



**INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA**

FECHA DE PRESENTACIÓN: Febrero 2013

ESTACIÓN EXPERIMENTAL: Santa Catalina

DEPARTAMENTO: Departamento Nacional de Recursos Fitogenéticos (DENAREF).

PROYECTO: Generación de bioconocimiento para la conservación y uso sostenible de la agrobiodiversidad nativa en el Ecuador en el apoyo a la seguridad y soberanía alimentaria. PIC-12 INIAP-13

ACTIVIDAD: Colecta y caracterización morfoagronómica *in situ* y molecular de capulí (*Prunus serotina* Ehrh) del Banco Nacional de Germoplasma del INIAP- Ecuador.

UBICACIÓN: Comunidades rurales de la sierra ecuatoriana.

Provincia: Pichincha.
Cantón: Mejía.

AUTOR: Egdo. Juan José Chucuri Malán

COAUTORES: Dr. Álvaro Monteros
Ing. César Tapia
Ing. Edwin Borja

COLABORADORES: Departamento Nacional de Biotecnología.
Departamento de Nutrición y Calidad.

FECHA DE INICIO: Febrero 2013

FECHA DE TERMINACIÓN: Febrero 2014

PRESUPUESTO: SENESCYT (Efectivo) 11.637,89 USD
INIAP (Especie) 2.909,47 USD

FUENTES DE FINANCIAMIENTO: SENESCYT: 80 %
INIAP: 20 %

1. ANTECEDENTES

El capulí (*Prunus serotina* Ehrh.) es una planta nativa de los trópicos Americanos que crece óptimamente sobre los 1200 m.s.n.m. Es originario de México aunque los mejores tipos se encuentran en tierras andinas Ecuatorianas (León, 2000). El capulí está distribuido en: Estados Unidos, México, Guatemala, Honduras, El Salvador y Colombia. Esta especie se ha cultivado posiblemente desde tiempos precolombinos en la zona Andina de Perú, Bolivia y el Ecuador (Flores, 2008). En Estados Unidos fue cultivada por primera vez en 1629 (Vaugh, 2002). Anteriormente en América del Sur y Central, se protegían estos árboles en huertos familiares, sin embargo actualmente se ha perdido esta tradición (Flores, 2008).

En el Ecuador, no existen cultivos extensivos, pero se encuentran plantas dispersas en todas las provincias de la sierra Ecuatoriana; cabe resaltar que la provincia de Tungurahua es la que más producción posee. Los árboles nativos como el capulí no sólo tienen importancia por su riqueza genética, sino también debido a sus propiedades nutricionales y tolerancia: condiciones adversas (Flores, 2008).

El fruto de capulí es muy apreciado por su agradable sabor, gastronómicamente se utiliza en varios platillos, por ejemplo se puede consumir solo o en conserva, mermelada y bebidas refrescantes al igual que bebidas embriagantes luego de un proceso de fermentación (Ruales, 2007). En Tungurahua y Chimborazo el "Jucho" es un dulce tradicional preparado en los meses de marzo y abril en el cual se incluyen las frutas como el capulí, durazno y manzana que se encuentran en temporada de cosecha. Durante la Semana Santa este dulce es servido como postre luego de la fanesca (Flores, 2008). Esta especie destaca por ser una excelente fuente alimenticia por sus altos contenidos de hidratos de carbono, proteínas, vitamina A, C, E, B1, B2, B6 y minerales (Ruales, 2007).

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

La madera es aprovechable en la construcción rural, decoración de interiores, carpintería en general, se caracteriza por tener un color rojizo brillante, la facilidad de labrado lo que permite hacer esculturas y decoraciones de alto valor estético, aparte le dan uso como leña y carbón, en los andes Ecuatorianos (Flores, 2008).

La caracterización molecular del germoplasma está considerada entre las líneas de investigación más importantes, permiten detectar un alto nivel de polimorfismo sin considerar las interacciones del genotipo con el ambiente, la diversidad genética del cultivo, y dar solución a problemas de productividad y erosión genética. La unificación entre caracteres cualitativos y moleculares pueden proveer un amplio y real conocimiento de la diversidad de especies (Wunsch, 2008).

Actualmente los marcadores tipo SSRs (Simple Sequence Repeat) llamados microsátélites, 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* sp. Estos marcadores son polimórficos, abundantes y tienen una herencia codominante. 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 toda las especies de *Prunus* sp y en la realización de estudios de relaciones genéticas (Martínez *et al.*, 2012).

El INIAP dispone de una base de datos, de accesiones de capulí georeferenciadas, en toda la Región Interandina. El presente trabajo pretende coleccionar, caracterizar y evaluar morfoagronómica y molecularmente la colección nacional de capulí.

2. JUSTIFICACIÓN

La serranía Ecuatoriana, dispone de una amplia variabilidad genética de capulí, sin embargo no se ha realizado ningún tipo de estudios enfocados a la caracterización de esta especie. Aún se desconoce los caracteres agronómicos, morfológicos y moleculares de los materiales existentes en la sierra ecuatoriana. Actualmente los agricultores debido a un mal manejo de las especies forestales (capulí) tumban los árboles porque causan sombra a los cultivos. Esta tumba de árboles ocasiona con el tiempo una erosión genética de esta especie forestal, en condiciones tiene beneficios como. Evita la erosión del suelo, mantiene la humedad atmosférica en la serranía, no se ha dado importancia real en este frutal andino que contribuye al equilibrio del ecosistema.

Por esta razón el DENAREF entre los años 1994-1995 georeferenció una colección de 179 accesiones en toda la Región Interandina; algunos de los materiales identificados tienen semillas conservadas en el banco de germoplasma de INIAP. En el presente estudio se realizará la caracterización *in situ* mediante descriptores morfoagronómicos y moleculares (microsatélites) utilizando para ellos "primers" del género *Prunus* que han sido eficaces en la determinación de la variabilidad genética.

Este estudio permitirá diagnosticar la situación actual de esta especie en cuanto a diversidad genética todavía existente y se identificarán materiales de interés tanto para los agricultores como para los fitomejoradores u otros usuarios.

3. OBJETIVOS

3.1. GENERAL

Caracterizar morfoagronómica *in situ* y molecularmente la colección nacional de capulí (*Prunus serotina* Ehrh.), del Banco Nacional de Germoplasma del INIAP-Ecuador.

3.2. ESPECÍFICOS

1. Colectar la variabilidad genética de capulí existente en la región interandina del Ecuador para su conservación en el banco de germoplasma de INIAP.
2. Caracterizar *in situ* las accesiones identificadas como representativas de las provincias mediante descriptores morfológicos estandarizados.
3. Caracterizar molecularmente mediante microsatélites la colección nacional de capulí.

4. HIPÓTESIS

H₀. En la colección nacional de capulí *Prunus serotina* Ehrh, no existe variabilidad genética.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. FASE I: COLECTA DE FRUTO (SEMILLAS)

5.1.1. Material biológico

- Fruto, semilla de capulí (*Prunus serotina* Ehrh).

Se colectarán en fundas de papel al menos la mayor cantidad posible de semillas por accesión, las que se identificarán de acuerdo al código de colecta. Estas semillas se trasladarán hasta el laboratorio de semillas del Banco de germoplasma del INIAP-Ecuador, para su procesamiento y conservación. Los materiales que actualmente se encuentran conservados en el banco de semillas de INIAP se listan en el Anexo 1.

5.1.1.2. Materiales

- Fundas de papel (perforado).
- Marcadores permanentes.

- Etiquetas.
- Lápiz.
- Guantes quirúrgicos.

5.1.1.3. Instrumentos

- Tijera de podar.
- Navaja de colecta.
- Pinzas.

5.1.1.4. Equipos

- Campana desecadora.

5.1.1.5. Reactivos

- Sílica gel.
- Alcohol.

5.2. FASE II: CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA *IN SITU*

Para la caracterización morfoagronómica *in situ* se evaluará mediante descriptores propuestos por: Internacional Boar For Plant Genetic Resources Rome, Italia; (IBGRI) (2002), y la: Unión Internacional Para la Protección de las Obtenciones Vegetales, (UPOV) Genova (2002). En el anexo 2 se detalla los 51 descriptores (22 cuantitativos y 29 cualitativos) que se utilizarán en esta investigación:

5.2.3. MATERIALES

5.2.4. Material biológico

- Acciones de capulí (*Prunus serotina* Ehrh.) georeferenciadas (Anexo 3 y 4).

5.2.5. Materiales

- Libro de colectas.
- Libro de campo.
- Tabla de colores.
- Descriptores morfológicos.
- Figuras con gráficos de descriptores.
- Abro *spray paint* (rojo).
- Grampa.
- Tijera de podar.
- Navaja de colecta.
- Martillo.
- Machete.
- Cinta métrica.

5.2.6. Equipos

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

5.3. MÉTODOS DE EVALUACIÓN

5.3.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el presente trabajo investigativo se empleará el análisis multivariado.

5.3.2. Matriz de similitud y distancia

Para los caracteres cuantitativos la similitud general entre dos entradas es función de sus similitudes individuales en cada uno de los caracteres para los cuales son comparados. Se utilizará el paquete estadístico SAS versión 6.12 (SAS Instituto, 1990) y la distancia de Gower (1967), para estimar la similitud taxonómica entre cada par de entradas para

caracteres continuos, mientras que para los cualitativos se utilizará el coeficiente de asociación que se detalla a continuación:

$$S_{ij} = \Sigma s_{ij}/n$$

Dónde:

n = número de caracteres cualitativos

s_{ij} = coeficiente de asociación entre las entradas i y j

Luego se transformará en una matriz de distancia (D1), mediante el complejo S_{ij} :

$$D1_{(i,j)} = (1-S_{ij})$$

Se calculará una matriz de distancia Euclideana:

$$D2_{(ij)} = (X_{ki} - X_{kj})^2/n$$

Dónde:

X_{ki} = registro estandarizado de carácter k en la entrada i

X_{kj} = registro estandarizado de carácter k en la entrada j

La matriz final:

$$D = (n1D1 + n2D2) / (n1 + n2)$$

La estructura taxonómica de las entradas será analizada por medio del agrupamiento jerárquico de Ward (1963) que permitirá encontrar grupos cuya unión produzca el mínimo incremento en la suma total de cuadrados del error dentro del grupo.

La elección del número de grupos de entradas se hará con los criterios de Pseudo F y Pseudo t2 utilizando el procedimiento CLUSTER del paquete estadístico SAS.

5.4. Tratamientos

170 árboles de capulí seleccionado en las 10 provincias de la región interandina del Ecuador.

5.5. CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA DE ESTUDIO

La caracterización morfoagronómica *in situ* se realizará en las 10 provincias de la región interandina del Ecuador (Anexo 4).

5.7. FASE III: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

5.7.1. Colecta del material vegetal.

Se colectarán muestras de hojas jóvenes, extraídas con una pinza debidamente desinfectada, de cada una de las accesiones muestreadas, las mismas que se guardaran en sobres de papel, en correspondencia con el número de la accesión según libro de colectas. Para preservar los materiales se mantendrán húmedos en el desecador con sílica gel durante toda la etapa de colecta, hasta su procesamiento en el laboratorio.

5.7.2. MATERIALES

5.7.2.1. Material biológico.

- ADN de las 170 accesiones seleccionadas de capulí (*Prunus serotina* Ehrh.)

5.7.2.2. Materiales para caracterización molecular.

- Espátulas
- Pinzas
- Tijeras
- Guantes de vinil
- Papel filtro
- Tubos eppendorf (0.6, 1.5, 2.0)
- Hielo
- Morteros
- Pistilos de maceración
- Gradillas para tubos eppendorf
- Puntas 1 ml; 200 ml, 1000 ul

- Papel parafilm
- Papel aluminio
- 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.

5.7.3. EQUIPOS

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

5.7.3.1. Materiales de laboratorio

- Micro pipetas (0,5-10; 2-20; 10-100; 50-200 y 100 – 1000 ml).
- Tubos eppendorf.
- Placas pcr.
- Cajas petri.
- Probetas.

- Erlenmeyer.
- Gradillas.

5.7.3.2. Reactivos de Caracterización molecular

- Etanol 75%.
- Isopropanol.
- Alcohol Isoamílico.
- Primers.
- Buffer para PCR.
- dNtp' s.
- Agua Ultrapura.
- Agarosa.
- Tris Base.
- Poliacrilamida.
- Taq Polimerasa.
- Cloruro de magnesio.
- Cloruro de sodio.
- Blue Juice 10X.
- LowMassLadder.
- TAE 10X.
- TBE 1X.

5.8. CARACTERÍSTICAS DEL LABORATORIO

La caracterización molecular se realizará en el laboratorio de biología molecular del Departamento Nacional de Biotecnología (DNB) en la Estación Experimental Santa Catalina (FESC) del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

5.8.1. Ubicación geográfica

| | |
|-------------------|------------------|
| Provincia: | Pichincha |
| Cantón: | Mejía |
| Parroquia: | Cutuglagua |
| Altitud: | 3058 msnm |
| Longitud: | 78°33'14'' Oeste |
| Latitud: | 0°22'00'' Sur |

(INAMHI, 2012).

(Datos obtenidos mediante GPS).

5.9. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

5.9.1. Extracción de ADN

Los brotes tiernos serán colectados y conservados en sílica gel, al estar completamente secos se tomará aproximadamente un gramo de muestra para su maceración, utilizando metabisulfito de sodio hasta dejar la muestra totalmente pulverizada.

El protocolo que se utilizará será el de extracción de ADN (Colombo *et al.*, 1998), modificado por Piedra (2004). Se colocará 100 µl de buffer de extracción en cada uno de los tubos Eppendorf en los que previamente se colocará aproximadamente 0.25 mg de la muestra pulverizada. Con la ayuda de un pistilo desinfectado se procederá a formar una pasta homogénea. Posteriormente se añadirá 650 µl de buffer de extracción precalentado y 12 µl de mercaptoetanol. A continuación se incubarán los tubos en baño maría por 1 hora, agitando cada 30 minutos. Después de este tiempo se centrifugará las muestras a 13000 rpm por 10 minutos. Se retirará el sobrenadante a un tubo nuevo y se añadirá 100 µl de buffer de extracción y 750 µl de CIA (24:1), esta mezcla se agitará fuertemente y se llevará al vórtex por unos segundos hasta que las dos fases sean homogéneas para luego centrifugar a 13000 rpm por 5 minutos. Luego de esta centrifugación se transferirá el sobrenadante a un tubo nuevo con 100 µl de buffer de extracción y se añadirá 750 µl de (Cloroformo Alcohol isoamílico; (CIA 24:1). Se agitará fuertemente utilizando un vórtex por un tiempo aproximado de 7 segundos hasta

observar que las dos fases sean homogéneas. Se centrifugará a 13000 rpm por 5 minutos y el sobrenadante se transferirá a un nuevo tubo, al cual se añadirá 750 µl de Etanol 100% mezclándolo suavemente. Después se centrifugará 3 minutos a 13000 rpm y finalmente se elimina el etanol.

En las muestras donde posiblemente se observe un pellet contaminado se añadirá 300 µl de etanol acetato de sodio por 5 minutos. Después de este tiempo se eliminará el sobrenadante y añadirá 200 µl de etanol acetato de amonio.

Por último todos los tubos con el pellet se dejarán secar boca abajo hasta el día siguiente. Una vez seco el tubo se resuspenderá el pellet en 100 ml de TE 0,1 X (Tris-HCl 1 mM, (ácido etilendiaminotetraacético) EDTA 0,1 mM, pH 8 y se disolverá en el baño maría a 65° C durante 60 minutos, para posteriormente incubarlo a 4° C durante 5 minutos. Se conservará el ADN a 4° C.

5.10.2. Cuantificación de ADN

La cuantificación de ADN se analizará por electroforesis en geles de agarosa 1% en tampón 1X (Tris-acetate-EDTA) TAE, utilizando estándar ADN *LowMassLadder* (No.10068-013 INVITROGEN) y como fluorímetro se utilizará con "azul de parada" (blue stop) en proporción 4:1 para dar peso y color a la muestra. Se dejará correr la electroforesis durante 40 minutos a 100 voltios y finalmente se visualizarán la existencia de bandas tiñendo el gel con una solución de 500 ml de bromuro de etidio por 30 minutos y un lavado con 500 ml de agua destilada por 5 minutos, la observación de las bandas se realizará en el fotodocumentador ultravioleta Dolphin View. Para una óptima concentración de ADN de cada una de las muestras se diluirá en agua de tartrazina hasta lograr una concentración final de 5ng/µl.

5.10.3. Validación de ADN

Para la validación se utilizará pares de primers derivados de melocotón y cereza agridulce que identificó polimorfismos tomado de estudios previos de Susanne *et al.*, (2000), el cual se utilizará para las 170 muestras de ADN de capulí que se caracterizará.

5.10.4. Amplificación con Microsatélites

Para la amplificación de ADN con microsatélites se utilizarán las condiciones determinadas por Ashworth. *et al.*, (2004). Este proceso se detalla a continuación: un ciclo inicial de desnaturalización de 2 minutos a 95°C, 30 ciclos de desnaturalización cíclica a 95°C por 1 minuto, 50-68°C (de acuerdo al primer) por 1 minuto de anillamiento, elongación cíclica a 72°C por 1 minuto, con una extensión final de 45 minutos a 72°C. El coctel de reacción a utilizar es el propuesto por Morillo. *et al.*, (2010), el cual se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Coctel para amplificación de microsatélites (Morillo *et al.*, 2010).

| Reactivo | Cantidad |
|---------------------------|-----------------|
| DNA (5 ng/ul) | 1,00 ul |
| MgCl ₂ (25 mM) | 0,50 ul |
| Buffer Gotaq (5X) | 1,00 ul |
| dNTP's (5 mM) | 0,20 ul |
| M13 -700/800 (1 uM) | 0,50 ul |
| Primers F-M13 (1 uM) | 0,05 ul |
| Primer R (10 uM) | 0,08 ul |
| Taq polimerasa 5 u/ul | 0,05 ul |
| Agua ultrapura | 1,62 ul |
| Total | 5,00 ul |

Se utilizarán los primers utilizados por Susanne. *et al.*, 2000 (Anexo 3). Las temperaturas de *annealing* serán las mismas optimizadas por Urgilez (2011). Los productos de amplificación serán visualizados en geles de agarosa al 2%, utilizando un marcador de peso molecular, mediante electroforesis horizontal y a continuación se realizará la tinción de los mismos en una solución de Bromuro de Etidio a 15 ppm por un periodo de tiempo de 20 minutos en agitación. Los geles se visualizarán en el fotodocumentador *Dolphin View Wealtec*.

5.10.5. Amplificación de PCR dúplex de microsatélites

El coctel de reacción se amplificará en el termociclador *Professional Basic Gradient Biometra* con el programa descrito por Ashworth. *et al.*, (2004), que se detalla a continuación: un ciclo inicial de desnaturalización de 2 minutos a 95°C, 30 ciclos de desnaturalización cíclica a 95°C por 1 minuto, 50-68°C (dependiendo del primer) por 1 minuto de anillamiento, elongación cíclica a 72°C por 1 minuto, con una extensión final de 45 minutos a 72°C.

Para cargar los productos amplificados en el LI-COR 4300, primero se debe denaturalizar los productos a 95°C por 5 minutos, se detiene y mantiene la denaturación al ocasionar un shock de cambios de temperatura poniendo el producto denaturado a bajas temperaturas inmediatamente. Se carga los pocillos del gel de poliacrilamida del analizador LI-COR 4300 con 0,8 ul del producto. Es necesario primero correr las muestras en el canal de 800 nm por tres minutos y luego cargar y correr las muestras en el canal 700 nm. El programa de corrida debe ser de una hora y media a 1500 voltios. El marcador de peso molecular utilizado es el 50-350pb IRDye 700 u 800 nm (Cat. No. 829-05344 LI-COR).

5.10.6. Genotipaje de las muestras de capulí (*Prunus serotina* Ehrh) en el analizador LI -COR 4300S

Para empezar a genotipar primero se creará un proyecto en el software SAGAGT Microsatellite llamado Capulí, en este se detalla la información de cada primer como la talla, el canal en el que amplifican (700-800 nm), el rango del tamaño de bandas que se esperan observar, los dúplex formados y se ubica de antemano la posición que tendrá cada pocillo del gel con la muestra de capulí.

El gel de acrilamida estará compuesto de 20 ml de KB Gel Matriz Plus 6.5%, 150 ul de (Persulfato de amonio) APS al 10 % y 15 ul de (Tetramethylethylene- dianime al 99%) Temmed. Esto se colocará entre las placas de vidrio del LICOR, se colocará el peine y después de que el gel esté listo se colocará en el LI- COR con el buffer Plus LI-COR TBE 1X B. Antes de empezar a cargar se realizará una precorrida de 25 min a 1500V para enfocar el focus del láser a 700 y 800 nm. Luego se realizará la cargada de 0.8 ul de los productos amplificados los cuales fueron previamente diluidos con Blue Stop

Solution LI-COR en una relación 1:1 y denaturados a 94°C por 5 min y diluidos 1:1 con Blue Stop Solution LI-COR. Finalmente se iniciará la corrida a 1500V por 1 hora y media.

El marcador de peso molecular que se utilizará es el IRDye 30-350 bp, el cual también será denaturado a 95°C por un minuto.

Las imágenes obtenidas serán analizadas por el software SAGAGT Microsatélite el cual establecerá si los alelos dan datos homocigotos o heterocigotos. Por último se confirmarán los datos e inmediatamente se generará un reporte que muestra los datos de cada locus como las tallas de los alelos y las frecuencias alélicas en porcentaje.

5.11. ANÁLISIS DE DATOS

El software SAGA GT-SSR es un asistente de lectura de las imágenes proporcionadas por el LI-COR. La matriz de datos obtenidos de SAGA es importada a EXCEL para su análisis al paquete estadístico INFOGEN.

INFOGEN es un software está orientado al análisis estadístico de datos producidos por nuevas biotecnologías, como son los marcadores genéticos, y su aplicación para uso, manejo y conservación de la diversidad genética en los ecosistemas así como para el mejoramiento genético de especies vegetales de importancia agroalimentaria (Balzarini M, 2010).

Entre los parámetros de diversidad a determinarse mencionemos: porcentaje de loci polimórficos, riqueza alélica, heterocigosis observada y esperada al equilibrio de Hardy-Weinberg, parámetros F (índice de fijación F_{is} y de diferenciación genética entre poblaciones) y diferenciación genética (F_{st}). Adicionalmente se realizarán análisis multivariados como son de agrupamiento o *Cluster analysis* y análisis de componentes principales. Por último se realizará identificación de duplicados a través de genotipos multilocus microsatélites.

5.2.4.1. Análisis de Diversidad genética

Los parámetros de diversidad determinados serán:

- Número de observaciones: Es el número de alelos o genotipos observados en la muestra. Se reconoce que un genotipo perdido cuando uno de los alelos está perdido. Si existen datos perdidos, disminuye el número de observaciones.
- Tamaño de la muestra: Número de accesiones analizadas.
- Frecuencia de alelos: Es el resultado de la división del número de veces que se presenta un gen para el número total de genes en la población
- Número de genotipos generados.
- Número de alelos generados por locus.
- Heterocigosidad total u observada (H_o): Es la frecuencia de individuos heterocigotos en la población. Si la frecuencia de un alelo es muy alta, existe poca heterocigosidad.
- Diversidad genética o heterocigosis esperada (H_{exp}): Es la probabilidad de que dos alelos escogidos al azar sean diferentes. Contenido de información de polimorfismo (PIC): Es la medida de la información de un marcador genético, que depende del número de alelos para ese locus y de sus frecuencias relativas. Un alelo es polimórfico cuando su frecuencia es menor a 0.9.

5.2.4.2. Estructura genética

Para estos cálculos se utilizará el programa Power Marker V3.0 (Liu y Muse, 2005). La matriz genotípica fue convertida en una matriz binaria (1 y 0), posteriormente se calculará la matriz de distancia escogiendo la opción de alelos compartidos (Shared Allele Distance, DAS). El cálculo de la distancia genética entre dos poblaciones da una estimación relativa del tiempo que ha transcurrido desde que las poblaciones se han establecido. Bajas estimaciones de distancia pueden indicar una subestructura de la población, o indicar que las poblaciones están separadas desde periodos cortos de tiempo. Cuando dos poblaciones están genéticamente aisladas, la mutación y la deriva genética contribuyen a la diferenciación de las frecuencias alélicas en locus selectivamente neutros. A medida que el tiempo de divergencia entre dos poblaciones aumenta, la diferencia en las frecuencias alélicas también tiende a aumentar.

5.2.4.3. Estadísticas F

Para calcular las estadísticas F se utilizará el software INFOGEN 2011 Balzarini M B. C., 2010, estas estadísticas permitirán describir la desviación al equilibrio de Hardy-Weinberg observable para poblaciones que están estructuradas según un modelo isla el cual asume que todas las poblaciones están en un mismo sitio que contribuyen de igual manera al acervo genético, y las poblaciones están ubicadas cercanamente unas con otras (Wright, 1965).

5.2.4.4. Análisis de Agrupamiento y métodos multivariados

Con la matriz de datos binarios en el software INFOGEN se realizará la representación en árbol UPGMA, para representar las relaciones individuales entre accesiones, el cual está basado en una matriz de distancias genéticas individuales y el Análisis de Coordenadas Principales (PCO) que es un método no paramétrico que permite proyectar en un plano de dos o tres dimensiones el conjunto de muestras analizadas en función de sus relaciones sobre dos o tres ejes de varianza que explican una fracción mayoritaria de la diversidad total observada (Balzarini M D. R., 2004).

La PCO es una técnica de análisis multivariado que tienen por objeto detectar estructuras fuertes en una población (Balzarini M B. C., 2010).

5.2.5. Análisis Global

De las accesiones de capulí en la región interandina del Ecuador será posible verificar o medir la representatividad de la variabilidad genética de una colección en relación con la diversidad total o esperada, bajo este aspecto se incluyen los ejemplos de erosión genética o de aparición de nuevas combinaciones genéticas. Los estimadores usados para este fin son el índice de fijación (F), el grado de desequilibrio de ligamiento (D) y el grado de divergencia entre las poblaciones (F_{st} o G_{st}), que comparan la diversidad de las colecciones del mencionado estudio.

6. CRONOGRAMA DE TRABAJO AÑO 2013 y 2014

| Actividad | AÑO 1 | | | | | | | | | | | | AÑO 2 | | | | |
|---|-------|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|---|-------|---|---|---|---|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Revisión de Literatura | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | | | |
| Elaboración y preparación del proyecto | X | X | X | X | X | X | | | | | | | | | | | |
| Caracterización Morfológica <i>in situ</i> | X | X | X | X | X | | | | | | | | | | | | |
| Colecta de Capulí | X | X | | | | | | | | | | | | | | | |
| Estandarización de métodos de extracción de ADN | | | | | | X | X | | | | | | | | | | |
| Procesamiento de muestras colectadas | | | | | | | X | | | | | | | | | | |
| Extracción de ADN | | | | | | | X | X | X | | | | | | | | |
| Genotipaje SSR (corridas) | | | | | | | X | X | X | | | | | | | | |
| Registro de datos del LI-COR 4300S | | | | | | | X | X | X | | | | | | | | |
| Análisis estadístico e interpretación | | | | | | | X | X | X | | | | | | | | |
| Redacción de tesis | | | | | | | | | | X | X | X | X | X | X | X | X |

ANEXO 7. PRESUPUESTO

| Rubro | Unidad | Precio Unitario USD | Cantidad | Costo Total |
|---|---------|---------------------|----------|-------------|
| Personal | | | | |
| Becario | Mensual | 400.00 | 12 | 4.800,00 |
| Materiales de campo | | | | |
| Pinzas | Unidad | 10.00 | 2 | 20.00 |
| Fundas papel | Paquete | 10.00 | 3 | 30.00 |
| Fundas plásticas Ziploc | Paquete | 2.50 | 5 | 12.50 |
| Etiquetas | Rollo | 80.00 | 5 | 80.00 |
| Flexómetro | Unidad | 5.00 | 1 | 5.00 |
| Calibrador | Unidad | 200.00 | 1 | 200.00 |
| Materiales de laboratorio | | | | |
| Materiales Fungibles | | | | |
| Guantes de Vinil | Par | 0.80 | 150 | 120.00 |
| Pinzas | Unidad | 20.00 | 3 | 60.00 |
| Tijeras | Unidad | 2.00 | 2 | 4.00 |
| Tubos Eppendorf | PK/1000 | 27.00 | 6 | 162.00 |
| Gradillas para tubos Eppendorf | Unidad | 16.00 | 3 | 48.00 |
| Puntas 0.5-10 ul | PK/1000 | 17.00 | 5 | 85.00 |
| Puntas 10-200 ul | PK/1000 | 17.00 | 5 | 85.00 |
| Papel aluminio | Rollo | 4.00 | 4 | 16.00 |
| Papel absorbente | Rollo | 4.00 | 8 | 32.00 |
| Parafilm | Rollo | 10.00 | 2 | 20.00 |
| Placas de policarbonato para PCR de 96 muestras | CS/50 | 63.00 | 3 | 189.00 |

| Reactivos | | | | |
|--|--------|---------|------|----------|
| Extracción de ADN | Unidad | 427.70 | 220 | 427.70 |
| Cuantificación de ADN | Unidad | 45.050 | 220 | 45.050 |
| Validación de ADN | Unidad | 325,34 | 220 | 87.30 |
| Amplificación de PCR dúplex de Microsatélites | Unidad | 651.082 | 220 | 651.082 |
| Genotipaje de las muestras en el analizador LI-COR 4300S | Unidad | 320.040 | 220 | 320.040 |
| Análisis de primers | Unidad | 700 | 220 | 700 |
| | | | | 3.053.72 |
| Materiales y Equipo de oficina | | | | |
| Marcadores y lapiceros | Unidad | 1.00 | 20 | 20.00 |
| Resmas de papel bond | Unidad | 5.00 | 5 | 25.00 |
| Copias e impresiones | Unidad | 0.10 | 1415 | 141.50 |
| Empastado de texto | Unidad | 20.00 | 6 | 120.00 |
| Abro <i>spray paint</i> (color rojo) | Unidad | 3.00 | 20 | 60.0 |
| Grampa | Kg | 2.50 | 15 | 37.50 |
| Brocha | Unidad | 2.00 | 1 | 2.00 |
| Total | | | | 406.00 |
| Viáticos y movilización | | | | |
| Viáticos | Unidad | 630 | 9 | 5.670,00 |
| Diesel | Galón | 1.035 | 200 | 270.00 |

| Rubro | Total (USD) |
|---|--------------------|
| Becario | 4.800,00 |
| Equipos | - |
| Material de campo | 347.65 |
| Materiales de laboratorio (Genotipaje de 220 muestras de capulí con 5 primers SSRs utilizando la técnica M13-Tailing) | 3.053,72 |
| Materiales y equipo de oficina | 406.00 |
| Viáticos y movilización | 5.940,00 |
| Total (USD) | 14.547,37 |

8. BIBLIOGRAFÍA.

1. ASHWORTH V.E.T.M., KOBAYASHI, M.C., De La CRUZ, M. y CLEGG, M.T. 2004. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): development of dinucleotide and trinucleotide markers. *ScientiaHorti*, vol. 101, No.3. pp. 255-267.
2. COLOMBO C., SECOND G., LOSADA V. Y CHARRIER A. 1998. Genetic diversity characterization of cassava cultivars (*Manihot esculenta*, Crantz) RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*. Sao Paulo Mar, vol. No.1. 21. pp. 21-113.
3. BALZARINI M. 2010. *Estadística en Biotecnología. Aplicaciones en Info-Gen*. Córdoba, Argentina.: Encuentro Grupo Editor.
4. BALZARINI M. 2004. *Info-Gen: Software para análisis estadístico de datos genéticos*. Argentina.: Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba.
5. FLORES J. 2008. Estudio de capulí e introducción en la cocina de la sierra Ecuatoriana. Tesis de Administrador Gastronómico. Universidad Tecnológica Equinoccial Escuela de Gastronomía. Quito. Ecuador. pp. 6-34.
6. FRESNEDO J., RAMIREZ S., SEGURA A., MURATALLA LUA., 2010. Morphovariability of capulín (*Prunus serótina* Ehrh) in the central-western region of Mexico from a plant genetic resources perspective. *Genet Resour Evol* (2011) 58:481 – 945 DOI 10.1007/s10722-010-9592-2. Mexico. p. 485.
7. GOWER J. 1967. A comparison of some methods of cluster analysis. *Biometrics* 23: 623-627.
8. IBGRI, 2002. Descriptors for groundnut. International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy. pp. 14-15. Recuperado el 15 de octubre de 2012, en:

http://www2.bioversityinternational.org/publications/Web_version/357/begin.htm#Contents.

9. INAMHI, 2012. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. Recuperado el 20 de Diciembre de 2012, en: http://www.inamhi.gob.ec/meteorologia/bdecadal/junio/decada3/bol_jun_de_c3.pdf.
10. 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.
11. LUI K., Y MUSE S. 2005. Power Marker: Integrated analysis environment for genetic marker data *Bioinformatics*: 21 (9): 2128-2129.
12. MARTÍNEZ P., GÓMEZ M., y RUBIO R. 2012. Aplicación de herramientas biotecnológicas en la mejora genética de frutales de género *Prunus* Departamento de Mejora Vegetal. CEBAS-CSIC. Murcia. España, vol. 101, No. 4. p. 325.
13. MORILLO E., y MIÑO G. 2010. Protocolos de Marcadores Moleculares (compilación). Departamento Nacional de Biotecnología del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). Quito. Ecuador. p. 18-19.
14. PIEDRA A. 2004. Caracterización morfológica y de la colección de oca (*Oxalis tuberosa* Mol) del Banco de germoplasma del INIAP. Tesis Lic. Biol. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito. Ecuador. p. 217-236.
15. ROYAL HORTICULTURAL SOCIETY. 1995. RHS color chart. The Standard reference for specifying flower colour. 5 ed. London.
16. RUALES C. 2007. Estudios para la recuperación de la flora nativa en el valle de Tumbaco Distrito Metropolitano de Quito: Inventario Florístico y ensayo de

- propagación vegetativa. Tesis en Magíster Scientiae. Gestión Ambiental. Universidad San Francisco de Quito. Quito. Ecuador. p. 144.
17. SAS 1990. Institute Inc, SAS/STAT R User's Guide, Version 6, Fourth Edition, Volumes 1 and 2, Cary. North Carolina: SAS Institute, Inc.
 18. SUSANNE L. y AMY F. 2000. Polymorphic DNA Markers in Black Cherry (*Prunus serotina* Ehrh) Are Identified Using Sequences from Sweet Cherry, Peach, and Sour Cherry. Department of Horticulture, Michigan State University, East Lansing, Hort. Sci. 125(1): 76-80. p. 3.
 19. URGUILEZ A. 2011. *Análisis de la Diversidad genética del aguacate (Persea americana Miller), cultivado en las zonas productoras de los Valles del Norte de la Sierra Ecuatoriana mediante marcadores moleculares Microsatélites*. Tesis por publicar. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolqui. Ecuador. p. 36 - 41. Por publicar.
 20. UPOV. 2002. Unión Internacional Para la Protección de las Obtenciones Vegetales. Test for Distinctness, Uniformity and Stability. European Plum (*Prunus domestica* L) Geneve. Italia. pp. 8-18.
 21. VAUGH M. 2002. Manual y Paquetes Tecnológicos para el establecimiento y Manejo Integral de capulí *Prunus serotina* Ehrh. Realizado por: Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México. Brittonia. p. 3.
 22. WUNSCH A. 2008. Caracterización Molecular de Cerezo (*Prunus avium* L.) Identificación Varietal. Relaciones de Similitud e Incompatibilidad Polen-Pistilo. Navarra. pp. 15-18.
 23. WRIGTH S. 1965. Interpretation of population structure by F-statistics with special regard to system of mating. Evolution. 19: pp. 395-420.

ANEXOS

Anexo 1. Detalle de las accesiones conservadas de capulí (*Prunus serotina* Ehrh) en el Banco Nacional de Germoplasma DENAREF-INIAP. Ecuador.

| No | ECU | NOMBRE | PROVINCIA |
|----|------|------------------------|-----------|
| 1 | 1337 | <i>Prunus serotina</i> | Cotopaxi |
| 2 | 1359 | <i>Prunus serótina</i> | Bolívar |
| 3 | 1360 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 4 | 1361 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 5 | 1362 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 6 | 1363 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 7 | 1365 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 8 | 1366 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 9 | 1367 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 10 | 1368 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 11 | 1370 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 12 | 1371 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 13 | 1372 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 14 | 1374 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 15 | 1375 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 16 | 1376 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 17 | 1377 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 18 | 1378 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 19 | 1379 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 20 | 1380 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 21 | 1381 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 22 | 1382 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 23 | 1383 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 24 | 1384 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 25 | 1385 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 26 | 1386 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 27 | 1389 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 28 | 1390 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 29 | 1391 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 30 | 1392 | <i>Prunus serótina</i> | Azuay |
| 31 | 1393 | <i>Prunus serótina</i> | Azuay |
| 32 | 1394 | <i>Prunus serótina</i> | Azuay |
| 33 | 1395 | <i>Prunus serótina</i> | Azuay |
| 34 | 1397 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 35 | 1398 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |

| | | | |
|----|-------|------------------------|------------|
| 36 | 1399 | <i>Prunus serótina</i> | Cañar |
| 37 | 1458 | <i>Prunus serótina</i> | Carchi |
| 38 | 1459 | <i>Prunus serótina</i> | Azuay |
| 39 | 1460 | <i>Prunus serótina</i> | Chimborazo |
| 40 | 1461 | <i>Prunus serótina</i> | Azuay |
| 41 | 1462 | <i>Prunus serótina</i> | Chimborazo |
| 42 | 1463 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 43 | 1464 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 44 | 1465 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 45 | 1466 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 46 | 1467 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 47 | 1468 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 48 | 1469 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 49 | 1470 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 50 | 1471 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 51 | 1472 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 52 | 1475 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 53 | 1476 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 54 | 1477 | <i>Prunus serótina</i> | Imbabura |
| 55 | 1478 | <i>Prunus serótina</i> | Carchi |
| 56 | 3759 | <i>Prunus serótina</i> | Azuay |
| 57 | 4363 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 58 | 5191 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 59 | 5192 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 60 | 3759 | <i>Prunus serótina</i> | Pichincha |
| 61 | 4363 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 62 | 5191 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 63 | 5192 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 64 | 5193 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 65 | 5194 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 66 | 6731 | <i>Prunus serótina</i> | Cotopaxi |
| 67 | 12433 | <i>Prunus serótina</i> | Tungurahua |

Anexo 2. Descriptores que se utilizarán en la caracterización morfoagronómica *in situ*.

1. Hábito de crecimiento.

Se evaluará por apreciación visual a cada uno de los árboles, según la siguiente escala (figura 1).

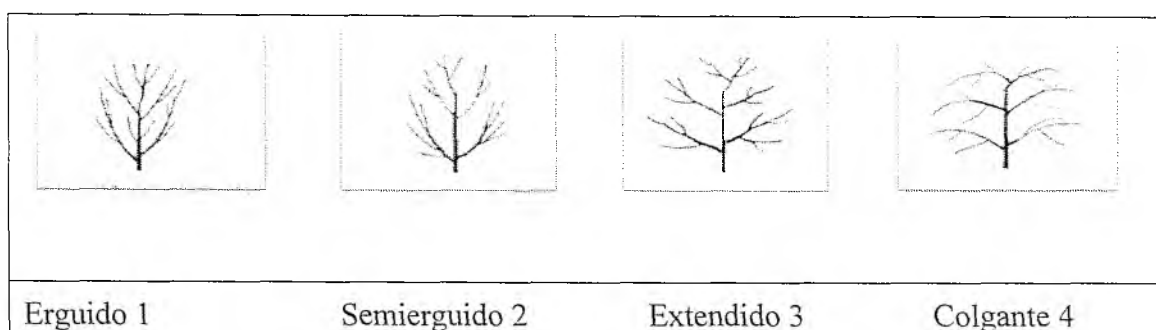


Figura 1. Esquema del hábito de crecimiento en árboles de capulí.

2. Diámetro del tallo (cm).

Se medirá con un fléxometro, la circunferencia del fuste de la altura del pecho del evaluador (± 1.30 metros) y posteriormente se dividirá la circunferencia del fuste entre ($\pi = 3,1417$).

3. Altura total (m).

Se estimará empleando el clinómetro, el cual en base al ángulo entre la base y la punta del árbol determina su altura. El dato del clinómetro se transforma mediante teorema de Pitágoras.

4. Altura de inserción de ramas secundarias (m).

Dato que se obtendrá empleando un fléxometro y se registrará el valor medido desde el nivel del suelo hasta la altura de inserción de ramas secundarias.

5. Número de ramas secundarias.

Para este descriptor se registrará el número de ramas secundarias ubicadas a continuación del tallo principal, se hará conteo directo.

6. Forma de la copa.

Se determinará por apreciación visual directa según la siguiente escala (Figura 2).

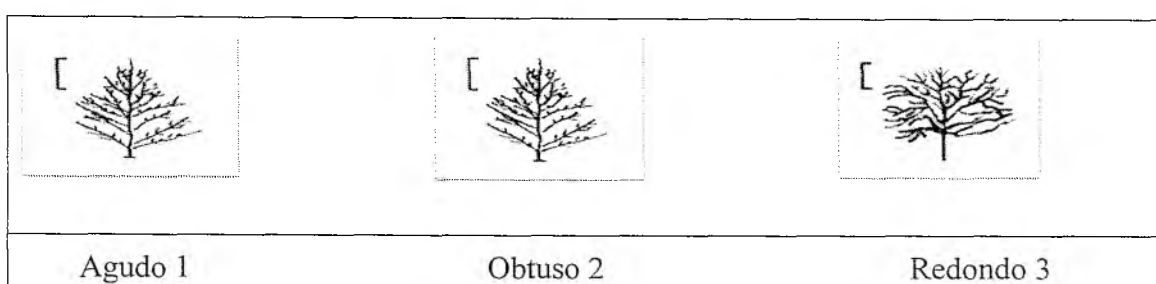


Figura 2. Esquema de formas de la copa de árboles de capulí.

7. Forma de las ramas.

Se evaluará por apreciación visual directa en cada árbol, según la siguiente escala (Figura 3).

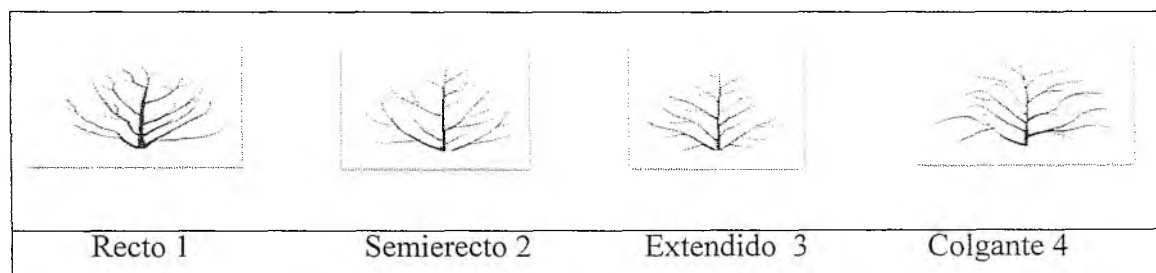


Figura 3. Esquema de forma de las ramas en árboles de capulí.

8. Presencia de yemas vegetativas en ramas secundarias.

Se determinará la presencia y ausencia de forma visual en ramas terciarias según la siguiente escala:

| | |
|----|---|
| No | 0 |
| Si | 1 |

9. Forma de la hoja.

Se evaluará contando la quinta hoja desde el ápice de la "rama terciaria" para lo cual el folíolo debe estar completamente abierto, según la escala en la figura 4.

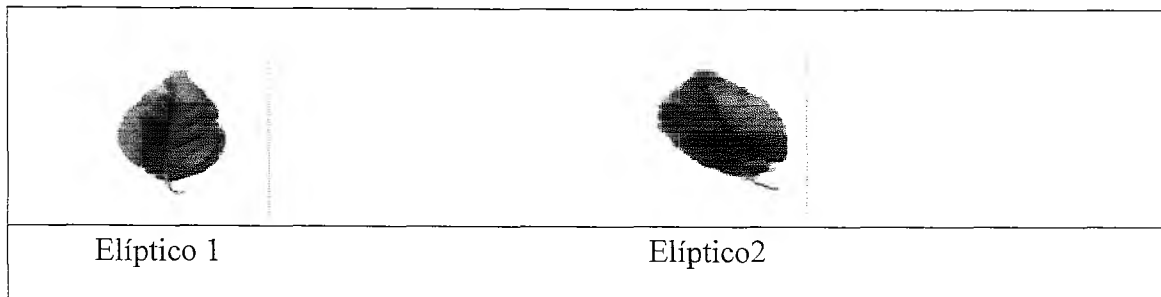


Figura 4. Esquema de formas de la hoja en árboles de capulí.

10. Base de la hoja.

Se registrará por apreciación directa visual contando la quinta hoja de la rama terciaria, según la escala de la figura 5.

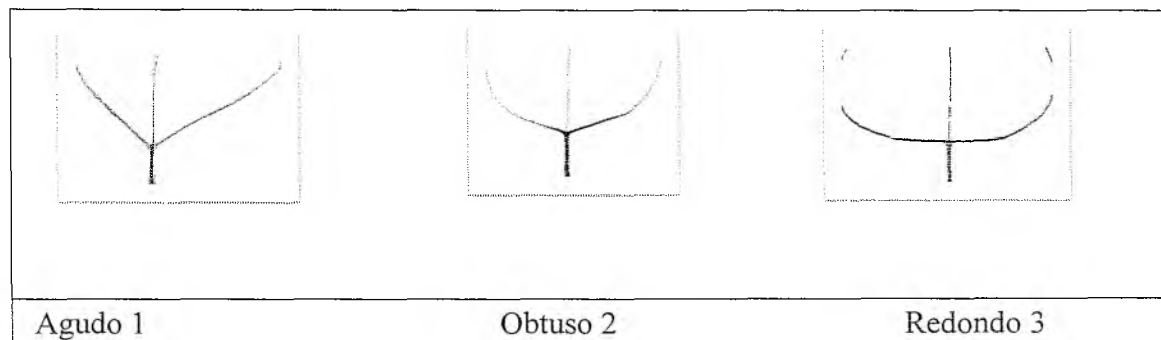


Figura 5. Esquema de las bases de las hojas de capulí.

11. Longitud del pecíolo de la hoja (mm).

Se medirá el pecíolo empleando un calibrador. Para esto se tomarán 10 hojas al azar en 10 ramas terciarias diferentes. Se contará la quinta hoja desde el ápice terminal de la rama terciaria seleccionada hasta su base.

12. Diámetro del pecíolo de la hoja (mm).

Se medirá el pecíolo empleando un calibrador. Para esto se tomarán 10 hojas al azar en 10 ramas terciarias diferentes. Se contará la quinta hoja desde el ápice terminal de la rama terciaria seleccionada hasta su base.

13. Ápice de la hoja.

Se registrará por apreciación visual directa de tres hojas (al azar) de las seleccionadas para los descriptores anteriores, según la escala de la figura 6.

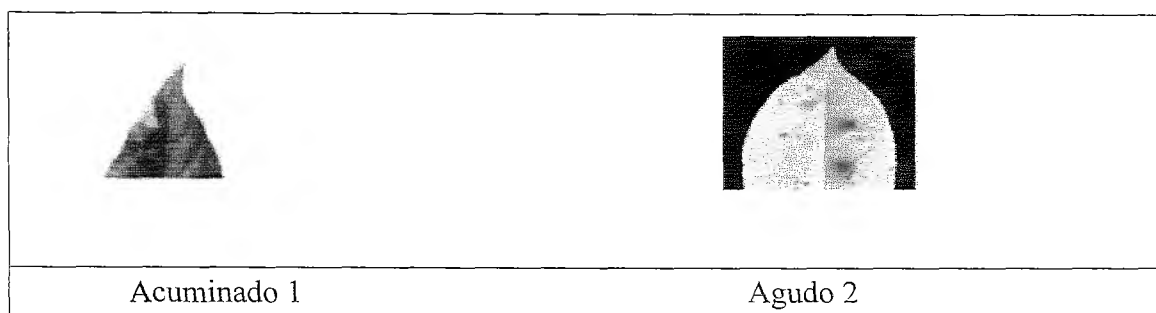


Figura 6. Esquema de formas de los ápices de las hojas en capulí.

14. Color de las hojas.

Se determinará según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS, 1995) en el momento de la caracterización, *in situ* codificando según los colores que presenten.

15. Longitud de la hoja (mm).

Se medirá empleando un calibrador, en 10 hojas al azar, la quinta del ápice terminal de la rama terciaria desde el punto de inserción del pecíolo en la base del tallo hasta su ápice.

16. Ancho de la hoja (mm).

Se medirá empleando un calibrador, en 10 hojas al azar, contando la quinta del ápice terminal de la rama terciaria para lo cual el folíolo debe estar completamente abierto.

17. Presencia de pubescencia en el envés de la hoja.

Se determinará visualmente la presencia y ausencia de pubescencia en cinco hojas por entrada, cuando los árboles se encuentren en etapa de floración, según la siguiente escala:

| | |
|----|---|
| No | 0 |
| Si | 1 |

18. Inserción del borde.

Se evaluará el margen extremo en la hoja por apreciación visual directa en la quinta hoja desde el ápice terminal de la rama terciaria, según la escala de la (figura 7).

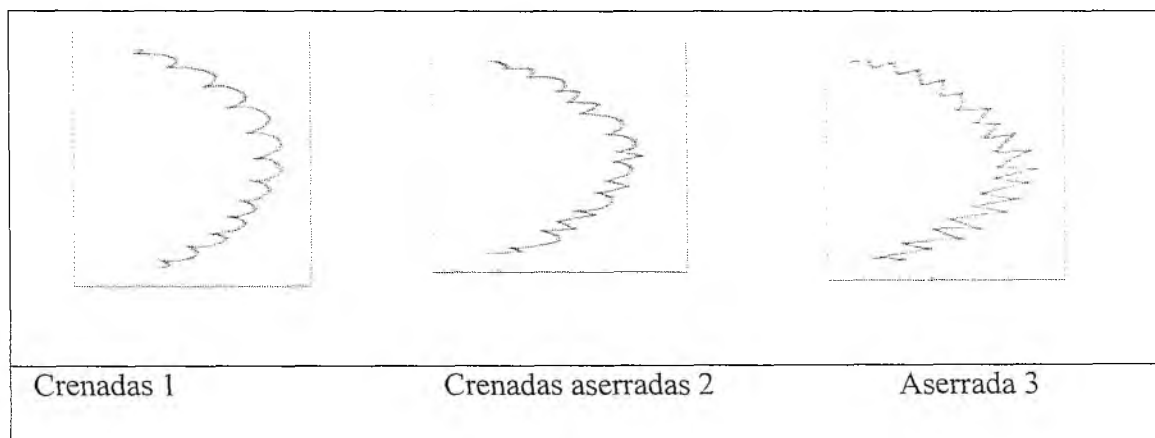


Figura 7. Esquema de la inserción de los bordes de las hojas en capulí.

19. Forma de la inflorescencia.

Se determinará cuando los árboles estén en la etapa de floración. Para esto se tomarán cinco inflorescencias por árbol seleccionadas al azar de las ramas terciarias. La evaluación se realizará de forma visual, de acuerdo a la escala (figura 8).

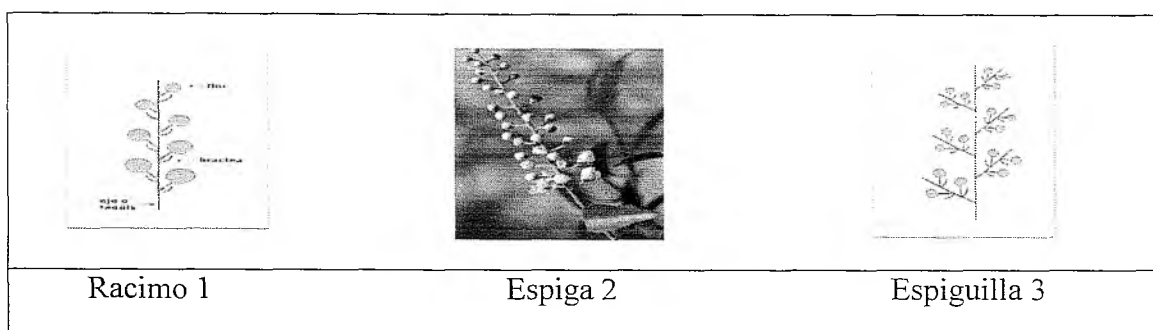


Figura 8. Esquema de las forma de las inflorescencias de capulí.

20. Longitud de inflorescencia (excluida el pedúnculo) (mm).

En la etapa de floración se tomarán 10 inflorescencias (la tercera de la rama terciaria), se medirá con un calibrador. Se medirá la inflorescencia desde la base excluido el pedúnculo hasta el ápice terminal.

21. Número de inflorescencia por rama terciaria.

Cuando el árbol presente más del 50% en floración, se evaluará esta variable contando el número total de inflorescencias que se encuentren en una rama terciaria. Esto se realizará en 10 diferentes ramas terciarias tomadas al azar.

22. Tipo de flor.

En la etapa de floración, se registrará por apreciación visual directa, de acuerdo a la siguiente escala (Figura 9).

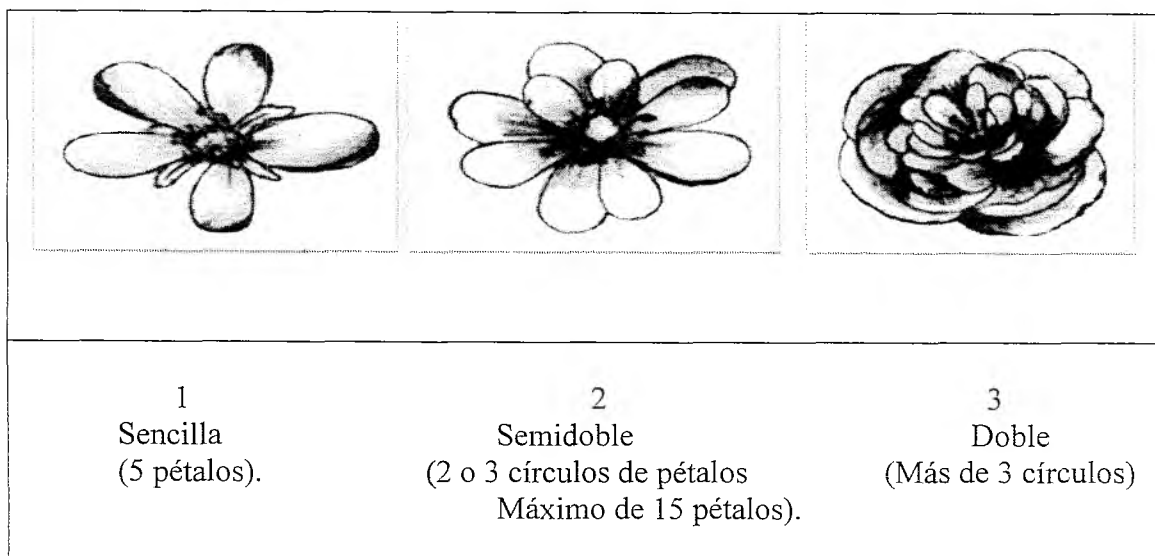


Figura 9. Esquema del tipo de flores de él capulí.

23. Color del pedúnculo floral.

Se determinará según la tabla de colores de Royal Horticultural Society (RHS, 1995).

24. Longitud del pedúnculo floral (mm).

Se registrará empleando un calibrador. Esta variable se registrará en cinco pedúnculos de las inflorescencias colectadas para el descriptor 21. Se tomará el dato desde el punto de inserción del cojinete floral hasta la inserción con el cáliz.

25. Color de la flor.

Se determinará según la tabla de colores de Royal Horticultural Society (RHS, 1995).

26. Diámetro de la flor (mm).

Se medirá empleando un calibrador, tomadas al azar en cinco flores.

27. Longitud de sépalo (mm).

Se evaluará empleando un calibrador en cinco flores (la tercera flor desde el inicio del sépalo hasta su ápice).

28. Ancho de sépalo, (ubicado en la parte más ancha).

Se evaluará en milímetros empleando un calibrador. Este descriptor se registrará en cinco sépalos tomados al azar, de la parte más ancha de la inflorescencia.

29. Orientación de los sépalos.

Se evaluará por observación directa al azar en cinco flores de acuerdo a la disposición en relación al cáliz. Se usará la siguiente escala:

| | |
|---|---|
| Replegados (ápice del sépalo con dirección al cáliz): | 0 |
| Horizontal (ápice del sépalo con dirección contraria al cáliz): | 1 |

30. Posición de las anteras.

Se registrará visualmente en cinco flores la posición de las anteras según la siguiente escala:

| | |
|--|---|
| Ausente (anteras que no están cubiertas por la capucha): | 0 |
| Normal (anteras cubiertas por la capucha): | 1 |

31. Longitud de la flor (mm).

Se medirá empleando un calibrador en cinco flores (la tercera tomando en cuenta el inicio de la inflorescencia). Se medirá desde el punto de inserción de los sépalos con el pedúnculo, hacia el ápice.

32. Hábito de floración.

Se preguntará al productor y se registrará, según la siguiente escala:

| | |
|-----------------------|---|
| Florece una sola vez: | 1 |
| Florece dos veces: | 2 |
| Floración continúa: | 3 |

33. Forma del fruto.

En la fase de madurez óptima se registrará por apreciación visual directa, según la siguiente escala (Figura 9).



Figura 9. Esquema de formas de los frutos de capulí.

34. Forma de inserción del pedúnculo del fruto.

Se evaluará en la fase de madurez óptima, por apreciación visual directa entre la unión del fruto y el pedúnculo, según la siguiente escala (Figura 10).



Figura 10. Esquema de las formas de inserción de pedúnculo del fruto de capulí.

35. Forma de ápice del fruto.

En la fase de madurez óptima se evaluará por apreciación visual, según la siguiente escala (Figura 11).

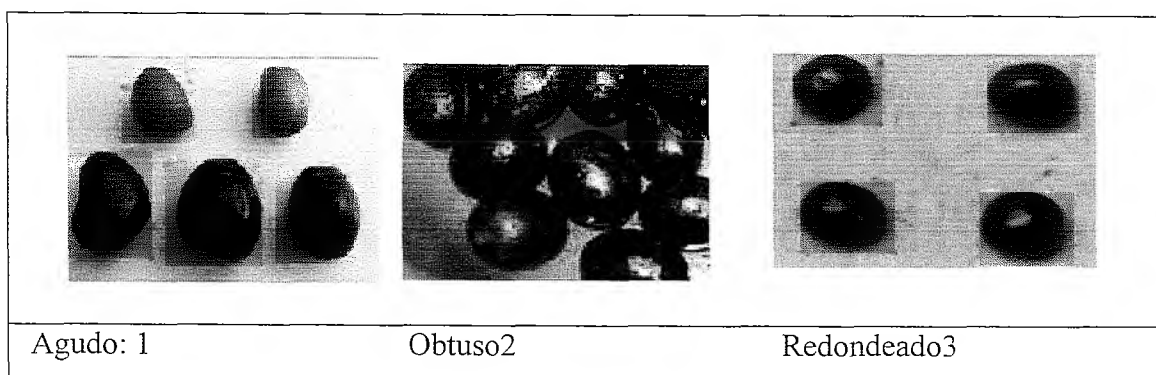


Figura 11. Esquema de las formas de ápices del fruto de capulí.

36. Tipo de fruto.

Se registrará según la clasificación botánica, de acuerdo a la siguiente escala (Figura 12).

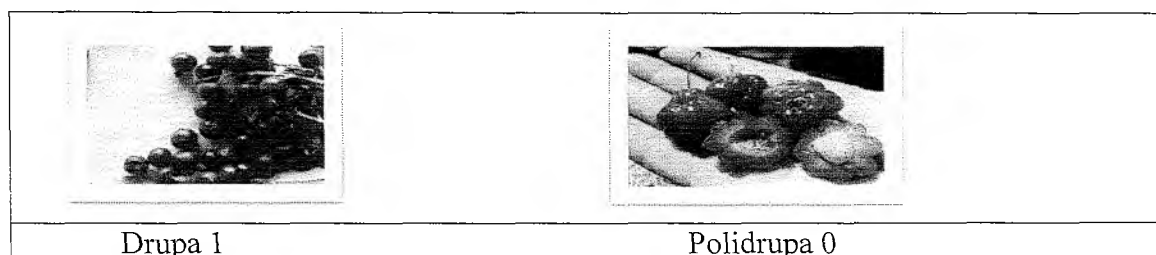


Figura 12. Esquema del tipo de frutos de capulí.

37. Diámetro polar del fruto (mm).

En el momento de la cosecha se registrará empleando un calibrador. Se tomará 10 frutos al azar.

38. Diámetro ecuatorial del fruto (mm).

En el momento de la cosecha se registrará en el centro del fruto, empleando un calibrador en 10 frutos tomados al azar.

39. Peso de la epidermis del fruto (g).

Se pesará la piel de 10 frutos blando (maduro) empleando una balanza de precisión, y se registrará de varios frutos para sacar un promedio.

40. Color de la epidermis.

Se determinará según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS, 1995).

41. Espesor de la piel de la fruto (mm).

Se medirá solamente la epidermis sin la pulpa empleando un calibrador en 10 frutos tomados al azar (Fresnedo J *et al.*, 2010).

42. Color de la pulpa del fruto.

Se determinará según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS, 1995), realizando un corte tangencial en el fruto.

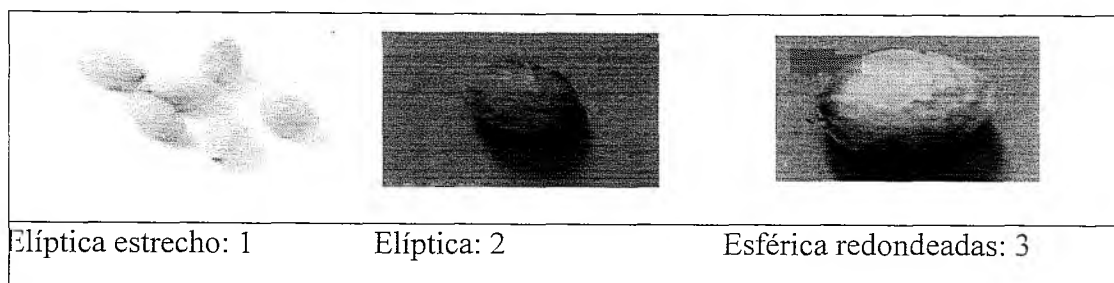
43. Susceptibilidad agrietamiento fruto.

Se podrán al ambiente en fundas de papel después de 24 horas de esperará (Fresnedo J *et al.*, 2010), se registrará según la escala:

| | |
|---------------------|---|
| Sin agrietamiento: | 0 |
| Poco agrietamiento: | 1 |
| Agrietado: | 2 |

44. Forma general de la semilla.

En la fase de maduración óptima se evaluarán diez semillas por apreciación visual, según la siguiente escala:



45. Longitud de la semilla (mm)

En la fase de maduración óptima se registrará empleando un calibrador. Se tomará en 10 semillas al azar (Fresnedo J *et al.*, 2010).

46. Diámetro de la semilla (mm)

En la fase de maduración óptima se registrará empleando un calibrador. Se tomará en 10 semillas al azar (Fresnedo J *et al.*, 2010).

47. Color de la semilla.

Se determinará según la tabla de colores de la Royal Horticultural Society (RHS, 1995).

48. pH

Se medirá el pH mediante el uso de potenciómetro. Para esto se extraerá con un lienzo fino el jugo de 50 gramos de capulí, cuando el valor del pH no varíe, se registrará el valor obtenido.

49. Acidez.

Se medirá, mediante el método de titulación. Se tomarán 1 gramo de jugo de capulí con semilla extraído con lienzo fino, el cual será homogenizado, se colocará dos gotas de solución de fenolftaleína y se procederá a la titulación con NaOH 0.1 N, vertiendo gota a gota hasta llegar el pH 8.2 o hasta observar el cambio de rozado a naranja. Se determinará la acidez empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez (\%)} = \mathbf{B \times N \times E \times 100 / W.}$$

Donde

B= mL de NaOH

N = Normalidad de NaOH

E = Representativo de la fruta

P = Peso muestra en mg o ml

50. Grados Brix del fruto.

Se tomarán en 10 frutos por entrada exprimiendo el zumo sobre el lente para determinar la concentración de Grados Brix y se evaluará por el método refractométrico, exponiendo el jugo de la fruta. Se expresará la cantidad de azúcares reductores en la pulpa como el índice refractométrico.

51. Porcentaje de materia seca en el fruto.

Se pesarán 30 gramos de fruta fresca sin semilla puestos en cajas petri con el código de colecta, y se someterá al secado en la estufa 75°C durante 72 horas, y se calculará mediante la siguiente fórmula: **M.S. (%) = (W_{seco} / W_{inicial}) x 100;**

Dónde.

MS = Materia seca en %

W seco= Peso Seco

W inicial = Peso inicial o fresco.

52. Peso del fruto (g).

Se pesarán en una balanza de precisión en 10 frutos cosechados y maduros, para obtener un valor promedio.

53. Peso de la semilla (g).

Se pesará 100 semillas maduras tomadas al azar en una balanza de precisión, para obtener un valor promedio.

ANEXO 3. Localidades georeferenciadas en la Región Interandina del Ecuador.

| No. CODIGO DE COLECTA | PROVINCIA | CANTÓN | PARROQUIA | LOCALIDAD | # de árboles Encontrados |
|------------------------------|------------------|---------------|------------------|-----------------------|---------------------------------|
| EB-JCH 001 | Cotopaxi | Toacazo | Monjas | Monjas | 53 |
| EB-JCH 002 | Cotopaxi | Toacazo | Monjas | Monjas | |
| EB-JCH 003 | Cotopaxi | Latacunga | Toacazo | Yugsigche Alto | |
| EB-JCH 004 | Cotopaxi | Latacunga | Toacazo | Yugsigche Alto | |
| EB-JCH 005 | Cotopaxi | Latacunga | Toacazo | Yugsigche Alto | |
| EB-JCH 006 | Cotopaxi | Latacunga | Latacunga | Llactayu Grande | |
| EB-JCH 007 | Cotopaxi | Latacunga | Tanicuchi | Santa Ana | |
| EB-JCH 008 | Cotopaxi | Latacunga | Tanicuchi | Santa Ana | |
| EB-JCH 009 | Cotopaxi | Latacunga | Tanicuchi | Santa Ana | |
| EB-JCH 010 | Cotopaxi | Latacunga | Tanicuchi | Santa Ana | |
| EB-JCH 011 | Cotopaxi | Pujili | 11 de Noviembre | Cristo Rey sur | |
| EB-JCH 012 | Cotopaxi | Pujili | 11 de Noviembre | Cristo Rey sur | |
| EB-JCH 013 | Cotopaxi | Latacunga | 11 de Noviembre | San Gerardo | |
| EB-JCH 014 | Cotopaxi | Latacunga | 11 de Noviembre | Barrio la Libertad | |
| EB-JCH 015 | Cotopaxi | Latacunga | Poalo | Las Parcelas de plano | |
| EB-JCH 016 | Cotopaxi | Latacunga | Poalo | Las Parcelas de plano | |
| EB-JCH 017 | Cotopaxi | Latacunga | Poalo | Las Parcelas de plano | |
| EB-JCH 018 | Cotopaxi | Latacunga | Poalo | San Rafael | |
| EB-JCH 019 | Cotopaxi | Latacunga | Poalo | San Rafael | |
| EB-JCH 020 | Cotopaxi | Latacunga | Poalo | San Rafael | |
| EB-JCH 021 | Cotopaxi | Latacunga | Poalo | San Rafael | |
| EB-JCH 022 | Cotopaxi | Saquisilí | Chanillin | Unión Panamericana | |

| | | | | |
|-------------------|----------|-----------|-----------------|---------------------|
| EB-JCH 023 | Cotopaxi | Saquisilí | Chanillín | Unión Panamericana |
| EB-JCH 024 | Cotopaxi | Latacunga | Guaytacama | Barrio Santa Ana |
| EB-JCH 025 | Cotopaxi | Latacunga | Guaytacama | Barrio Santa Ana |
| EB-JCH 026 | Cotopaxi | Latacunga | Guaytacama | Barrio Santa Ana |
| EB-JCH 027 | Cotopaxi | Latacunga | Mulalo | Mulalo |
| EB-JCH 028 | Cotopaxi | Latacunga | Mulalo | Mulalo |
| EB-JCH 029 | Cotopaxi | Latacunga | Santa Marianita | Jose Guabo Bajoi |
| EB-JCH 030 | Cotopaxi | Latacunga | Santa Marianita | Jose Guabo Bajoi |
| EB-JCH 031 | Cotopaxi | Salcedo | Cusubamba | Barrio Oriente |
| EB-JCH 032 | Cotopaxi | Salcedo | Cusubamba | Barrio Oriente |
| EB-JCH 033 | Cotopaxi | Salcedo | Cusubamba | Barrio Oriente |
| EB-JCH 034 | Cotopaxi | Salcedo | Cusubamba | Barrio Oriente |
| EB-JCH 035 | Cotopaxi | Salcedo | Cusubamba | Chirinche Maldonado |
| EB-JCH 036 | Cotopaxi | Salcedo | Cusubamba | Chirinche Maldonado |
| EB-JCH 037 | Cotopaxi | Salcedo | Cusubamba | Chirinche Maldonado |
| EB-JCH 038 | Cotopaxi | Salcedo | San Miguel | Yana Yanayacu |
| EB-JCH 039 | Cotopaxi | Salcedo | San Miguel | Yana Yanayacu |
| EB-JCH 040 | Cotopaxi | Salcedo | | Achilivi |
| EB-JCH 041 | Cotopaxi | Salcedo | | Achilivi |
| EB-JCH 042 | Cotopaxi | Salcedo | Salcedo | Quilalo 4 Esquinas |
| EB-JCH 043 | Cotopaxi | Salcedo | Salcedo | Quilalo 4 Esquinas |
| EB-JCH 044 | Cotopaxi | Latacunga | Cuicuno | Buena Esperanza |
| EB-JCH 045 | Cotopaxi | Latacunga | Cuicuno | Buena Esperanza |
| EB-JCH 046 | Cotopaxi | Latacunga | Cuicuno | Buena Esperanza |
| EB-JCH 047 | Cotopaxi | Latacunga | Tanicuchi | San Pedro |
| EB-JCH 048 | Cotopaxi | Latacunga | Tanicuchi | San Pedro |

| | | | | | |
|----------------------|------------|-----------|-------------------|--------------------|----|
| EB-JCH 049 | Cotopaxi | Latacunga | Belisario Quevedo | San Miguel Pampa | |
| EB-JCH 050 | Cotopaxi | Latacunga | Belisario Quevedo | San Miguel Pampa | |
| EB-JCH 051 | Cotopaxi | Latacunga | Belisario Quevedo | San Miguel Pampa | |
| EB-JCH 052 | Cotopaxi | Latacunga | Belisario Quevedo | San Miguel Pampa | |
| EB-JCH 053 | Cotopaxi | Latacunga | Salcedo | Salache San Jose | |
| EB-JV-JCH 054 | Tungurahua | Pelileo | La Matriz | Huasipampa | |
| EB-JV-JCH 055 | Tungurahua | Pelileo | La Matriz | Huasipampa | |
| EB-JV-JCH 056 | Tungurahua | Pelileo | Cotalo | Comunidad Chacauco | |
| EB-JV-JCH 057 | Tungurahua | Pelileo | Cotalo | Comunidad Chacauco | |
| EB-JV-JCH 058 | Tungurahua | Pelileo | Garcia Moreno | Pamatug | |
| EB-JV-JCH 059 | Tungurahua | Pelileo | Garcia Moreno | Pamatug | |
| EB-JV-JCH 060 | Tungurahua | Pelileo | Garcia Moreno | Pamatug | |
| EB-JV-JCH 061 | Tungurahua | Pelileo | Salasaca | Rumiñahui Grande | |
| EB-JV-JCH 062 | Tungurahua | Pelileo | Salasaca | Rumiñahui Grande | |
| EB-JV-JCH 063 | Tungurahua | Pelileo | Salasaca | Rumiñahui Grande | |
| EB-JV-JCH 064 | Tungurahua | Pelileo | Salasaca | Rumiñahui Grande | 33 |
| EB-JV-JCH 065 | Tungurahua | | | Chamo | |
| EB-JV-JCH 001 | Tungurahua | Pillaro | San Miguelito | Barrio el Rosario | |
| EB-JV-JCH 002 | Tungurahua | Patate | Los Andes | El Rosario | |
| EB-JV-JCH 003 | Tungurahua | Patate | Los Andes | Galpon | |
| EB-JV-JCH 004 | Tungurahua | Quero | Quero | Quero | |
| EB-JV-JCH 005 | Tungurahua | Quero | Quero | Quero | |
| EB-JV-JCH 006 | Tungurahua | Quero | Quero | Quero | |
| EB-JV-JCH 007 | Tungurahua | Cevallos | Cevallos | Tambo Centro | |
| EB-JV-JCH 008 | Tungurahua | Cevallos | Cevallos | Cevallos | |
| EB-JV-JCH 009 | Tungurahua | Cevallos | La Matriz | Santa Rosa | |

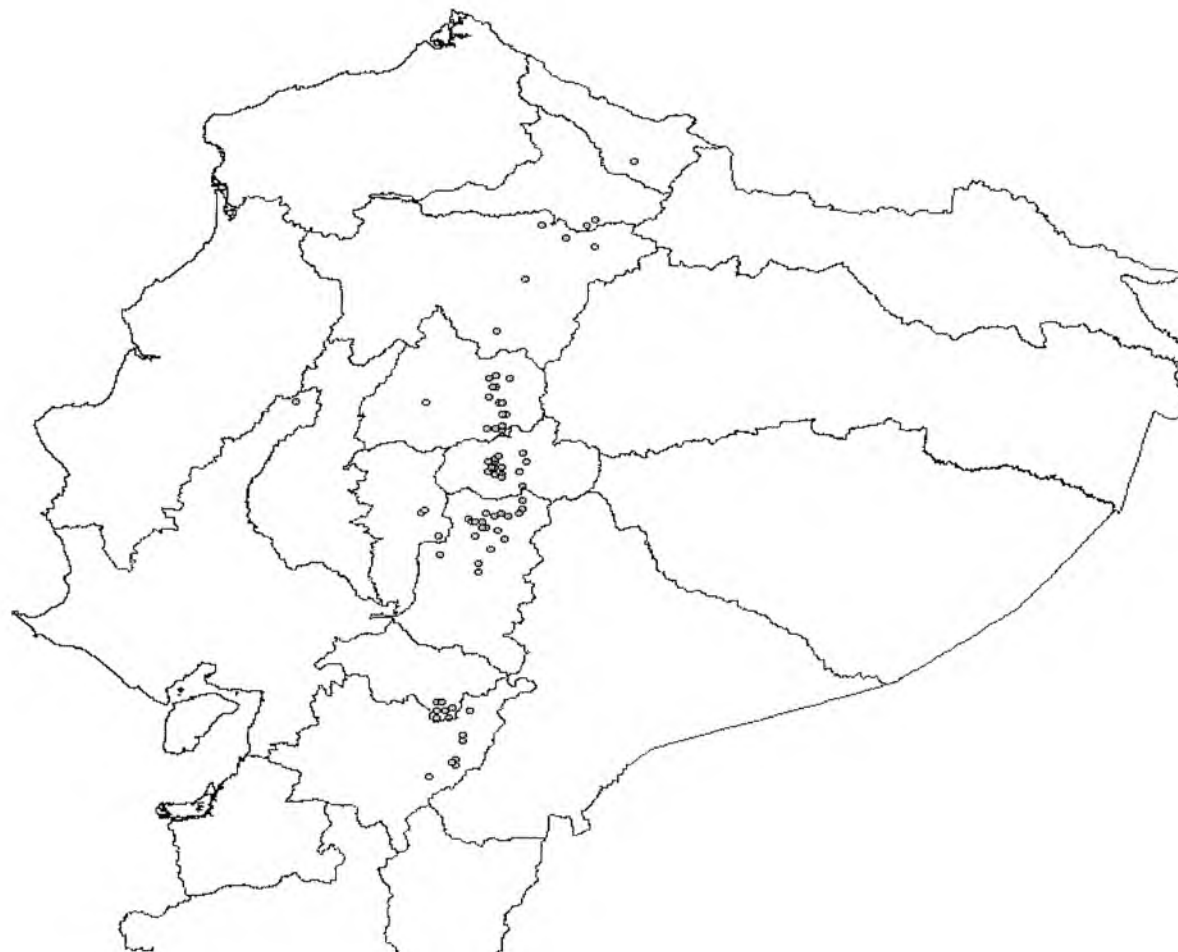
| | | | | | | |
|----------------------|------------|------------|---------------|----------------------------|--|----|
| EB-JV-JCH 010 | Tungurahua | Ambato | Totoras | Hachi Totoras | | |
| EB-JV-JCH 011 | Tungurahua | Ambato | Totoras | Huachi Totoras | | |
| EB-JV-JCH 012 | Tungurahua | Ambato | Totoras | Huachi Grande | | |
| EB-JV-JCH 013 | Tungurahua | Ambato | Totoras | Huachi Grande | | |
| EB-JV-JCH 014 | Tungurahua | Ambato | Huachi Grande | Huachi La Libertad | | |
| EB-JV-JCH 015 | Tungurahua | Tisaleo | Tisaleo | Tisaleo | | |
| EB-JV-JCH 016 | Tungurahua | Tisaleo | Tisaleo | Tisaleo | | |
| EB-JV-JCH 017 | Tungurahua | Tisaleo | Tisaleo | Tisaleo | | |
| EB-JV-JCH 018 | Tungurahua | Ambato | Huachi Grande | Barrio Huachi la Magdalena | | |
| EB-JV-JCH 019 | Tungurahua | Ambato | Huachi Grande | Barrio Huachi la Magdalena | | |
| EB-JV-JCH 020 | Tungurahua | Ambato | Santa Rosa | Miñarica San Jose | | |
| EB-JV-JCH 021 | Tungurahua | Ambato | Santa Rosa | Miñarica San Jose | | |
| EB-JV-JCH 022 | Bolivar | San Miguel | Matriz | Los Angeles | | 6 |
| EB-JV-JCH 023 | Bolivar | Guaranda | Guanujo | El Sinche | | |
| EB-JV-JCH 024 | Bolivar | Guaranda | Guanujo | El Sinche | | |
| EB-JV-JCH 025 | Bolivar | Guaranda | Guanujo | Las Cochas | | |
| EB-JV-JCH 026 | Bolivar | Guaranda | Guanujo | Las Cochas | | |
| EB-JV-JCH 027 | Bolivar | Guaranda | Veintimilla | Negro Yacu | | |
| EB-JV-JCH 028 | Chimborazo | Guano | La Matriz | Alacau | | 27 |
| EB-JV-JCH 029 | Chimborazo | Guano | La Matriz | Alacau | | |
| EB-JV-JCH 030 | Chimborazo | Guano | La Matriz | Alacau | | |
| EB-JV-JCH 031 | Chimborazo | Guano | La Matriz | Alacau | | |
| EB-JV-JCH 032 | Chimborazo | Guano | La Matriz | Alacau | | |
| EB-JV-JCH 033 | Chimborazo | Guano | El Rosario | Langos Panamericana | | |
| EB-JV-JCH 034 | Chimborazo | Guano | El Rosario | Langos Panamericana | | |
| EB-JV-JCH 035 | Chimborazo | Guano | El Rosario | Langos Panamericana | | |

| | | | | | |
|----------------------|------------|----------|-------------------|------------------------|----|
| EB-JV-JCH 036 | Chimborazo | Guano | Guano | Langos 11 de Noviembre | |
| EB-JV-JCH 037 | Chimborazo | Guano | San Isidro | Obraje | |
| EB-JV-JCH 038 | Chimborazo | Guano | San Andrés | La Panadella | |
| EB-JV-JCH 039 | Chimborazo | Guamote | La Matriz | San Pedro de Ayacon | |
| EB-JV-JCH 040 | Chimborazo | Colta | Columbe | San Isidro de Columbe | |
| EB-JV-JCH 041 | Chimborazo | Colta | Columbe | San Isidro de Columbe | |
| EB-JV-JCH 042 | Chimborazo | Colta | Cajabamba | Cantarilla | |
| EB-JV-JCH 043 | Chimborazo | Colta | Cajabamba | Cantarilla | |
| EB-JV-JCH 044 | Chimborazo | Guano | La Matriz | Chingazo Alto | |
| EB-JV-JCH 045 | Chimborazo | Penipe | Bayushig | Bayushig | |
| EB-JV-JCH 046 | Chimborazo | Penipe | Puela | El Tingo | |
| EB-JV-JCH 047 | Chimborazo | Guano | La Providencia | Pungal Quinche | |
| EB-JV-JCH 048 | Chimborazo | Chambo | La Matriz | Batan | |
| EB-JV-JCH 049 | Chimborazo | Riobamba | Flores | Santa Rosa | |
| EB-JV-JCH 050 | Chimborazo | Riobamba | Punin | Chuipe | |
| EB-JV-JCH 051 | Chimborazo | Riobamba | Punin | Chipe | |
| EB-JV-JCH 052 | Chimborazo | Riobamba | San Juan | Chancaguan | |
| EB-JV-JCH 053 | Chimborazo | Riobamba | San Juan | Chancaguan | |
| EB-JV-JCH 054 | Chimborazo | Riobamba | San Juan | Chancaguan | |
| EB-JV-JCH 055 | Loja | Saraguro | Tenta | Pallama | 2 |
| EB-JV-JCH 056 | Loja | Saraguro | Urdaneta | Baber | |
| EB-JV-JCH 057 | Azuay | Azuay | San Felipe de Oña | San Pedro de Hornillos | |
| EB-JV-JCH 058 | Azuay | Azuay | Nabon | Nabon | |
| EB-JV-JCH 059 | Azuay | Azuay | Nabon | Nabon | 19 |
| EB-JV-JCH 060 | Azuay | Azuay | Nabon | Nabon | |
| EB-JV-JCH 061 | Azuay | Nabon | Nabon | San Miguel de Rañas | |

| | | | | | |
|----------------------|-----------|-----------|---------------|-------------------|----|
| EB-JV-JCH 062 | Azuay | Cuenca | Cumbe | Sucre | |
| EB-JV-JCH 063 | Azuay | Paute | Paute | Virgen Pamaba | |
| EB-JV-JCH 064 | Azuay | Paute | San Cristobal | La Pamba | |
| EB-JV-JCH 065 | Azuay | Paute | San Cristobal | Guachun | |
| EB-JV-JCH 066 | Azuay | Sigsig | Sigsig | Zhuzho | |
| EB-JV-JCH 067 | Azuay | Sigsig | Cuchil | Rascorral | |
| EB-JV-JCH 068 | Azuay | Sigsig | Cuchil | Rascorral | |
| EB-JV-JCH 069 | Azuay | Sigsig | Sigsig | Curin | |
| EB-JV-JCH 070 | Azuay | Sigsig | Sigsig | Curin | |
| EB-JV-JCH 071 | Azuay | Sigsig | Gima | Tacadel | |
| EB-JV-JCH 072 | Azuay | Chordeleg | Chordeleg | Virgen Pamaba | |
| EB-JV-JCH 073 | Azuay | Cuenca | Ricaurte | Maria Auxiliadora | |
| EB-JV-JCH 074 | Azuay | Cuenca | Ricaurte | Maria Auxiliadora | |
| EB-JV-JCH 075 | Azuay | Cuenca | Sidcay | San Vicente | |
| EB-JV-JCH 076 | Cañar | Biblian | Sageo | Cruz Verde Sageo | |
| EB-JV-JCH 077 | Cañar | Biblian | Sageo | Queshan | |
| EB-JV-JCH 078 | Cañar | Biblian | Sageo | Queshan | |
| EB-JV-JCH 079 | Cañar | Biblian | Sageo | Cunchincay | |
| EB-JV-JCH 080 | Cañar | Azoguez | Javier Loyola | El Cisne | |
| EB-JV-JCH 081 | Cañar | Azoguez | Javier Loyola | El Cisne | 11 |
| EB-JV-JCH 082 | Cañar | Biblian | Biblian | San Jose | |
| EB-JV-JCH 083 | Cañar | Biblian | Biblian | San Antonio | |
| EB-JV-JCH 084 | Cañar | Biblian | Turupamba | Alpachaca | |
| EB-JV-JCH 085 | Cañar | Azoguez | Cojitambo | San Miguel | |
| EB-JV-JCH 086 | Cañar | Deleg | Deleg | Dubllay | |
| EB-JV-JCH 087 | Pichincha | Quito | San José | La chonta | 8 |

| | | | | | |
|----------------------|-----------|---------------|---------------|------------------|-----|
| EB-JV-JCH 088 | Pichincha | Quito | San José | La chonta | |
| EB-JV-JCH 089 | Pichincha | Mejia | Tambillo | Sangolqui | |
| EB-JV-JCH 090 | Pichincha | Mejia | Tambillo | San Rafael | |
| EB-JV-JCH 091 | Pichincha | Cayambe | Matriz | Guaycopata | |
| EB-JV-JCH 092 | Pichincha | Cayambe | Matriz | Guaycopata | |
| EB-JV-JCH 093 | Pichincha | Pedro Moncayo | Machilqui | Machilqui | |
| EB-JV-JCH 094 | Pichincha | Pedro Moncayo | Toacachi | Tabacundo | |
| EB-JV-JCH 095 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Angla | |
| EB-JV-JCH 096 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Angla | |
| EB-JV-JCH 097 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Cazco Valenzuela | |
| EB-JV-JCH 98 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Cazco Valenzuela | |
| EB-JV-JCH 099 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Cazco Valenzuela | |
| EB-JV-JCH 100 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Cazco Valenzuela | 11 |
| EB-JV-JCH 101 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Araque | |
| EB-JV-JCH 102 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Eugenio Espejo | |
| EB-JV-JCH 103 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Gualabí | |
| EB-JV-JCH 104 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Cazco Valenzuela | |
| EB-JV-JCH 105 | Imbabura | Otavalo | San Pablo | Angla | |
| EB-JV-JCH 106 | Carchi | Montúfar | García Moreno | García Moreno | |
| EB-JV-JCH 107 | Carchi | Montúfar | García Moreno | García Moreno | |
| EB-JV-JCH 108 | Carchi | Montúfar | García Moreno | García Moreno | 5 |
| EB-JV-JCH 109 | Carchi | Montúfar | García Moreno | García Moreno | |
| EB-JV-JCH 110 | Carchi | Montúfar | García Moreno | García Moreno | |
| Total | | | | | 170 |

Anexo 4. Distribucion geográfica de las accesiones de la colección del capulí (*Prunus serotina* Ehrh), del banco de germoplasma del INIAP.



Anexo 5. Microsatélites del par de primers derivados del género *prunus* que identifican polimorfismos.

| Especie Fuente | Objetivo DNA | Primer | Cartilla Secuencia (5' - 3') | Recogido Temperatura (°C) | Esperado producto rango (bpd) | Tamaño del rango de producto (bpd) | Nº de rango polimorfismo/ primer |
|----------------|--------------|---------|------------------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| Par | | | | | | | |
| Capulí | Cloroplasto | {AB} | GCTGGAACCGTTGAATTCA | | | | |
| Agrio | | | GGGGCATATCTAAGTATAA | 56 | 249 | 250 - 280 | 3 |
| Capulí | Nuclear | PceGA34 | GAACATGTGGTGTGCTGGTT | | | | |
| Agrio | | | TCCACTAGGAGGTGCAAATG | 60 | 155 | 140 - 174 | 14 |
| Capulí | Nuclear | PS12A02 | GCCACCAATGGTTCTTCC | | | | |
| Dulce | | | AGCACCAGATGCACCTGA | 56 | 200 | 150 - 178 | 12 |
| Melocotón | Nuclear | pchgms3 | ACGCTATGTCCGTACCATCTCCATG | | | | |
| | | | CAACCTGTGATTGCTCCTATTAAC | 60 | 179 | 170 - 230 | 19 |
| Melocotón | Nuclear | pegms2 | GTCAATGAGTTCAGTGTCTACACTC | | | | |
| | | | AATCATAACATCATTAGCCACTGC | 60 | 163 | 130 - 152 | 9 |

(Susanne *et al.*, 2000).