*	,165*	.120	-.018	-.078	-.144	-.080	-,194*	-,174*	-.129	.120	-.132	-,373**	.002	-.061	1	-.004	-,187*	-.073
Porcentaje de materia seca	-.063	-.128	.051	-.135	-.042	-.079	-.076	-.041	.103	.038	.156	.052	.044	.137	.050	-,165*	-,183*	-.150	.086	-.029	-.062	.054	-.018	-.004	1	-.134	-.055
Peso del fruto	.016	.044	-.132	,172*	.136	,173*	.100	,175*	.088	,195*	.083	.092	.028	.046	,209*	,720**	,752**	,439**	-.052	,226**	,321**	-.078	.103	-,187*	-.134	1	.115
Peso de 10 semillas	-.102	.136	-.083	.066	-.057	.110	.052	,190*	-.049	-.036	-.065	-.041	.136	.134	.007	.156	,204*	.105	-.079	.143	,276**	-.056	.111	-.073	-.055	.115	1

Anexo 7.A. Clúster que se utiliza la vinculación de Ward y la distancia Euclídea al cuadrado, Grupo 1 de las 147 accesiones de capulí

Grupo 1			
	Sitio de colecta		
Ecu	**Parroquia**	**Localidad**	**Provincia**
19848	Monjas	Monjas	Cotopaxi
19849	Monjas	Monjas	Cotopaxi
19851	Toacazo	Yugsígche Alto	Cotopaxi
19853	Latacunga	Llactayu Grande	Cotopaxi
19854	Tanicuchi	Santa Ana	Cotopaxi
19855	Tanicuchi	Santa Ana	Cotopaxi
19859	11 de Noviembre	Cristo Rey sur	Cotopaxi
19863	Poalo	Las Parcelas de plano	Cotopaxi
19864	Poalo	Las Parcelas de plano	Cotopaxi
19875	Mulalo	Mulalo	Cotopaxi
19884	Cusubamba	Chirinche Maldonado	Cotopaxi
19885	San Miguel	Yanayacu	Cotopaxi
19891	Cuicuno	Buena Esperanza	Cotopaxi
19892	Cuicuno	Buena Esperanza	Cotopaxi
19893	Cuicuno	Buena Esperanza	Cotopaxi
19894	Tanicuchi	San Pedro	Cotopaxi
19905	García Moreno	Pamatug	Tungurahua
19907	García Moreno	Pamatug	Tungurahua
19912	Salasaca	Chamo	Tungurahua
19920	Cevallos	Cevallos	Tungurahua
19921	La Matriz	Santa Rosa	Tungurahua
19923	Totoras	Huachi Totoras	Tungurahua
19932	Santa Rosa	Miñarica San José	Tungurahua
19940	La Matriz	Alacau	Chimborazo
19941	La Matriz	Alacau	Chimborazo
19954	Cajabamba	Cantarilla	Chimborazo
19959	La Providencia	Pungal Quinche	Chimborazo
19967	Tenta	Pallama	Loja
19989	Sageo	Queshan	Cañar
19992	Biblián	San José	Cañar
20517	Sam Pablo	Camuendo Bajo	Imbabura
20520	El Sagrario	Tunibamba Centro	Imbabura
20716	Cristóbal Colón	Barrio Ejido	Carchi
20718	Cristóbal Colón	Las Palmas	Carchi
20721	Carmelo	Florida Alta	Carchi
20722	San Pedro de Huaca	Barrio Paja Blanca Sur	Carchi
20723	El Ángel	Barrio San Francisco	Carchi

Anexo 7.B. Clúster que se utiliza la vinculación de Ward y la distancia Euclídea al cuadrado, Grupo 2 de las 147 accesiones de capulí

Grupo 2			
	Sitio de colecta		
Ecu	**Parroquia**	**Localidad**	**Provincia**
19852	Toacazo	Yugsígche Alto	Cotopaxi
19858	11 de Noviembre	Cristo Rey sur	Cotopaxi
19904	Cotalo	Comunidad Chacauco	Tungurahua
19956	La Matriz	Chingazo Alto	Chimborazo
19969	San Felipe de Oña	San Pedro de Hornillos	Azuay
20715	San José Urbano	Capulí	Carchi

Anexo 7.C. Clúster que se utiliza la vinculación de Ward y la distancia Euclídea al cuadrado, Grupo 3 de las 147 accesiones de capulí

Grupo 3			
	Sitio de colecta		
Ecu	**Parroquia**	**Localidad**	**Provincia**
19857	Tanicuchi	Santa Ana	Cotopaxi
20711	Pujíli	Potrerillos	Cotopaxi
20712	Pujili	Potrerillos	Cotopaxi
19861	11 de Noviembre	Barrio la Libertad	Cotopaxi
19865	Poalo	San Rafael	Cotopaxi
19866	Poalo	San Rafael	Cotopaxi
19867	Poalo	San Rafael	Cotopaxi
19868	Poalo	San Rafael	Cotopaxi
19869	Chanillin	Unión Panamericana	Cotopaxi
19870	Chanillin	Unión Panamericana	Cotopaxi
19871	Guaytacama	Barrio Santa Ana	Cotopaxi
19872	Guaytacama	Barrio Santa Ana	Cotopaxi
19873	Guaytacama	Barrio Santa Ana	Cotopaxi
19874	Mulalo	Mulalo	Cotopaxi
19876	Santa Marianita	José Guabo Bajo	Cotopaxi
19877	Santa Marianita	José Guabo Bajo	Cotopaxi
19878	Cusubamba	Barrio Oriente	Cotopaxi
19880	Cusubamba	Barrio Oriente	Cotopaxi
19881	Cusubamba	Barrio Oriente	Cotopaxi
19882	Cusubamba	Chirinche Maldonado	Cotopaxi
19883	Cusubamba	Chirinche Maldonado	Cotopaxi
19887	San Miguel	Achiliví	Cotopaxi
19888	San Miguel	Achiliví	Cotopaxi
19889	Salcedo	Quilalo 4 Esquinas	Cotopaxi
19890	Salcedo	Quilalo 4 Esquinas	Cotopaxi
19896	Belisario Quevedo	San Miguel Pampa	Cotopaxi
19897	Belisario Quevedo	San Miguel Pampa	Cotopaxi
19898	Belisario Quevedo	Sam Miguel Pamba	Cotopaxi
19901	La Matriz	Huasípampa	Tungurahua
19902	La Matriz	Huasípampa	Tungurahua
19906	García Moreno	Pamatug	Tungurahua
19909	Salasaca	Rumiñahui Grande	Tungurahua
19910	Salasaca	Rumiñahui Grande	Tungurahua
19914	Los Andes	El Rosario	Tungurahua
19915	Los Andes	Galpón	Tungurahua

A continuación clúster Grupo 3

19915	Los Andes	Galpon	Tungurahua
19916	Quiero	Quero	Tungurahua
19917	Quiero	Quero	Tungurahua
19918	Quiero	Quero	Tungurahua
19919	Cevallos	Tambo Centro	Tungurahua
19922	Totoras	Hachi Totoras	Tungurahua
19924	Totoras	Huachi Grande	Tungurahua
19925	Totoras	Huachi Grande	Tungurahua
19926	Huachi Grande	Huachi La Libertad	Tungurahua
19927	Tisaleo	Tisaleo	Tungurahua
19928	Tisaleo	Tisaleo	Tungurahua
19929	Tisaleo	Tisaleo	Tungurahua
19930	Huachi Grande	Barrio Huachi la Magdalena	Tungurahua
19931	Huachi Grande	Barrio Huachi la Magdalena	Tungurahua
19936	Guanujo	El Sinche	Bolívar
19937	Guanujo	Las Cochas	Bolívar
19938	Guanujo	Las Cochas	Bolívar
19939	Veintimilla	Negro Yacu	Bolívar
19942	La Matriz	Alacau	Chimborazo
19943	La Matriz	Alacau	Chimborazo
19944	La Matriz	Alacau	Chimborazo
19945	El Rosario	Langos Panamericana	Chimborazo
19946	El Rosario	Langos Panamericana	Chimborazo
19947	El Rosario	Langos Panamericana	Chimborazo
19948	Guano	Langos 11 de Noviembre	Chimborazo
19949	San Isidro	Obraje	Chimborazo
19951	La Matriz	San Pedro de Ayacon	Chimborazo
19952	Columbe	San Isidro de Columbe	Chimborazo
19953	Columbe	San Isidro de Columbe	Chimborazo
19955	Cajabamba	Cantarilla	Chimborazo
19957	Bayushig	Bayushig	Chimborazo
19958	Puela	El Tingo	Chimborazo
19960	La Matriz	Batan	Chimborazo
19961	Flores	Santa Rosa	Chimborazo
19962	Punin	Chuipe	Chimborazo
19963	Punin	Chipe	Chimborazo
19964	San Juan	Chancaguan	Chimborazo
19965	San Juan	Chancaguan	Chimborazo
19966	San Juan	Chancaguan	Chimborazo
19968	Urdaneta	Baber	Loja
19970	Nabon	La Playa	Azuay

A continuación clúster Grupo 3

19971	Nabon	La Playa	Azuay
19975	Paute	Virgen Pamba	Azuay
19976	Sig Sig	Zhuzho	Azuay
19979	Cuchil	Rascorral	Azuay
19980	Cuchil	Rascorral	Azuay
19986	Ricaurte	Maria Auxiliadora	Azuay
19990	Sageo	Queshan	Cañar
19991	Javier Loyola	El Cisne	Cañar
19993	Javier Loyola	El Cisne	Cañar
19994	Biblián	San José	Cañar
19998	Deleg	Dubllay	Cañar
20709	Alosi	Miraflores	Pichincha
20710	Alosi	Culala Alto	Pichincha
20511	Angla	Ladra Huma	Imbabura
20012	Angla	Ladra Huma	Imbabura
20514	San Pablo	Casco Valenzuela	Imbabura
20515	San Pablo	Casco Valenzuela	Imbabura
20516	San Pablo	Gualabi Alto	Imbabura
20518	Sam Pablo	Camuendo Bajo	Imbabura
20521	El Sagrario	Tunibamba Centro	Imbabura
20523	Cayambe	San José de Ayora	Pichincha
20525	Eugenio Espejo	Calpaqui	Imbabura
20526	Eugenio Espejo	Calpaqui	Imbabura
20713	Matriz	Centro	Carchi
20714	La Paz	Barrio Nuevo	Carchi
20717	Cristóbal Colón	Las Palmas	Carchi
20719	Gonzalo Suarez	Chanpuel	Carchi
20720	Carmelo	Florida Alta	Carchi

ANEXO 8. Datos Georeferenciados en las 10 provincias de la región interandina del Ecuador

Ecu	Nombre Común	Nombre Científico	País	Provincia	Latitud	Longitud
19848	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 45. 21,8 S	78. 40. 39,9 W
19849	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 45. 21,8 S	78. 41. 06,6 W
19851	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0.44. 58,6 S	78. 41. 06,2 W
19852	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 44. 57,5 S	78. 41. 06,5 W
19853	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 45. 31,6 S	78. 39. 01,7 W
19854	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 45. 29,8 S	78. 38. 01,4 W
19855	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 45. 20,3 S	78. 37. 53,3 W
19857	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 56. 45,5 S	78. 59. 32,2 W
19858	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 56. 18,6 S	78. 40. 39,3 W
19859	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 56. 19,2 S	78. 40. 39,8 W
20711	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	01. 01. 08.5 S	78. 41. 42.7 W
20712	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	01. 01. 10.02 S	78. 41. 40.4 W
19861	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0.54. 06,8 S	78. 40. 06,3 W
19863	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 53. 14,2 S	78. 40. 05,4 W
19864	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 53. 11,6 S	78. 40. 03,5 W
19865	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 53. 16,7 S	78. 40. 41,1 W
19866	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 53. 16,7 S	78. 40. 41,1 W
19867	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 53. 15,1 S	78. 40. 40,4 W
19868	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 53. 13 S	78. 40. 39,9 W

A continuación datos georeferenciados

19869	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 51. 05,6 S	78. 39. 18,7 W
19870	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 51.06,5 S	78. 39. 19,3 W
19871	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 49. 36 S	78. 38. 59 W
19872	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 49. 36 S	78. 38. 59 W
19873	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 49. 35 S	78. 38. 59 W
19874	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 46. 51 S	78. 34. 26 W
19875	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 46. 52 S	78. 34. 26 W
19876	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 49. 24 S	78. 35. 37 W
19877	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 49. 24 S	78. 35. 36 W
19878	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 04. 01 S	78. 41. 25 W
19880	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 04. 01 S	78. 41. 26 W
19881	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 04. 01 S	78. 41. 25 W
19882	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 04. 37 S	78. 39. 01 W
19883	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 04. 35 S	78. 39. 02 W
19884	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 04. 37 S	78. 39. 01 W
19885	Capulí Grueso	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 04. 01 S	78. 34. 30 W
19887	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 02. 54 S	78. 34. 40 W
19888	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	1. 02. 55 S	78. 34. 40 W
19889	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	01. 01. 35 S	78. 36. 35 W
19890	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	01. 01. 35 S	78. 36. 36 W
19891	Capulí Injerto	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 47. 59 S	78. 40. 19 W
19892	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 48. 03 S	78. 40. 11W

A continuación datos georeferenciados

19893	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 48. 04 S	78. 40. 10 W
19894	Capulí Salado	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 48. 0 S	78. 39. 13 W
19896	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 59. 17 S	78. 35. 27 W
19897	Capulí Amargo	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 59. 18 S	78. 35. 24 W
19898	Capulí Dulce	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cotopaxi	0. 59. 15 S	78. 35. 20 W
19901	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	1. 21. 57 S	78. 32. 00 W
19902	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	1. 21. 57 S	78. 32. 00 W
19904	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	1. 25. 55 S	78. 29. 59 W
19905	Capulí Dulce	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	1. 1. 05 S	78. 32. 23 W
19906	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	1. 19. 25 S	78. 32. 17 W
19907	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	1. 19. 04 S	78. 32. 23 W
19909	Capulí Grueso	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 19. 28 S	78. 34. 38 W
19910	Capulí Chuso	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 19. 28 S	78. 34. 39 W
19912	Capulí Chamo	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 19. 27 S	78. 34. 39 W
19914	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 14. 22 S	78. 30. 25,7 W
19915	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 14. 24,2 S	78. 30. 07,3 W
19916	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 22. 28,7 S	78. 36. 16,2 W
19917	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 22. 25,8 S	78. 36. 14,6 W
19918	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 22. 25,7 S	78. 36. 16,0 W
19919	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 21. 28,2 S	78. 36. 31,1 W
19920	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 21. 30,3 S	78. 36. 30,5 W
19921	Capulí Grueso	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 20. 54,3 S	78. 36. 58,8 W
19922	Capulí Amargo	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 18. 28,9 S	78. 36. 17,8 W
19923	Capulí Grueso	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 18. 29 S	78. 36. 18 W

A continuación datos georeferenciados

19924	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 18. 44,1 S	78. 38. 23,7 W
19925	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 18. 43,9 S	78. 38. 23,9 W
19926	Capulí Coco	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 13. 29,1 S	78. 39. 48,3 W
19927	Capulí Delgado	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 21. 13,0 S	78. 38. 57,6 W
19928	Capulí Injerto	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 21. 09,4 S	78. 38. 56,9 W
19929	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 20. 36,6 S	78. 39. 22,2 W
19930	Capulí Dulce	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 17. 10,1 S	78. 38. 29,3 W
19931	Capulí Grueso	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 17. 10,1 S	78. 38. 30,0 W
19932	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Tungurahua	01. 17. 26,7 S	78. 40. 52,9 W
19936	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Bolívar	01. 31. 15,6´´S	79. 00. 33,3 W
19937	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Bolívar	01. 32. 41,5´´S	78. 59. 00,2 W
19938	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Bolívar	01. 32. 41,1 S	78. 58. 59,6 W
19939	Capulí Tardío	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Bolívar	01. 34. 06,8 S	78. 59. 45,8 W
19940	Capulí Delgado	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 35. 57 S	78. 36. 50 W
19941	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 35. 58 S	78. 36. 50 W
19942	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 35. 58 S	78. 36.50 W
19943	Capulí Delgado	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 35. 50 S	78. 38. 35 W
19944	Capulí Grueso	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 35. 50 S	78. 38. 35 W
19945	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 37. 36 S	78. 37. 58 W
19946	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 37. 36 S	78. 37. 59 W
19947	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 37. 36 S	78. 37. 59 W
19948	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 36. 56 S	78. 39. 42 W
19949	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 34. 57 S	78. 41. 47 W
19951	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 56. 13 S	78. 42. 20 W

A continuación datos georeferenciados

19952	Capulí Chaucha	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 53. 20 S	78. 43. 30 W
19953	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 53. 20 S	78. 43. 30 W
19954	Capulí Grueso	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 41. 20 S	78. 45. 45 W
19955	Capulí Amargo	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 41. 19 S	78. 45. 46 W
19956	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 36. 44 S	78. 34.59. W
19957	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 33. 12 S	78. 31. 19 W
19958	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 30. 55 S	78. 30. 58 W
19959	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 35. 22 S	78. 33. 07 W
19960	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 44. 39 S	78. 35. 15. W
19961	Capulí Dulce	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 48. 26 S	78. 38. 51 W
19962	Capulí Agrio	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 46. 37 S	78. 39. 14 W
19963	Capulí Agrio	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 46. 35 S	78. 39. 14 W
19964	Capulí Delgado	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 38. 57 S	78. 45. 51 W
19965	Capulí Delgado	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 38. 58 S	78. 45. 51 W
19966	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Chimborazo	01. 38. 57 S	78. 45. 51 W
19967	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Loja	03. 37. 00,1 S	79. 14. 41,2 W
19968	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Loja	03. 36. 30,1 S	79. 11. 34,8 W
19969	Capulí Delgado	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Azuay	03. 26. 30,7 S	79. 06. 10,5 W
19970	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Azuay	03. 18. 09,2 S	79. 03. 15,1 W
19971	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Azuay	03. 18. 09 S	79. 03. 15,9 W
19975	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Azuay	02. 46. 52,0 S	78. 45. 55,6 W
19976	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Azuay	03. 04. 17 S	78. 47. 27,7 W
19979	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Azuay	03. 04. 51,7 S	78. 48. 0,9 W
19980	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Azuay	03. 04. 51,7 S	78. 48. 0,9 W

A continuación datos georefenciados

19989	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cañar	02. 43. 01 S	78. 52. 35 W
19990	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cañar	02. 43. 00 S	78. 52. 36 W
19991	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cañar	02. 48. 05 S	78. 52. 58 W
19992	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cañar	02. 42. 23 S	78. 53. 53 W
19993	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cañar	02. 48. 03 S	78. 52. 58 W
19994	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cañar	02. 42. 23 S	78. 53. 19 W
19998	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Cañar	02. 44. 47 S	78. 52. 55 W
20709	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Pichincha	00. 31. 66. S	78. 35. 61 W
20710	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Pichincha	00. 30. 35 S	78. 35. 95. W
20511	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 008 S	78. 09. 59.5 W
20512	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 008 S	78. 09. 59.5 W
20514	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 38,0 S	78. 09. 53.6 W
20515	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 37,3 S	78. 09. 53.7 W
20516	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 22,5 S	78. 10. 29.5 W
20517	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 53,8 S	78. 12. 51.5 W
20518	Capulí Delgado	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 53,8 S	78. 12. 51.5 W
20520	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 19. 30,7 S	78. 15. 46.7 W
20521	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 19. 30,4 S	78. 15. 46.3 W
20523	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Pichincha	0. 04. 31,3 S	78. 08. 23.1 W
20525	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 11,2 S	78. 15. 25. 4 W
20526	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Imbabura	0. 12. 11,2 S	78. 15. 25. 4 W
20713	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00, 30. 18,7 S	77. 54. 16.9 W
20714	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 30. 50,0 S	77. 51. 53.8 W
20715	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 33. 41,5 S	77. 50. 21,01 W

A continuación datos georeferenciados

20717	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 35. 12,9 S	77. 48. 26,2 W
20718	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 34. 12,9 S	77. 46. 18,1 W
20719	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 34. 01,0 S	77. 46. 18,0 W
20720	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 34. 01,01 S	77. 46. 18,01 W
20721	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 40. 28,7 S	77. 36. 00,8 W
20722	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 37. 10,7 S	77. 44. 13,5 W
20723	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 36. 34,6 S	77. 56. 29,7 W
20724	Capulí	***Prunus serotina*** Ehrh.	Ecuador	Carchi	00. 35. 58,5 S	77. 59. 18,4 W

ANEXO 9. Fotografías de la investigación, seguimiento y evaluación del ensayo



9.1. Identificación de árbol



9.2. Caracterización *in situ*

9.3. Toma de variables cuantitativos



9.3.1. Altura de inserción de ramas



9.3.2. Longitud de la inflorescencia

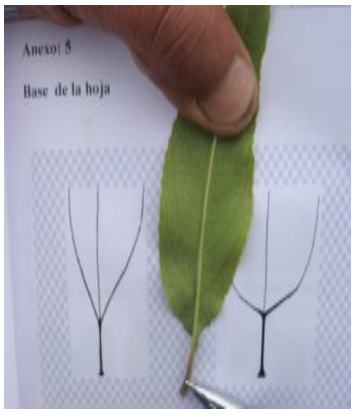
9.3.3. Toma de variables cualitativos



9.3.3.1. Hábito de crecimiento



9.3.3.2. Forma de las ramas



9.3.3.3. Base de la hoja



9.3.3.4. Color de hojas y flores

6.4. Colecta de frutos



9.4.1. Colecta frutos de capuli



9.4.2. Fotodocumentación



9.4.3. Secado y Asignación del ECU



9.4.4.Conservación el Banco

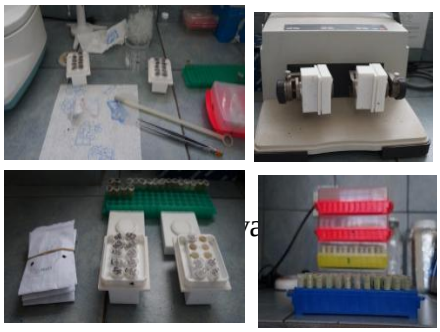
9.5. Colecta de primordios foliares para la caracterización molecular



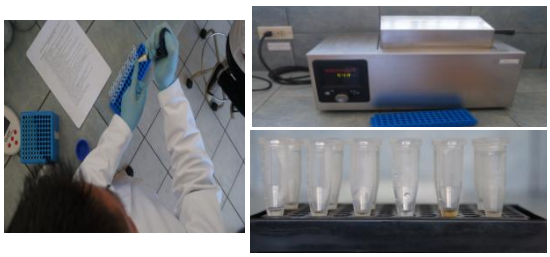
9.5.1 Colecta de primordios foliares



9.5.2. Secado de muestras



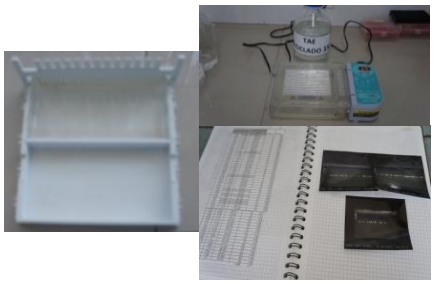
9.5.3. Maceración de muestras



9.5.4. Extración de ADN mediante protocolo

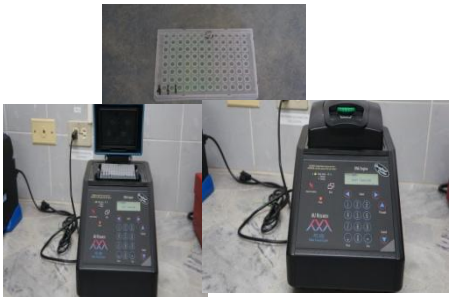


9.5.5. Cuantificación de ADN

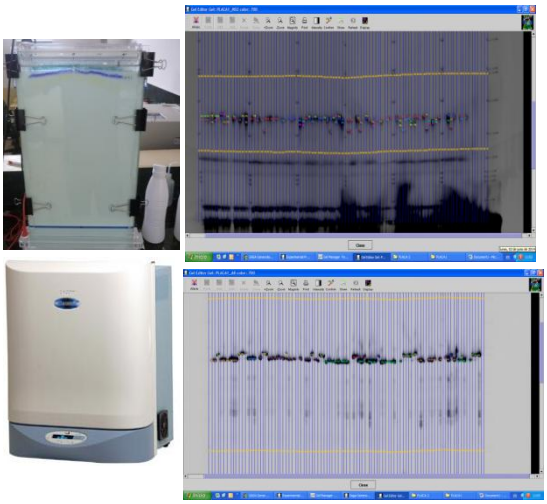


9.5.6. Electroforesis y revelado de gel de agarosa





5.7. Amplificación con Microsatélites



9.5.8. Amplificación de microsatélites mediante el método de M13- SSR´s tailing para LI-COR 4300S

ANEXO 10. Glosario de términos técnicos.

Accesión o entrada: Muestra de una variedad, línea o población en cualquiera de sus formas reproductivas (semilla, etc.) que ingresa a un centro de recursos genéticos para su conservación o uso.

Ácido nucleico: Una gran molécula compuesta de subunidades de nucleótidos.

Agrobiodiversidad: Subconjunto de la biodiversidad que incluyen especies cultivadas y sus parientes silvestres.

Adenina: Una base nitrogenada, es un miembro del par de bases A-T (Adenina. Timina) ADN (Ácido desoxirribonucleico). La molécula contiene codifica la información.

ADN genómico: Secuencia de ADN cromosómico de un gen o segmento de un gen que incluye la secuencia de ADN que codifica a si sus regiones codificantes.

ADN mitocondrial: Es el ADN circular del cromosoma de la mitocondria. El ADN mitocondrial esta presente en muchos copias por célula y es heredado por línea materna.

Angiosperma: Vegetal superior que presenta los óvulos encerrados dentro de un ovario que madura luego para dar un fruto. Es el nombre común usado para las plantas con semilla.

ANNEALING: Proceso dependiente de tiempo y temperatura, donde dos cadenas de polinucleótidos complementarios se asocian para formar una doble hélice. En la PCR, es la fase donde los primers se unen a un ADN blanco, la temperatura de annealing depende de la constitución del primer.

Anual: Planta que solo vive durante una temporada de crecimiento.

Alelos: Forman alternativas de un locus genético; un único alelo para cada locus se heredada por separado a partir de cada uno de los padres (ejemplo. En un locus para color de hojas, alelos pueden dar resultados de color azul o café).

Aminoácido: Una cadena de compuestos proteicos de al menos 20 bases nitrogenadas, que se combina para formar una proteína.

Amplificación: Un incremento en el número de copias de un fragmento específico de ADN; puede ser en *v itrio* o vivo.

ARN (ácido ribonucleico): Un compuesto químico que se encuentra en el núcleo y citoplasma de las células; desempeña una importante función en la síntesis de proteínas.

ARN mensajero (mARN): El ARN que sirve como plantilla para síntesis de proteína.

ARN o ADN polimerasa: Enzimas que catalizan la síntesis de ácidos nucleicos sobre plantilla o ácidos nucleicos preexistentes.

Banco Activo: Grupo de accesiones que mantienen su variabilidad a mediano plazo (aproximadamente cinco años) por almacenamiento a temperaturas de 0°C – hasta 15° C con 3 a 7% de humedad.

Banco Base: Grupo de accesiones almacenadas a largo plazo desde 0 ° C a – 20 ° C, con muy bajo contenido de humedad y no usado para distribución.

Bp: Par de bases nitrogenadas (una purina y una pirimidina) unidas entre sí por enlaces de nitrógeno. Unidas utilizada para medir la longitud de una secuencia de ADN.

Base de datos: Colección de información sobre accesiones que incluyen descriptores y los estados de descriptores asociados.

Biodiversidad: Diversidad de formas de vida que existen sobre el planeta, ej. Plantas, animales, microorganismos.

Bostrapping: Como camino para obtener una apreciación no paramétrica en los límites de confianza.

Caducifolio: Dícese de los árboles y arbustos que pierden las hojas durante la época desfavorable, que coincide con la época más fría.

Caracterización: Determinación de un atributo para un elemento que permita medirlo estudiarlo.

Citosina (C): Una base nitrogenada, un miembro del par de bases G-C (Guanina y citosina).

Citoplasma: Lo que forma la célula, exceptuando el núcleo. Contiene los ribosomas, las mitocondrias, el retículo endoplásmatico, el aparato de Golgi.

Código genético: La secuencia de nucleótidos, codifican en tripletes (codones), se puede usarse para predecir la secuencia de aminoácidos.

Cromosomas: La estructura genética con una capacidad de autoreplicación de células conteniendo el ADN celular que porta en su nucleótido un arreglo de genes en forma de secuencia. En procariontes, el ADN cromosomas es de tipo circular y todo el genoma es portado por un cromosoma.

Cultivo permanentes: Cultivos de la larga duración.

Descriptor: Rasgo o característica identificable y medible de una accesión; atributo referente a la forma, estructura o comportamiento de un individuo.

Dehiscencia: Apertura de una antera, fruto u otra estructura que permite la salida de las estructuras reproductoras que contiene.

Denaturation (Desnaturalización): conversión de cadena doble del ADN en una sola cadena, usualmente logrando mediante calor que destruye la unión de hidrógeno entre bases pares.

Diploide: Un conjunto completo de material genético consistiendo de cromosomas apareados, uno de los cromosomas procede de cada conjunto parental.

Dominante: un rasgo es dominante si se expresa fenotípicamente en el heterocigoto.

Drupa: Fruto monospermo de mesocarpio carnoso coriáceo o fibroso y endocarpio leñoso, como el capulí.

Espiga: Inflorescencia alagada, parecida al racimo, pero con flores sésiles. Es un tipo de inflorescencia frecuente en las gramíneas.

Erosión genética: Pérdida gradual de la diversidad genética entre o dentro de poblaciones de plantas o animales.

Electroforesis: Un método de separación de moléculas grandes tales como fragmentos de ADN o proteínas a partir de una mezcla de moléculas similares. (Se pasa una corriente eléctrica a través de un medio conteniendo la mezcla y cada tipo de molécula viaja a través del medio conteniendo la mezcla y cada tipo de molécula viaja a través del medio de una tas diferente, dependiendo de su carga eléctrica y del tamaño) y se obtienen los millones de fragmentos de restricción así obtenidos son separados comúnmente mediante electroforesis en geles de agarosa.

Flor: Conjunto de estructuras reproductoras de las plantas con flor, formado por androceo y gineceo y uno o dos verticilos periánticos que pueden estar reducidos o ausentes.

Fenotipo: Es la expresión de los genes de la planta en un determinado ambiente. Plantas con las mismas genéticas y cultivadas con diferentes condiciones, presentan diferentes fenotipos.

Fis: Índice de fijación medida de déficit o exceso de heterocigotos únicamente para marcadores codominantes.

Fruto: En las plantas con flor, estructura que encierra las semillas. Está formado por el ovario y cualquier otra parte floral asociado con el mismo, que se han desarrollado y madurando luego de la fecundación.

Germoplasma: Material base de la herencia transmitida de generación en generación; material genética de una planta o animal.

Genotipo: Es el conjunto de genes que una planta posee. Estos genes determinan las características heredadas. De estos genes dependen, el color, producción, resistencia a plagas, etc., que la planta tendrá.

Gene o Gen: La unidad física y fundamental de la herencia. Es una secuencia ordenada de nucleótidos localizados en una posición particular, sobre un cromosoma particular, que codifica un producto funcional específico (ejemplo. Una molécula de ARN).

Genoma: Todo en material genético en los cromosomas de un organismo partícula, se da generalmente por número total de pares.

Guanina (G): Una base nitrogenada, un miembro del par de bases G-C (Guanina y citosina). Haploide

Hermafrodita: Que tiene órganos reproductores de los dos sexos.

Heredabilidad: Es una importante propiedad de los caracteres cuantitativos ya que mide la relación existente entre los valores fenotípicos de un conjunto de individuos y los valores reales de interés en la mejora de los mismos

Hoja: Órgano generalmente plano y fotosintético que presentan lateralmente los tallos, insertos a nivel de los nudos.

Hoja compuesta: Hoja cuyo limbo está dividido en dos o más partes llamados foliolos.

Heterocigocidad: La presencia de diferentes alelos en uno o más loci, sobre los cromosomas homólogos.

Inflorescencia: Conjunto de flores cuyos pedúnculos parte del mismo eje.

Interface: El periodo del ciclo celular cuando el ADN es replicado en el núcleo.

Infrutescencia: Conjunto de frutos desarrollados sobre un receptáculo común.

Limbo: Lámina. Parte ancha y extendida de la hoja.

Locus (plural loci): La posición sobre un cromosoma de un gen u otro cromosoma marcado. El uso de locus, a veces ésta restringido para indicar las regiones de ADN.

Marcador: Una localización física indispensable sobre un cromosoma (sitios de cortes de restricción, genes).

Megabase (Mb): Unidad de longitud para los fragmentos de ADN, es igual a un millón de nucleótidos

Microsatelíte: Son unas regiones del genoma de animales y plantas que consisten en una serie de repeticiones de secuencias cortas (motivos) de nucleótidos. Ejemplo (CAC) n, (GACA) n, (TA) n, (GT) n, (GATA) n, etc.

Muratalla: Grupo de investigadores dedicado a realizar investigaciones y caracterizaciones morfoagronómicos en la ciudad de México.

Nm: Flujo genético, medida de intercambio de material genético entre poblaciones Nm= 0.25 (1 - Fst)/Fst.

Ns: no significativo

*: Significativo al 1%

**: Significativo al 5%

ISSR: Repetición de secuencias simples. Son los que poseen más elevado contenido de información de polimorfismo, o PIC (Polymorphism Information Content). La técnica es muy adecuada para estudios de paternidad.

RAP (ADN polimórfico amplificado al azar**):** Tipo de marcador genético que puede generarse mediante PCR. Hace posible localizar número de marcadores

moleculares. Consiste en sintetizar pequeños fragmentos de ADN anónimo mediante el uso de oliginucleótidos de 10-15 pares de bases construidas al azar.

RFL: La detección del RFLP se basa en la posibilidad de comparar patrones de bandas generados mediante la digestión con enzimas de restricción del ADN.

Pares de bases: Dos bases nitrogenadas (Adenina y Timina o Guanina y Citosina) que se mantienen unidas por medio de doble enlaces o puentes.

Pecíolo: Parte de la hoja que une la lámina al tallo

Pedúnculo: Parte de la flor que, como continuación del receptáculo floral, la une al tallo.

Perenne: dícese de la planta que vive varios años; también se dice de las hojas.

Peso molecular: Peso de una molécula calculada como la suma de los pesos atómico de los átomos que forman.

Pétalo: Cada uno de los apéndices de una flor que forman la corola. Se ubica entre los sépalos y los estambres. Frecuentemente presentan colores brillantes que atraen a los polinizadores.

Primer (iniciador): Cadena corta de polinucleótido preexistente a la cual pueden agregarse nuevos desoxiribonucleótidos por la acción de enzima ADN polimerasa.

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Polinización: Proceso de transferencia del polen desde el lugar en donde se encuentra la oósfera. Se puede producir con la ayuda del viento, agua, insectos, pájaros, murciélagos u otros medios. La polinización es generalmente seguida por la fertilización.

Pool genético: Solo la selección natural es adaptiva porque acumula y mantiene genotipos favorables en una población; si el medio ambiente cambia, la selección responde favoreciendo aquellos genotipos adaptados a nuevas condiciones.

Polimorfismo: Han demostrado ser una fuente importante de información para complementar estudios taxonómicos y filogenéticos y para el conocimiento de la distribución y extensión de la variación genética inter e intraespecífica de diversas especies.

Racimo: Inflorescencia indefinida con el eje alargado que lleva flores pediceladas.

RFLP: (Polimorfismo en Tamaño de los Fragmentos de Restricción), consiste en detectar fragmentos de ADN con diferencias en su peso molecular. Se obtiene a partir de digestión utilizando utilizando enzimas de restricción.

Recurso fitojenéticos: Material genético de plantas que tienen valor como recurso para generaciones presentes y futuras.

Semilla: Estructura que se produce a partir de u óvulo luego de la fecundación. Consiste en el embrión acompañado o no de tejido y protegido por el epispermo.

Sépalo: Cada una de las hojas, generalmente de color verde, que forma n el cáliz de una flor.

Semillas ortodoxas: Son aquellas que alcanzan su madurez en la planta madre con contenidos de agua bajos, o que pueden ser secadas artificialmente hasta que queden con bajos contenidos de agua sin sufrir daños, pudiendo almacenar largos periodos, especialmente a bajo temperatura.

Taq polimerasa: ADN polimerasa aislada de la bacteria Thermophilus aquaticus es estable a altas temperaturas y se los usa en procedimientos de PCR.

Tallo: Parte generalmente aérea del eje de una planta dividido en nudos y entrenudos. Lleva hojas y órganos reproductores.

Traslocación: Transfiere de un segmento de cromosoma a otro cromosoma.

Triploide: Una célula con tres copias de cada cromosoma idénticos en vez par normal.

Testa: Cubierta externa de la semilla.

Uso de marcadores moleculares: El desarrollo de estos marcadores para su uso como ¨huellas dactilares¨, de los cultivos y patrones frutales más interesantes permite complementar la observación fenotípica.

UPGMA: Unweigred Pairwise Group Method (que es el más usado y el que produce menor distorsión al compararse con la matriz original de similaridad, que permite construir el dendograma).

Kilobase (Kb): Unidad de Longitud para los fragmentos de AND, es igual a 1000 nucleótidos.

Q-bandas: Patrón de bandas con la técnica de fluorescencia bajo luz ultravioleta y tinción con bromuro de etidio.