



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
CENTRO UNIVERSITARIO UAEM TENANCINGO**



**MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

**Caracterización morfológica y molecular
de híbridos de Gerbera
(*Gerbera hybrida*)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

PRESENTA:

AZUCENA RIVERA COLÍN

Tutor académico: Dr. Jaime Mejía Carranza

Tutor adjunto: Dr. Andrés González Huerta

Tutor adjunto: Dr. Juan Carlos Reyes Alemán

Santa Ana Ixtlahuatzingo, Tenancingo, Estado de México, Agosto 2020.

Resumen

La gerbera es una de las flores ornamentales más importantes comercializadas a nivel mundial. La información sobre la variabilidad morfológica y molecular de esta especie representa un recurso importante para los programas de mejora que se basan en la selección de genotipos prometedores. El objetivo del presente estudio fue caracterizar morfológica y molecularmente 24 híbridos de gerbera (*Gerbera hybrida*). El análisis morfológico se basó en 52 caracteres de la UPOV, 9 cuantitativos y 43 cualitativos mediante análisis multivariado. En la caracterización molecular, el ADN se extrajo con el método CTAB y en la ampliación se utilizaron 11 cebadores RAPD's cuyos productos se analizaron con el método de agrupación Neighbour Joining, índice de similitud Dice y remuestreo de 1,000 corridas que permitieron establecer las relaciones moleculares entre las muestras. El análisis morfológico de los rasgos cualitativos dispuso a los genotipos en cinco grupos. Las variables de mayor valor discriminatorio para los híbridos de gerbera fueron: diámetro de disco, ancho y longitud de flor, altura de involucro, diámetro de disco diámetro de capítulo y longitud de pedúnculo. En el análisis molecular, los valores PIC promedio fueron 0.43, que cataloga a los cebadores como altamente informativos, con los cavadores OPA8 y OPA19 con la mayor capacidad discriminante. Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron diferenciar la totalidad de los genotipos analizados, pudiéndose inferir un alto grado de variabilidad en la población bajo estudio, mostrando que los RAPD's constituyen una herramienta molecular eficaz cuando se requiera una manipulación simple, confiable y de bajo costo.

CONTENIDO

Pág.

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	V
RESUMEN.....	VII
CONTENIDO.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
I.INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Sistemática e importancia del género <i>Gerbera L.</i>	4
2.2. Morfología	6
2.3. Mejoramiento genético	13
2.3.1. Genética de la gerbera.....	15
2.4. Métodos de hibridación en el cultivo de <i>Gerbera L.</i>	15
2.5. Caracterización morfológica	18
2.5.1. Tipos de caracteres	21
2.5.1.1. Cualitativos.....	21
2.5.1.1. Cuantitativos.....	21
2.6. Caracterización molecular.....	22
2.6.1. Marcadores genéticos	24
2.6.1. Tipos de marcadores moleculares.....	29
2.6.2. Aplicación de los marcadores moleculares en la floricultura	38
2.6.3.1. Taxonomía	40
2.6.4.1. Interpretación genética.....	41
III. JUSTIFICACIÓN	43
IV. HIPÓTESIS.....	44
V. OBJETIVOS	45
5.1. Objetivo general	45
5.2. Objetivos específicos:.....	45
VI. METODOLOGÍA	46
6.1. Generalidades en la experimentación	46
6.2. Material vegetal utilizado en la experimentación	47
6.3. Caracterización morfológica en <i>Gerbera híbrida</i>	48
6.3.1. Hoja	51
6.3.2. Pedúnculo.....	51
6.3.3. Capítulo.....	51
6.3.4. Flor.....	52
6.3.5. Disco	52
6.3.6. Pistilo.....	53

6.3.7. Anteras.....	53
6.3.8. Estigma.....	53
6.3.9. Papús.....	53
6.4. Caracterización molecular en el cultivo de <i>Gerbera hybrida</i>	54
6.4.1. Extracción de ADN.....	54
6.4.2. Preparación de geles de agarosa al 1.5 % (electroforesis).....	57
6.4.3. Amplificación por PCR.....	60
6.4.4. Cebadores.....	63
6.5. Análisis estadístico para caracterización morfológica.....	63
6.6. Análisis estadístico para caracterización molecular.....	65
6.8.2. Construcción de dendogramas.....	67
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	69
7.1. Caracterización morfológica en el cultivo de <i>Gerbera hybrida</i>	69
7.1.1. Hoja.....	69
7.1.2. Pedúnculo.....	71
7.1.3. Capítulo.....	72
7.1.4. Flor.....	73
7.1.5. Disco.....	75
7.1.6. Pistilo.....	76
7.1.7. Anteras.....	77
7.1.8. Estigma.....	78
7.1.9. Papús.....	78
7.2. Análisis estadístico.....	79
Comparación de medias.....	79
7.2.1. Taxonomía numérica.....	80
7.2.2. Análisis multivariado.....	88
7.3. Extracción de ADN.....	88
7.4. Productos de amplificación para selección de cebadores RAPDs.....	89
7.7. Repetibilidad de las reacciones PCR.....	96
7.8. Identificación de híbridos verdaderos.....	97
VIII. CONCLUSIONES.....	99
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	100
X. ANEXOS.....	114

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Filogenia del complejo Gerbera. Basado en la inferencia bayesiana de los marcadores ITS y ETS combinados. trnL - trnF, trnL -rpl32 y trcC - petN. Tomada de Zheng et al. (2019).....	5
Figura 2. Diferentes especies de Gerbera utilizadas en la hibridación del cultivo	6
Figura 3. Morfología general de una planta de Gerbera.....	6
Figura 4. Raíces de Gerbera	7
Figura 5. Hojas: yemas axilares (a)	8
Figura 6. Tipos de Flores de Gerbera.....	8
Figura 7. Morfología externa de la flor de gerbera: (a) Flor de radio femenina fértil con óvulo (b), flor trans femenina (c), flor trans masculina (d) flor de disco (e), flor masculina estéril.	9
Figura 8. Vista dorsal de un capítulo, con detalle en el diámetro floral (df), centro de la onfloreescencia (ci), involucre (iv), receptáculo (re), altura del involucre (ai). Modificada de Cardoso, 2012).....	10
Figura 9. Aspecto de una flor de disco (A): óvulo (o), receptáculo floral (r), tubo de la corola (t), papús (pa), labio superior (ls), labio inferior (li) y anteras fisionadas (a). (B) detalle de anteras. (Modificada de Cardoso, 2012).	11
Figura 10. Estructura de la inflorescencia de Gerbera	11
Figura 11. Aspecto de flores de radio (A), aspecto inmaduro (B), aspecto maduro: óculo (o), recpetáculo floreal (r), tubo de corola (t), papús (pa), pistilo (pi), labio superior (s), labio inferior (li), estaminódios (e). Modificada de Cardoso, 2012).	12
Figura 12. Estructura externa de flores de radio de Gerbera L. (A) Aspecto inmaduro o no comercial (B) Aspecto maduro o comercial: óvulo (o), receptáculo floral (r),	

tubo de corala (t), papús (pa), pistilo (pi), labio superior (ls), labio inferior (li) e estaminódios (e). Escala: 5,5:1. (Modificada de Cardoso, 2012).	12
Figura 13. Estructura externa de fruto de Gerbera L.	13
Figura 14. Proceso de hibridación en Gerbera (emasculación (a), polinización (b)).	18
Figura 15. Laboratorio de biología molecular CUT (UAEMEX), Tenancingo.....	46
Figura 16. Material vegetal para extracción de ADN (Fotos: Azucena Rivera Colín).	54
Figura 17. Solución acuosa (Foto: Azucena Rivera Colín).	55
Figura 18. Diferentes etapas de la solución acuosa (Fotos: Azucena Rivera Colín).	56
Figura 19. Centrifugación y secado del proceso de extracción de ADN (Fotos: Azucena Rivera Colín).	56
Figura 20. Solución Agarosa el 1.5 % conTBE al 0.05X.....	57
Figura 21. Proceso de electroforesis. Cubierta con tape (a), puesta de gel líquido (b), colocación de gel y llenado de buffer TBE (c), retiro de peine (d), preparación de muestra (e), colocación de muestra (f), tapado de cámara (g), conectado de cámara (h).	59
Figura 22. Lectura de gel en el transluminador (Fotos: Azucena Rivera Colín).....	60
Figura 23. Procedimiento de PCR (Fotos: Azucena Rivera Colín).	61
Figura 24. Relación morfológica entre 24 híbridos de Gerbera (<i>Gerbera hybrida</i>) en base a caracteres cualitativos y cuantitativos (Infostat, 2016).	88
Figura 25. Primeros dos componentes principales con datos estandarizados de ocho caracteres cualitativos y cuantitativos en 24 híbridos de gerbera. 1= Tayari, 2= Magda, 3= Morelia, 4= Fabiola, 5= Imelda, 6= Soledad, 7= Rafaela, 8= Fernanda,	

9=Karla, 10= Boris, 11=Lisiseka, 12=Nancy, 13=Bob, 14=Melissa, 15= Anel, 16= Matilde, 17= Valentina, 18= Ana, 19= Natalia, 20= Refugio, 21= Monika, 22= Carmin, 23= Lilia, 24= Marina.....	88
Figura 26. Distribución de las variables originales de híbridos sobre el primero y segundo componente principal en la caracterización de híbridos de gerbera. FC= Forma del capítulo, ID= Diámetro del involucro, CD= Diámetro del capítulo, FPL= Tendencia a formar pétalos libres, BCM= Borde de la masa de las flores liguladas interiores, HL= Largo de la hoja, PL= Largo de pedúnculo, FC= Forma del capítulo, FF= Forma de la flor.	88
Figura 27. Electroforesis. Electroforesis en gel de agarosa con muestras de ADN extraído en 24 híbridos de gerbera y observado con luz UV en fotodocumentador.....	89
Figura 28. Perfil electroforético de ADN de hoja de 24 híbridos de gerbera (<i>Gerbera hybrida</i>) con el cebador OPA-19 (RAPD).	93
Figura 29. Perfil electroforético de ADN de hoja de 24 híbridos de gerbera (<i>Gerbera hybrida</i>) con el cebador OPA-8 (RAPD).	93
Figura 30. Dendrograma de Gerbera obtenido con el método Nei Li/Dice.	95
Figura 31. Productos de PCR con el marcador RAPD OPA-8 en 24 híbridos de gerbera. (Prueba 1)	96
Figura 32. Perfil de RAPD (OPA 8) generados en un termociclador utilizando 24 híbridos de gerbera (prueba de repetibilidad).....	97
Figura 33. Identificación de híbridos verdaderos	98

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales propiedades de los marcadores morfológicos y moleculares	28
Cuadro 2. Comparación entre los marcadores morfológicos y moleculares.....	29
Cuadro 3. Relación de los mejores híbridos comerciales evaluados en los sistemas de producción en semihidroponía y suelo. (Rivera et al., 2019).	47
Cuadro 4. Relación de las características generales de los híbridos de <i>Gerbera hybrida</i> utilizados en la presente investigación.....	48
Cuadro 5. Caracteres cuantitativos morfológicos utilizados en el cultivo de <i>Gerbera híbrida</i> según la UPOV (2002): Caracteres cuantitativos.....	49
Cuadro 6. Caracteres cualitativos morfológicos utilizados en el cultivo de <i>Gerbera hybrida</i> según UPOV, (2002).....	49
Cuadro 7. Componentes de la mezcla de la Reacción en Cadena de la Taq ADN polimerasa (PCR), para la obtención de patrones RAPD's	61
Cuadro 8. Programa de termociclaje utilizado para RAPD con equipo de termociclaje mastercycler gradient.	62
Cuadro 9. Secuencias aleatorias para RAPDs (compañía Operon Biotechnologies).	63
Cuadro 10. Moda en caracteres cualitativos en hoja observados en 24 híbridos mexicanos de Gerbera. Hoja limbo abullonado, Hoja: Limbo: pubescencia en el haz (excluida la nervadura principal); Hoja: Limbo: profundidad; Hoja Limbo: color verde del hazz Hoja y Forma del ápice.....	70
Cuadro 11. Moda en tres caracteres cualitativos en pedúnculo observados en 24 híbridos de Gerbera.....	71
Cuadro 12. Moda en seis caracteres Cualitativos en capítulo observados en 24 híbridos de Gerbera.....	73

Cuadro 13. Moda en 15 caracteres cualitativos en flor observados en 24 híbridos mexicanos de Gerbera.....	74
Cuadro 14. Moda en cuatro caracteres cualitativos en disco observados en 24 híbridos de Gerbera.....	76
Cuadro 15. Moda en 1 carácter cualitativo en pistilo observado en 24 híbridos de Gerbera.....	77
Cuadro 16. Moda en tres caracteres cualitativos de las anteras observados en 24 híbridos de Gerbera.....	77
Cuadro 17. Moda en un carácter cualitativo en los estigmas observados en 24 híbridos mexicanos de Gerbera.....	78
Cuadro 18. Moda en dos caracteres cualitativos En papús observados en 24 híbridos de Gerbera.....	79
Cuadro 19. Comparación de medias para nueve caracteres cuantitativos observados en 24 híbridos de Gerbera.....	80
Cuadro 20. Taxonomía numérica para caracteres de hoja, pedúnculo, capítulo, flor, disco, pistilo, estigma, anteras y papús en 24 híbridos de gerbera.	88
Cuadro 21. Descriptores que presentan polimorfismo en híbridos de gerbera.....	88
Cuadro 22. Estados ausentes en híbridos de gerbera.	88
Cuadro 23. Estados únicos encontrados en 24 híbridos de gerbera.	88
Cuadro 24. Estados monomórficos encontrados en 24 híbridos de gerbera.	88
Cuadro 25. Valores propios y proporción de la varianza explicada en análisis de componentes principales.	88
Cuadro 26. Vectores propios de los cuatro primeros componentes principales en la caracterización de híbridos de gerbera.....	88

Cuadro 27. Cebadores seleccionados y número de bandas generadas **90**

Cuadro 28. Detalles de amplificación obtenido con diferentes cebadores RAPD en diferentes híbridos de gerbera (*Gerbera x Híbrida*). **91**

Cuadro 29. Matriz de identidad genética (arriba de la diagonal) y distancia genética (debajo de la diagonal) de Nei (1978) para genotipos de *gerbera hybrida*. **92**

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Imágenes de híbridos caracterizados morfológica y molecularmente (Fotos: Azucena Rivera Colin).	114
Anexo 2. Descriptores utilizados de la Guía UPOV (2000).	117
Anexo 3. Esquemas de caracteres morfológicos.....	121
Anexo 4. Variables cualitativas y cuantitativas registradas en la colección de 24 híbridos de Gerbera (<i>Gerbera híbrida</i>).....	136
Anexo 5. Matriz general de taxonomía numérica con caracteres cuantitativos y cualitativos registradas en la colección de 24 híbridos de Gerbera (<i>Gerbera híbrida</i>).....	138
Anexo 6. Matriz básica de datos cualitativos.....	146
Anexo 7. Protocolo para la extracción de ADN en plantas con alto contenido de fenoles (Silva, et al., 2015).	148
Anexo 8. Geles de electroforesis obtenidos con cebadores RAPD en 24 híbridos de gerbera (<i>Gerbera híbrida</i>).....	157
Anexo 9. Variedades de Gerbera registradas en México. (UPOV, 2019).....	165
Anexo 10. Funciones de diversos productos químicos, reactivos y tampones utilizados en la presente investigación.....	167
Anexo 11. Artículo publicado.....	168
Anexo 12. Artículo enviado.....	190

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el comercio mundial de la flor está dominado por Holanda, lo que representa el 68 % del mercado de exportación, seguido de Colombia, con el 16 %, Ecuador con el 4 % y el resto de los países con el 12 %. México aunque es altamente productivo su calidad le limita a una menor exportación, donde el Estado de México es el mayor exportador (Sagarpa, 2018). La producción ornamental para el año 2018 en México representó un total de 23 mil 088 ha con un valor de seis mil 337 millones de pesos de 25,500 productores de flor de corte, macetería y follajes. Del total de producción sólo se exportó 12 % principalmente a Estados Unidos y Canadá con especies como rosa (*Rosa hybrida*), gladiola (*gladiolus* spp), gerbera (*Gerbera hybrida*), ave de paraíso, clavel (*Dianthus cariphilus*), statice (*Limonium sinuatum*) y crisantemo (*Dendratherma grandiflora*). La producción de gerbera para 2018 fue de 126.5 ha, con 1, 375,830.35 gruesas y un valor de 384,877.18 millones de pesos, (SIAP, 2018). En el comercio mundial de flores la gerbera ocupa el quinto lugar como una especie de corte y macetería después de rosa, clavel, crisantemo y tulipán (*tulipa* sp) (Prajapati, Singh, Patel, Singh y Srivastav, 2014). El mejoramiento de la gerbera inició a finales del siglo XIX en Inglaterra, para continuar en Holanda, Dinamarca, Alemania, Estados Unidos, Israel y Japón (Kloos, George y Sorge, 2005); de este mejoramiento han surgido cerca de 5000 variedades que han sido registradas alrededor del mundo (UPOV, 2017); de éstas en México hay 51 (SNICS, 2017), aunque con las no registradas hay más de 400 (Registro informal de productores de la región). Tradicionalmente el mejoramiento de las gerberas se basa en la hibridación entre variedades y posterior selección fenotípica de la progenie,

seguida de una propagación clonal (Bhatia, Singh, Jhang y Sharma, 2010). Estos materiales se diferencian por caracteres como el tiempo de floración, altura de pedúnculo, producción y vida en florero y otras como morfología de las hojas y flores que a veces son difíciles de identificar (Rusinowski y Domeradzka, 2012). Esta dificultad también se presenta en la distinción, homogeneidad y estabilidad que son pruebas que deben cumplirse para el registro de variedades (UPOV, 2017). La variabilidad genética se determina mediante caracterización morfológica y molecular (Smith, Bowen, Tenborg y Wall, 1990; Williams, Kubelik, Livak, Rafalski y Tingey, 1990; y Franco, Cassini, Oliveira y Tsai, 2001; Agarwal, Shrivastava y Pad, 2008), sin embargo, puede llevarse a cabo a partir de características fenotípicas de sencilla identificación visual tales como forma de hoja, pubescencia, color de fruto, etc. Los marcadores morfológicos son útiles en la identificación de materiales dado que representan un conjunto de genes que pueden ser evaluados con métodos sencillos y a bajo costo (Benin, 2003). Muchos autores han evaluado la caracterización morfológica y la diversidad genética a través de la taxonomía numérica y del análisis estadístico multivariado que incluye fenogramas, componentes principales y el análisis discriminante (Cruz, 2006; Cruz y Regazzi, 1994) de los que se han obtenido buenos resultados en varias especies como cacahuete, *Arachis spp* (Wilches, 2014); maíz, *Zea mays* (Cruz y Regazzi, 1994); passiflora, *Passiflora alata* (Meletti, Bernacci, Soares, Filho y Martins, 2003); lotera, *Lotus corniculatus* (Soster, Cheffer-Basso y Dall 2004); albahaca, *Ocimum basilicum* (Bortolini, 2006); arroz, *Oryza sativa* (Cunha y Pinheiro, 2005); cebolla, *Allium cepa*, trébol blanco, *Trifolium repens* (Bortolini, 2006) entre otros. El análisis multivariado ofrece coeficientes de distancia genética entre los genotipos, en este sentido se parte de que cuanto mayor es la

distancia genética entre dos genotipos, mayor será la posibilidad de combinaciones más prometedoras (Borém y Miranda, 2005). Actualmente se hace uso de los marcadores moleculares para ayudar a los fitomejoradores a realizar una correcta identificación de variedades (Ruiz, Legarúa, Sahagún y Olan, 2018), evaluación precisa de las relaciones genéticas, diversidad (Da Mata, Segeren, Fonseca y Colombo, 2009), mapeo eficiente de genes deseables (Rezende et al., 2009), y selección temprana de genotipos superiores (Varshney, Chabane, Hendre, Aggarwal y Graner, 2005). Aparte de los marcadores morfológicos, existen los moleculares que pueden identificar polimorfismos, tales como RFLP (Powell et al., 1996, FAO, 2010), mini y microsatélites (Wang et al., 2009) y los RAPDs, los cuales han demostrado ser útiles para el análisis de grandes cantidades de genotipos (Debener et al., 1996; Williams et al., 1990; Shimada, Hayam, Haji, Yamaguchi y Yoshida, 1999). En México se han desarrollado los primeros híbridos de gerbera (Rivera, Mejía, Vázquez, Urbina y Ramírez, 2019) y de aquí que se haya realizado el presente trabajo con el objetivo de caracterizar morfológica y molecularmente con 52 caracteres morfológicos y 11 cebadores RAPDs, 24 genotipos que resultaron de hibridaciones de 38 variedades comerciales de gerbera (*Gerbera hybrida*).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Sistemática e importancia del género Gerbera L.

Gerbera L. es un género de \pm 30 especies de hierbas perennes distribuidas a través de África y Asia (Hind, 2007), incluye flores de corte conocidas en el mercado como Barberton, Hilton o Gerbera Daisies. La gerbera pertenece a la tribu *Mutisieae* Cass., que incluye 14 géneros y más de 200 especies (Katinas, 2004; Katinas, Sancho y Terreria, 2009; Ortiz et al., 2009), Las Mutiseae rosetiformes y escapiformes incluyen unas 124 especies distribuidas entre siete géneros, y han sido segregadas como la subtribu Gerberinae Benth. & Hook.f. (Hind, 2007). Los análisis moleculares y filogenéticos recientes de *Mutisieae* sugieren que la Gerbera forma parte de un clado que incluye *Leibnitzia* Cass., y *Chaptalia* Vent., de América y Asia (Baird, Funk, Wen y Weeks 2010, Manning, Simka, Boatwright y Magee, 2016; Pasini, Funk, Souza-Chies y Miotto, 2016, Xu, Zheng, Funk y Wen, 2018) (Figura 1). En 1889 JD Hooker, realizó la primera descripción oficial de la especie de Gerbera *jamesonii* Bolo ex Hook (Hansen 2006). Esta especie es originaria de Asia, África del Sur (Transvaal) y Tasmania. Pertenece al orden asterales, familia asterácea (*compositae*), tribu *mutisieae*, subtribu *mutisiinae*, y género *Gerbera* L., llamada así en honor al naturalista alemán Traugott Gerber (Johnson, 2002). Las variedades actuales de gerbera (*Gerbera hybrida*) tienen una gran variabilidad, cuyo principal origen ha sido la hibridación interespecífica e intraespecífica que comenzó a finales del siglo XX, en Cambridge, Inglaterra, cuando dos Especies de África del Sur, *G. jamesonii* y *G. viridifolia* fueron cruzadas por R. I. Lynch. Llamando a este híbrido como Gerbera x *cantebriensis*, actualmente conocido como *Gerbera hybrida* Hort (Hansen, 1985).

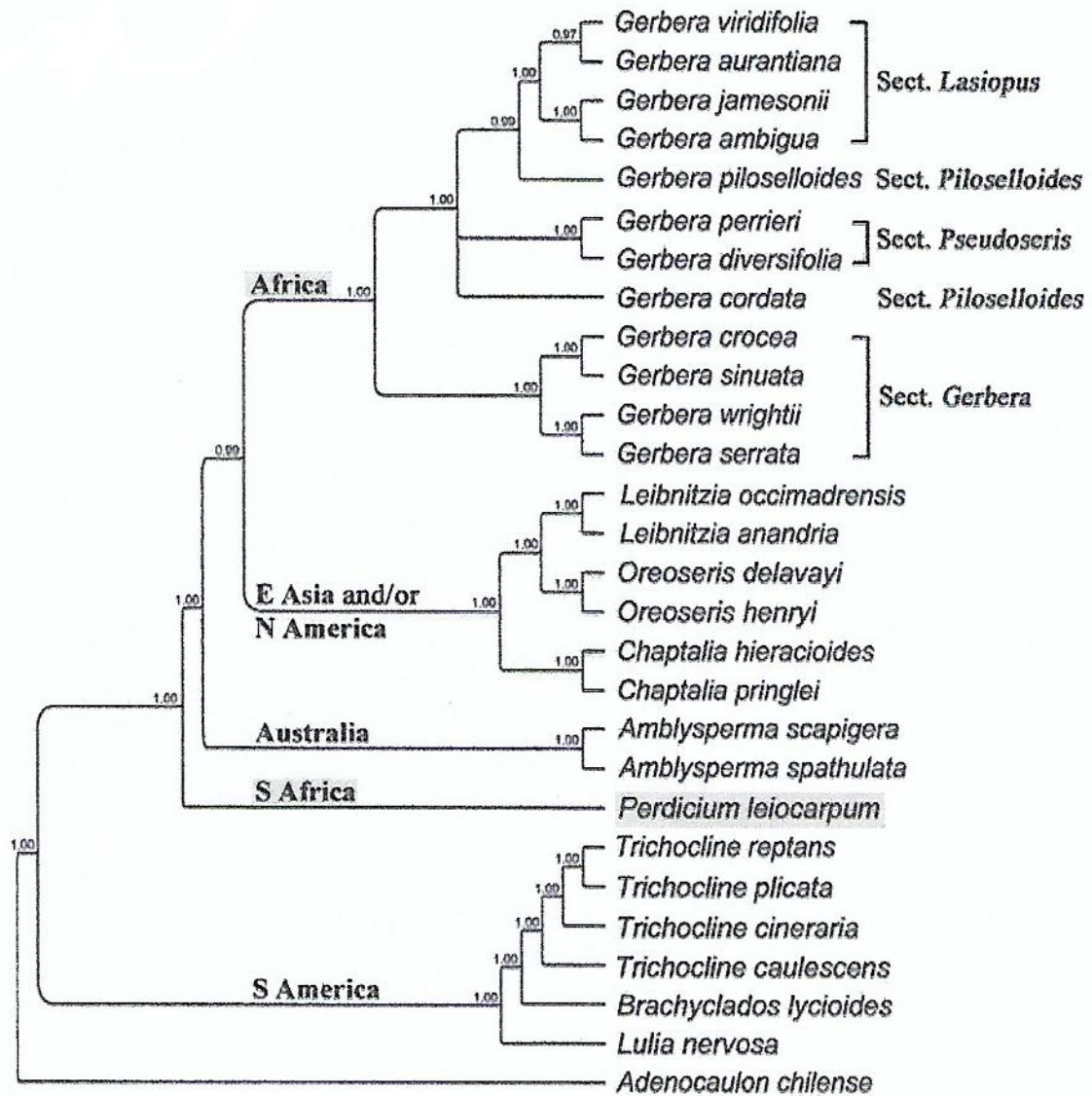


Figura 1. Filogenia del complejo Gerbera. Basado en la inferencia bayesiana de los marcadores ITS y ETS combinados. trnL - trnF, trnL - rpl32 y trcC - petN. Tomada de Zheng et al. (2019).

La *Gerbera viridifolia* y *G. jamesonii* son las especies de las que se ha partido para hacer los cultivares modernos, aunque es posible que otras especies de gerberas hayan sido utilizadas para la hibridación tales como *G. ambigua*, *G. crocea*, *G. serrata* y *G. tomentosa* (Figura 2) (Hansen, 1985).



Figura 2. Diferentes especies de Gerbera utilizadas en la hibridación del cultivo

2.2. Morfología

La planta de la Gerbera es una herbácea, vivaz, de crecimiento en roseta, cuyo cultivo puede durar varios años, sin embargo; comercialmente solo interesa cultivarla durante dos o tres, según los cultivares y las técnicas de cultivo empleadas (Figura 3) (Mascarini, 2005).

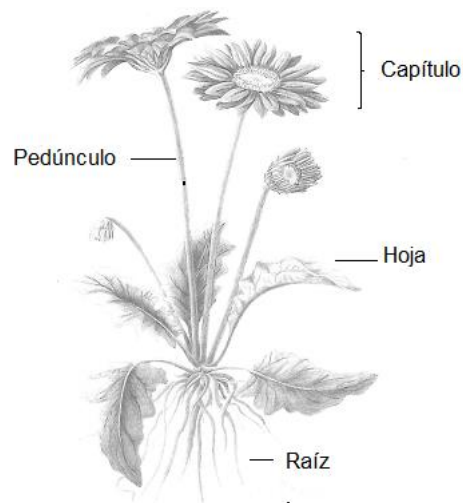


Figura 3. Morfología general de una planta de Gerbera.

El sistema radicular es pivotante en origen, pero a medida que se desarrolla, se convierte en fasciculado y está compuesto por gruesas raíces de las que parten numerosas raicillas (Figura 4) (Pedroza, 2001; Mascarini, 2005).



Figura 4. Raíces de Gerbera

Como se observa en la figura 5, esta planta se distingue por un eje del vástago bastante acortado y algo grueso. Los entrenudos son cortos y los nudos están uno sobre otro. A causa de esto, las hojas se concentran y agrupan en forma arrosetada. En los ángulos de las distintas hojas se encuentran las yemas axilares, de las cuales salen vástagos laterales que forman sus propias rosetas de hojas y raíces. De este modo, las gerberas forman al crecer plantas compactas (Roskman, 2005). Las hojas colocadas sobre los largos pecíolos crecen más o menos verticalmente hacia arriba, son elípticas, alargadas o lanceoladas, de borde liso o hendido. Pueden estar arrugadas en el haz y aterciopeladas por el envés (Soroa, 2005).

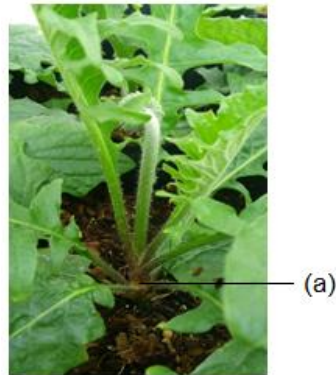


Figura 5. Hojas: yemas axilares (a)

Las flores de gerbera son heteromórficas (Figura 6), por lo que flores de un mismo genotipo pueden diferir en simetría, expresión sexual, número de pétalos y pigmentación (Deyue, 1999). Sus inflorescencias son llamadas capítulos y están colocadas individualmente sobre largos pedúnculos; en su base son parcialmente leñosas, a veces aterciopeladas y en la parte superior vacías por dentro (Oszkinis y Lisiecka, 1990).



Figura 6. Tipos de Flores de Gerbera

Las flores están distribuidas sobre el receptáculo en anillos, en forma de una densa espiral, las flores tienen pedúnculos cortos, en el borde del capítulo son liguladas y en el centro tubuladas (Figura 6).

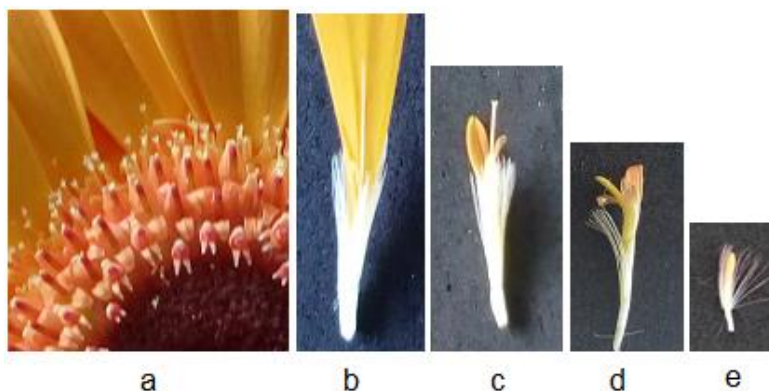


Figura 7. Morfología externa de la flor de gerbera: (a) Flor de radio femenina fértil con óvulo (b), flor trans femenina (c), flor trans masculina (d) flor de disco (e), flor masculina estéril.

Todo el capítulo por la parte inferior está cubierto por brácteas verdes ovaladas o lanceoladas. Al abrirse la flor, el filario toma una forma parecida a una campana. Por su estructura característica, los capítulos de gerbera dan la impresión de una flor simple. Las flores liguliformes colocadas en el borde del capítulo son un medio de atracción para los insectos (Oszkinis y Lisiecka, 1990). Las flores liguladas están colocadas en uno o varios anillos. Su corona en la base está unida formando un tubo pequeño, el cual se continúa en una lígula bastante ancha, según reportes de Bohming, 1985. En la formación de esta lígula participan tres pétalos de la corona, los restantes, en forma de fragmentos cortos y angostos, cuelgan del borde del tubo. Las flores liguladas han perdido los estambres, de los cuales se quedaron solo unos delgados “hilos” y se han convertido en unisexuales, femeninas, con gineceo. Las

flores del disco (tubuladas) son pequeñas, unidas entre sí (Figura 7) (Cardoso, Scheffer-Basso y Grando, 2012).

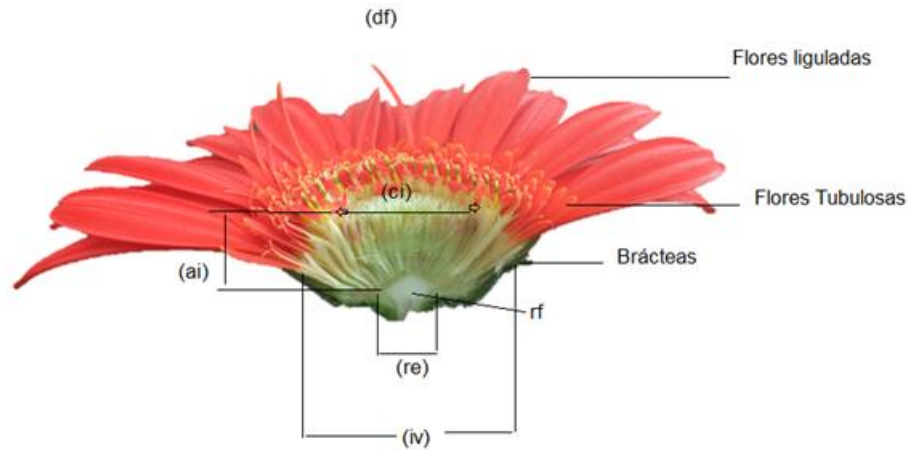


Figura 8. Vista dorsal de un capítulo, con detalle en el diámetro floral (df), centro de la inflorescencia (ci), involucro (iv), receptáculo (re), altura del involucro (ai). Modificada de Cardoso, 2012).

La gerbera casi siempre tiene flores tubuladas bilabiadas y dorsales. El labio superior dirigido hacia el interior del vilano se forma por la unión de los pétalos. Mientras que el labio inferior dirigido hacia el exterior del vilano resulta de la unión de tres pétalos. Dicha unión puede variar incluyendo la aparición de flores radiadas, cinco-dentadas, en las cuales todos los pétalos de la corona están unidos a la misma altura. Aunque las flores tubuladas son hermafroditas, las que contienen un pistilo y estambres bien desarrollados aparecen solo en los anillos exteriores (Hansen, 1985).



Figura 9. Aspecto de una flor de disco (A): óvulo (o), receptáculo floral (r), tubo de la corola (t), papús (pa), labio superior (ls), labio inferior (li) y anteras fusionadas (a). (B) detalle de anteras. (Modificada de Cardoso, 2012).

En las demás flores tubuladas, los pistilos se encuentran reducidos en mayor o menor grado. El pistilo es sésil, unilocular, en cuyo ovario se desarrolla un solo óvulo. El ovario está situado debajo de los tubos de la corona y de los pelos del vilano (Figura 9) (Bohming, 1985).



Figura 10. Estructura de la inflorescencia de Gerbera

Las inflorescencias de gerbera en menor o mayor grado, dependiendo de la especie, se abren en horas matutinas y cierran al anochecer. Esto está condicionado por la estructura dorsoventral de algunos órganos que realizan el movimiento, como por

ejemplo los sépalos del receptáculo y la corona de flores liguliformes (Mascarini, 2005; Cardoso et al., 2012).

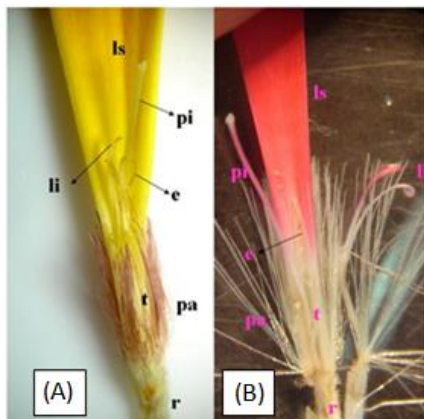


Figura 12. Estructura externa de flores de radio de Gerbera L. (A) Aspecto inmaduro o no comercial (B) Aspecto maduro o comercial: óvulo (o), receptáculo floral (r), tubo de corala (t), papús (pa), pistilo (pi), labio superior (ls), labio inferior (li) e estaminódios (e). Escala: 5,5:1. (Modificada de Cardoso, 2012).

Los movimientos de la flor llamados nastias, son causados por diferencias en las intensidades de los factores externos, como la luz y humedad del aire. Tal vez dichos factores interactúan entre, aunque cuando las flores ya están en florero este fenómeno se da en menor grado (Mascarini, 2005). Existe una correlación positiva entre el largo del tallo floral y los días en que abre la flor. La floración del capítulo comienza con la apertura del receptáculo. La apertura de las flores en las cabezuelas tiene lugar del borde hacia el interior. Primero se desarrollan las flores liguliformes y luego las femeninas pistiladas, en las cuales después de cierto tiempo comienzan a aparecer los cuellos de los pistilos. Pasado algunos días, se abren las flores masculinas tubuladas y se esparce el polen (Aswath, 1998). Las flores hermafroditas de gerbera (flores tubuladas de los anillos exteriores) son prematuras, porque el polen madura antes del estigma, cuando la flor todavía se encuentra en forma de

botón. Esta forma de maduración de los distintos órganos generativos de la gerbera dificulta la autopolinización de las flores de la misma inflorescencia. Solo las flores liguliformes y las tubuladas exteriores están aptas para la fecundación y formación de semillas (Figura 12) (Cardoso et al., 2012).

Después de la polinización, la corona, los estambres y el cuello del pistilo se caen, formándose un aquenio (fruto), el cual está rodeado por una corona de pelos del vilano que sirven de ayuda para su transporte por el aire (Figura 13) (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

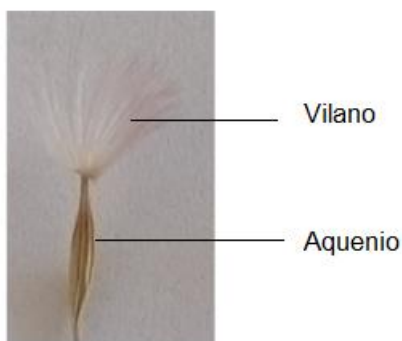


Figura 13. Estructura externa de fruto de Gerbera L.

2.3. Mejoramiento genético

El mejoramiento genético tiene el objetivo de generar genotipos de plantas superiores a las utilizadas actualmente en ciertas condiciones ecológicas. Dicha mejora, dependiendo de la especie y su forma de reproducción, se enfoca en primer término a la selección de genotipos con variabilidad genética para su posterior diseño de cruzamientos, obtención y selección de materiales híbridos sobresalientes, los cuales para ser identificados como un nuevo cultivar, son sujetos a varios ciclos de

evaluación, selección y recombinación haciendo el proceso mejoramiento relativamente lento. Atributos sobresalientes en el fitomejoramiento son el aumento de rendimiento, producción, tolerancia a la acidez del suelo, la toxicidad, resistencia a plagas, déficit de agua, mejora de la calidad, aumento en la eficiencia fotosintética y efectos estéticos en hojas y flores (Pinto, 1995).

La mejora de plantas ornamentales se lleva a cabo tradicionalmente por empresas privadas, quienes han desarrollado sus genotipos a través de mejoramiento tradicional por cruzamientos y selección de los mejores individuos, sin embargo, existen otras técnicas como la mutación, la variación somaclonal y la ingeniería genética, mismas que han generado éxito en el desarrollo de nuevos híbridos. Sin embargo, la técnica más utilizada para Gerbera es la hibridación y la selección de genotipos élites que se han propagado por cultivo de tejidos (Nagaraju, Srinivas y Lakshmi, 1998).

El mejoramiento genético de la gerbera comenzó a finales del siglo XIX, en Cambridge Inglaterra, cuando Richard Lynch, cruzó *G. jamesonii* con *G. viridifolia* (Sobral, 1996). El conocimiento de la herencia de algunos caracteres como el color de la planta, que son independientes del rendimiento, son muy importantes para la producción comercial de capítulos florales de gerbera (Prajapati et al., 2014). Investigaciones sobre heredabilidad de caracteres en la gerbera son escasas, sin embargo, se destacan los trabajos conducidos por (Rezende et al., 2009). El citado autor estudió los parámetros genéticos y ha construido una serie de índices de selección en la gerbera.

El mejoramiento genético de gerbera se realiza a través de semillas, es recomendable evitar la autofecundación y recurrir a retrocruzamientos entre individuos alejados genotípicamente para conseguir una gran cantidad de semilla y descendientes vigorosos. Las condiciones climáticas más favorables se dan con temperaturas ligeramente elevadas, entre 21 y 24 °C y una humedad relativa entre el 60 y 70 % (Leffring, 1973, Infoagro, 2016). Desde la polinización, la cual se realiza de manera artificial, hasta la maduración de la semilla transcurren de cuatro a ocho semanas, obteniéndose de 40 a 100 semillas por capítulo. El poder germinativo se reduce al 50 % después de tres meses y al 75 % después de seis meses (Deyue, 1999).

2.3.1. Genética de la gerbera

Gerbera híbrida es una planta diploide con un valor de ADN 2C estimado en 5.1 pg (alrededor de 5,0 Gb), ligeramente más pequeño que la lechuga (*Lactuca sativa*; 5,5 pg: 5,4 Gb) y el maíz (*Zea mays*, 5,4 pg: 5,3 Gb) (Bennetzen et al., 2001). En el mercado de las flores las gerberas se venden como una sola inflorescencia, con capítulos que pueden ser sencillos, dobles o semidobles. Existen tres alelos (CRD, Cr, Sp) con dominancia incompleta los que controlan los tipos florales entre las variedades y sólo un gen dominante (Dc) que controla el color (verde/negro) del disco (Kloos et al., 2005).

2.4. Métodos de hibridación en el cultivo de *Gerbera L.*

La gerbera fue descubierta en 1878 cerca de Barberton (Sudafrica) y se refiere por lo tanto en la comunidad de habla inglesa como la Barberton Daisy o la Margarita del

Transvaal. Jameson envió la planta a los jardines botánicos en Cambridge, Inglaterra. Donde Lynch la cultivo por primera vez, y realizó las primeras hibridaciones en esta planta, cruzando *G. viridifolia*, como resultado obtuvo la primera planta híbrida a la que llamo "Florencia", misma que posteriormente fue nombrada como su lugar de su origen, "*Gerbera cantabrigiensis*". En 1891, la empresa francesa de ADNET recibe un certificado de 1ª clase de la Royal Horticultural Society, por haber obtenido híbridos con colores variados y uniformes y obtener una de las variedades más importantes de su momento, conocida como "DIEM". Posteriormente las empresas Veitch y Sons Chelsea (Inglaterra) asumieron el control de la distribución de las semillas y plantas. En 1909 la misma empresa realizo más de 3000 polinizaciones documentándose por primera vez los progenitores y sus características, estos datos se publicaron en la revista "Müllers Deutscher Gärtnerzeitung", revista de jardinería alemana. Mientras tanto en Estados Unidos en 1887 Jaenicke propago una gerbera producto de un cruce de *G. jamesonii*, llamada "Gigantea" flor de color rojo escarlata de 12 cm de diámetro y 100 cm de tallo, obteniendo un certificado por la innovación. Jaenicke (1897) propago y reprodujo la gerbera en Nueva York (Estados Unidos). En el otoño de 1908, una inflorescencia llamada *Gerbera jamesonii* "Gigantea" fue introducida en el mercado. Para 1909 en Londres, Berlín y Paris la Gerbera junto con los claveles eran consideradas como una de las flores de corte más valiosas (Codd, 1979).

Después de la primera guerra mundial, el mejoramiento de la gerbera se retomó nuevamente en Alemania y luego este proceso continuó por Horning en Steinheim. Poco a poco la inflorescencia aumentó continuamente en tamaño y rendimiento a

través de la estrategia de mejoramiento y selección más o menos selectiva. La forma del capítulo fue mejorada y los colores se convirtieron más luminosos. Sin embargo, a pesar de todos los esfuerzos la gerbera permaneció muy variable en forma, color y rendimiento. La homogeneidad en la semilla no podría lograrse. Tiempo después las gerberas llegaron a Nordwijk (Holanda) importadas de Estados Unidos y de Sudáfrica por Alkemade y Zones (Oszkinis y Lisiecka, 1990). En los años siguientes varias empresas se fusionaron en Holanda y Dinamarca y lograron una exitosa selección. En México el primer reporte de mejoramiento de gerbera lo hace Rivera et al., en 2019 en el artículo "Aptitud combinatoria y heterosis en gerbera" donde evalúa nuevos híbridos.

El concepto de hibridación desde el punto de vista genotécnico, consiste en desarrollar nuevas variedades de plantas que deberán tener combinaciones de caracteres distintos a las de los progenitores desde los más simples que afectan caracteres cualitativos, hasta los más complicados en donde, por medio de la hibridación obtener rendimientos más elevados (Figura 14) (Cardoso et al., 2012).

La hibridación se efectúa generalmente con objeto de estudiar la forma en que se heredan los caracteres. Por tanto, es importante elegir plantas con caracteres contrastados. Tales como los distintos colores y formas de capítulos florales para estudiar posteriormente la progenie y determinar cómo se comportan estos caracteres en la herencia. Por eso es importante que antes de trabajar en mejoramiento genético de las plantas con fines económicos, lo primero es estudiar el material disponible y dentro de estas observaciones, tomar en cuenta la variabilidad natural y posteriormente se puede empezar a realizar híbridos (Cardoso et al., 2012).



Figura 14. Proceso de hibridación en Gerbera (emasculación (a), polinización (b)).

El mejoramiento de la gerbera se basa en la reproducción sexual, hibridación y selección. En los programas de mejoramiento de esta especie se busca entre otras cosas, mejorar las propiedades estéticas (color y forma de la flor), estructura de la inflorescencia, tiempo de floración, vida útil, resistencia a plagas y enfermedades (Teeru, Elomaa, Kotilainen y Albert, 2006).

2.5. Caracterización morfológica

Las colecciones de germoplasma son muy útiles como una fuente de variabilidad genética de los programas disponibles de mejora. Sin embargo, si las colecciones no se caracterizan su uso es poco práctico (Mario, Linde y Maroun, 2005). Los trabajos de caracterización de germoplasma, basado en caracteres morfológicos, genéticos y agronómicos tienen el objetivo de determinar la fuente de variabilidad genética disponible para programas de mejoramiento (Chung et al., 2001) La información obtenida de una colección de genotipos puede ser utilizadas por un gran número de

científicos de diferentes áreas de investigación, llámense taxónomos, genetistas y por supuesto, el fitomejorador, para la elección de materiales de valor agronómico (Burt, Williams, 1980; Moreira, Santos y Oliveira, 1994).

De acuerdo a Franco (2003), el primer paso para la caracterización de la variabilidad detectable visualmente se divide en: características responsables de la morfología y la arquitectura de la planta utilizadas en un principio para la clasificación botánica y taxonómica y una serie de características relacionadas especialmente con aspectos de manejo agronómico y de producción de la especie que son de interés para mejoradores y agrónomos. Como segundo paso debe ser la caracterización molecular, donde se identifican las funciones internas de la célula; esto a través de técnicas de marcadores moleculares (Benemann et al., 2012). En la actualidad se han realizado trabajos de caracterización morfológica en diferentes cultivos o especies, tales como en 22 muestras silvestres y cultivadas de chíca (*Salvia hispanica*) (Hernández y Miranda, 2008), en 36 poblaciones nativas de calabaza (*Cucurbita* spp) cultivadas en el centro-oriente de Yucatán (Canul, Ramírez, Castillo y Chávez., 2005), en 7 cultivares de frijol criollo colectados en la región del Chontalpa, Tabasco, México y 14 cultivares mejorados (*Phaseolus vulgaris* L.) (Vidal, Lagunes, Valadez y Graner., 2006). México es el primer país que clasificó sus razas de maíz (Smith et al., 1990) y en el mismo sentido, en 2005 se caracterizaron materiales de maíz (*Zea mays* L.) colectados en los estados de Jalisco, Nayarit, Michoacán y Sinaloa (Martin, et al., 2008), solo por mencionar algunos. En Gerbera Cardoso en 2012 caracterizó 13 híbridos; Rusinowski, et al (2012) caracterizó 32 genotipos comerciales de gerbera ambos trabajos desarrollados en Brasil.

Caracterización mediante marcadores morfológicos

Los marcadores morfológicos se definen como las características fenotípicas de sencilla identificación visual tales como forma de hoja, pubescencia, color de fruto, entre otros. Muchos de ellos se convierten en importantes descriptores a la hora de inscribir nuevas variedades. Este tipo de marcadores contribuye al desarrollo teórico del concepto de ligamiento genético y a la construcción de los primeros mapas genéticos de plantas (por ejemplo, en tomate y maíz). En la actualidad, la caracterización se realiza considerando las características morfológicas. Pero los marcadores moleculares son excelentes herramientas para promover esta caracterización a nivel molecular (Souza, Menezes, Silva, Paz y SÁ, 2005).

Para el desarrollo de este trabajo se consideraron los marcadores morfológicos de acuerdo a la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV, 2002), organización intergubernamental con sede actual en Ginebra (Suiza). La UPOV fue creada por el Convenio Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales. El convenio fue adoptado en París en 1961 y fue revisado en 1972, 1978 y 1991. El objetivo del Convenio es la protección de las obtenciones vegetales por un derecho de propiedad intelectual (UPOV, 2017). México suscribió el Convenio de la UPOV el 9 de agosto de 1997, la entidad de enlace o representante mexicano con esta organización es el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS, 2018), órgano desconcentrado de la SAGARPA, encargado de normar y vigilar el cumplimiento de las disposiciones legales en materia de semillas y variedades vegetales (UPOV, 2017).

2.5.1. Tipos de caracteres

2.5.1.1. Cualitativos

Las características o rasgos mendelianos clásicos o cualitativos son fácilmente clasificados en distintas categorías fenotípicas. Estos fenotipos están bajo un control genético de un solo gen o muy pocos genes y con ninguna o pocas modificaciones ambientales que oscurezcan el efecto de los genes (Stansfield, 1984).

Uno de las características morfológicas más importantes para los productos florícolas, es el color, debido a que es un atractivo visual, tanto para el consumidor como para el mercado (Tujkens y Schouten, 2009). El color es proporcionado por pigmentos como la clorofila, que es la molécula principal que genera el color verde; los carotenoides el color amarillo, naranja o rojo; en tanto que las antocianinas generan colores rojo, púrpura y azul, en la mayoría de las flores (Wills, McGlasson y Joyce, 2007). Los elementos del color son representados por la luminosidad (L^*), del blanco al negro en una escala de 0 a 100; la cromaticidad (C^*), que es el grado del gris hacia el color cromático puro; y el matiz (H^*), que determina el color: rojo, naranja, amarillo, verde, etc. (Maguire, 1992).

2.5.1.1. Cuantitativos

Los caracteres o rasgos métricos, poligénicos o multifactoriales son determinados por muchos genes, cada uno contribuyendo con pequeña cantidad al fenotipo y sus efectos individuales no pueden ser apreciados por los métodos mendelianos y son altamente influenciados por el medio ambiente, como consecuencia su manifestación

fenotípica ofrece una variación continua, que generalmente se ajusta a la distribución normal estadística (Márquez, 1985; Stansfield, 1984).

2.6. Caracterización molecular

Desde siempre el hombre debido a su necesidad de alimentación ha seleccionado y mejorado especies basándose en el fenotipo. Las mejoras genéticas fueron posibles debido a la variabilidad genética y a la heredabilidad, a la intensidad y tipo de selección aplicada. Sin embargo no se conocían aspectos como el número de genes y el efecto de ellos en la expresión de algún carácter (Bhatia, Singh, Jhang y Sharma, 2009). Actualmente la aparición de los marcadores moleculares ayuda a eliminar los inconvenientes de una selección basada solo en los fenotipos (Shimada et al., 1990).

Los marcadores moleculares son biomoléculas que se pueden relacionar con un rasgo genético. Las biomoléculas que pueden ser marcadores moleculares son las proteínas (antígenos e isoenzimas) y el ADN (genes conocidos o fragmentos de secuencia y función desconocida). Cuando varios marcadores moleculares se asocian inequívocamente con un rasgo genético, se dice que forman un QTL (loci de rasgos cuantitativos o cuantificables) (Rojas et al., 2015). Un marcador molecular monomórfico es invariable en todos los organismos estudiados, pero cuando presenta diferencias en el peso molecular, actividad enzimática, estructura, o sitios de restricción, se dice que es polimórfico. Un marcador molecular es un segmento de ADN con una ubicación específica en un cromosoma (punto de referencia) cuya

herencia puede seguirse en individuos de una población. La secuencia puede pertenecer a regiones codificantes (genes) o sin función conocida, (Souza, 2005).

Durante los años comprendidos entre 1960 y 1970, los marcadores bioquímicos, especialmente proteínas de almacenamiento y enzimas se utilizaban mucho para estudios de genética de poblaciones, la caracterización de germoplasma y mapeo genético (Fernández, Figueras y Benito, 2002 y Escandón, Pérez de la Torre, Acevedo, Marcucci-Poltri y Miyajima, 2005b). Los autores mencionados con anterioridad ampliaron el conocimiento de la estructura y heterogeneidad genética entre poblaciones de diferentes variedades y especies de distinto origen geográfico. Pero, la técnica presenta la limitación de que no detecta el polimorfismo suficiente entre variedades o especies próximas debido a la presencia de proteínas resultado de la expresión génica, que varía entre tejidos, etapa de desarrollo, medio ambiente y de una época del año. Los avances de la tecnología del ADN recombinante han permitido el desarrollo de los marcadores moleculares basados en el ADN, donde se logra la estabilidad en la identificación de especies y variedades (Picca, Helguera, Salomón y Carrera, 2004).

En la actualidad, se puede obtener un número prácticamente ilimitado de marcadores en cualquier organismo vivo que permiten analizar la totalidad de la información genética, es decir el genoma de un organismo. Para describir los distintos tipos de marcadores moleculares, se sigue una clasificación de acuerdo con las metodologías que emplean para su detección. Todas estas técnicas parten, como primer paso, de extraer ADN genómico de la planta en estudio. El uso de marcadores moleculares

permite la selección de nuevos cruzamientos lo que aumenta considerablemente la eficacia de un programa. (Ferreira y Grattapaglia, 1995).

2.6.1. Marcadores genéticos

Los marcadores genéticos en una planta consisten en la diferencia fenotípica controlada genéticamente, y a su vez utilizada en el análisis genético (Nuez, 2000). Por lo tanto, se aplica el nombre marcador a toda secuencia de ADN con función (locus) o sin ella (secuencia cercana al locus), que se utiliza para indicar la presencia cercana de un gen de interés que debe ser detectable, polimórfico, con variación en la secuencia de ADN o en la proteína y cuantificable (Cubero, 2003; Nuez, 2000). Una diferencia, ya sea fenotípica o genotípica, puede actuar como marcador genético si identifica en un individuo características del genotipo, del fenotipo, o de ambos y si, además, puede hacerse seguimiento a su herencia a través de varias generaciones. Es posible que un carácter genético no tenga efectos observables en el comportamiento de un individuo (Edwards y McCouch, 2007). A veces, sin embargo, este carácter puede estar ligado a otros caracteres (o correlacionado con ellos) que son más difíciles de medir y afectan el comportamiento del individuo. En tales casos, estos caracteres genéticos no observables pueden usarse como marcadores genéticos de caracteres que están ligados a ellos, porque indican indirectamente la presencia de una característica de interés o en estudio. Puede haber una correlación entre los dos tipos de caracteres, y ésta se conoce mediante un análisis de herencia, es decir, el estudio de la distribución de la característica tanto en los progenitores como en su descendencia. Un ejemplo de esto es el mapeo genético, basado en la

segregación de un carácter, evaluado en una población de mapeo (Nuez, 2000; Cubero, 2003).

Propiedades de los marcadores moleculares

El análisis de la diversidad genética y de las relaciones inter e intra poblaciones de especies es la tarea central para muchas disciplinas de las ciencias biológicas. Durante las últimas tres décadas, las estrategias clásicas para la evaluación de la variabilidad genética, tales como la anatomía comparativa, morfología, embriología y fisiología, progresivamente han sido complementadas por las técnicas moleculares (Jorasch, 2004). Estas incluyen, por ejemplo, el análisis de los constituyentes químicos también llamado metabolómica y proteómica. Pero, el mayor aporte lo brinda la utilización de los marcadores moleculares (Nybom, 2004). Esta técnica se basa en que los polimorfismos son detectados a nivel de secuencia del ADN, ya sea nuclear, o del ADN de mitocondrias o cloroplastos, por lo que su número sería potencialmente ilimitado (Agarwal et al., 2008). Un aspecto importante en definir la técnica de marcadores moleculares a utilizar lo aporta su sensibilidad. La cual consiste en su capacidad de generar el mayor número de bandas posibles por variable de ensayo. La utilidad de un marcador depende del contenido de información y del número de marcadores generados por éste (Sobral, 1996, Shiragur, 2009).

Aplicaciones de los marcadores moleculares

Los polimorfismos de ADN son ampliamente utilizados en todos los aspectos de la genética moderna debido a que proporcionan un gran número de marcadores

genéticos de fácil acceso para el mapeo genético y otros fines. A continuación se desglosan sus aplicaciones en la genética moderna (Nuez 2000, Borém, 2006).

- 1) Identificación de individuos: Los polimorfismos de ADN tienen una aplicación como una forma de tipificación de ADN (ADN fingerprinting) para identificar los diferentes individuos en una población. Análisis de ADN se utilizan para determinar el grado de relación genética entre los organismos individuales de una población (Williams et al., 1990).
- 2) Mejora de plantas domesticadas. Mejoradores de plantas utilizan a los polimorfismos del ADN como marcadores genéticos en estudios de pedigrí para identificar, mediante el mapeo genético, los genes que se asocian con rasgos favorables a fin de incorporar estos genes en variedades mejoradas (Wels y McClelland, 1990).
- 3) Historia de la domesticación. Los mejoradores de plantas también estudian los polimorfismos genéticos para identificar a los antepasados silvestres de plantas cultivadas, así como para inferir las prácticas de selección artificial que dieron lugar a cambios genéticos en estas especies durante la domesticación (Weising et al., 2005).
- 4) Estudios poblacionales. Los polimorfismos de ADN se utilizan para evaluar el nivel de variación genética en diversas poblaciones de organismos que difieren en la organización genética (procariotas, eucariotas, orgánulos), tamaño de la población, estructura mejorada, o la historia de los caracteres, los mismos son usados dentro de las subpoblaciones de una especie como

indicadores de la historia de la población, los patrones de migración (Singh y Srivastava, 2010).

- 5) Relaciones evolutivas entre especies. Las diferencias en secuencias de ADN homólogas entre las especies es la base de la sistemática molecular, en la que las secuencias son analizadas para determinar la historia ancestral (filogenia) de las especies y para determinar el origen de los tipos morfológicos, de comportamiento, y otras de las adaptaciones que han surgido en el curso de la evolución (Romano y Carneiro, 1998).
- 6) Identificación de patógenos. Los estudios en el área molecular, han permitido que los procedimientos para la detección e identificación de fitopatógenos sean más rápidos, específicos y confiables, teniendo un fuerte impacto en programas de protección y certificación de plantas, en cuanto al mejor entendimiento de la ecología y la epidemiología de los fitopatógenos (Ye et al., 1990).

Principales propiedades de los marcadores moleculares

Los métodos moleculares tienden a complementar los análisis tradicionales, al hacer que el número de caracteres a analizar sea virtualmente ilimitado, y de una resolución tal, como para detectar cambios en un único nucleótido (Debener, Bartels y Mattiesh, 1996). Los marcadores moleculares difieren en muchos aspectos y por consiguiente deben ser elegidos y analizados diferencialmente de acuerdo al material y objetivo de estudio.

Cuadro 1. Principales propiedades de los marcadores morfológicos y moleculares

Propiedad	
<ul style="list-style-type: none"> • Sensibilidad (alto número de fragmentos amplificados por iniciador). • Moderado a alto polimorfismo (multialélico). • Herencia codominante (lo que permitiría la discriminación de los estados homo y heterocigotos en organismos diploides). • Asignación inequívoca de los alelos. • Distribución frecuente y uniforme en todo el genoma. • Discriminante (que detecte diferencias entre individuos estrechamente relacionados). • No epistático (se puede leer el genotipo a partir del fenotipo, independientemente del genotipo de otros loci). 	<ul style="list-style-type: none"> • Comportamiento selectivamente neutro (i.e. sin efectos pleiotrópicos, las sustituciones alélicas no tienen efectos fenotípicos). • No sujeto a influencias ambientales (i.e. ser independiente del ambiente en que vive el individuo o de su etapa de desarrollo). • Detectables en cualquier etapa del desarrollo. • Ensayos fáciles y rápidos (por ejemplo por procedimientos automatizados). • Alta reproducibilidad. • Intercambio sencillo de datos entre laboratorios. • Bajo costo tanto para el desarrollo de los marcadores como de los ensayos.

Hasta el momento, no hay un marcador que cumpla con todos los requisitos (Cuadro 1). Sin embargo, se puede elegir entre una gran variedad, que pueden utilizarse tanto solos como combinados a fin de obtener las características mencionadas anteriormente. De todos modos, el tipo de marcador a utilizar dependerá de las necesidades de cada investigación (Arif et al., 2010). Estas ventajas no implican que la información tradicional utilizada para caracterizar la biodiversidad no sea valiosa; por el contrario, los datos morfológicos y fisiológicos son complemento de información altamente requerida para caracterizar recursos genéticos (Cuadro 2) (Debener, Bartels y Mattiesh, 1996).

Cuadro 2. Comparación entre los marcadores morfológicos y moleculares

Marcadores Morfológicos	Marcadores Moleculares
Influencia del medio ambiente	Sin influencia del medio ambiente y neutros
Número de marcadores limitados	Número de marcadores ilimitados
Baja cobertura del genoma	Amplia cobertura del genoma
Bajo nivel de polimorfismo	Alto nivel de polimorfismo
Caracteres de madurez	Análisis en fases tempranas
Menos informativos (dominantes o recesivos)	Más informativos (en general codominantes)
Entrenamiento y subjetividad	Sencillos, rápidos y objetivos

2.6.1. Tipos de marcadores moleculares

RFLP (Polimorfismo en el tamaño de los fragmentos de restricción). Esta técnica, desarrollada a finales de los 70, se basa en la detección de fragmentos de ADN de distinto peso molecular (por digestión con la misma enzima de restricción) en diferentes organismos. Los fragmentos más fáciles de analizar son los pequeños derivados de la digestión del genoma de las mitocondrias o los cloroplastos, puesto que deleciones o sustituciones pueden alterar significativamente el patrón de bandas identificable por electroforesis en geles de agarosa, donde migran de acuerdo con su peso molecular. En cambio, para moléculas de ADN de mayor tamaño, como el ADN genómico, el patrón de bandas es tan complejo que es necesario utilizar sondas específicas para visualizar sólo ciertos fragmentos mediante la técnica de Southern Blot. Las sondas de ADN para esta técnica suelen corresponder a genes previamente conocidos, aunque a veces se usa ADN preparado a partir de amplificaciones inespecíficas. Aunque la RFLP evalúa sólo un tipo de polimorfismo en cada ensayo, el resultado es muy preciso. Los primeros mapas genómicos

basados en la distribución física de los genes en vez de la frecuencia de entrecruzamiento se hicieron utilizando esta técnica. Cuando se emplea la PCR en lugar de sondas radiactivas para visualizar los polimorfismos, se le denomina PCR-RFLP (Panwar, Singh, Sonah y Deshmekn, 2015).

AFLP (Polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados). Esta técnica se desarrolló en 1995 y combina el uso de enzimas de restricción y oligonucleótidos para PCR, de manera que se obtienen marcadores moleculares muy específicos sin necesidad de conocer la secuencia con anterioridad (Romero, 2009). El ADN se corta con dos enzimas de restricción, una de corte muy frecuente, y otra de corte poco frecuente (Mba y Tohme, 2005). A los fragmentos se les ligan oligonucleótidos de extremos compatibles con las enzimas usadas y se amplifica por PCR. Jugando con la complementariedad del oligonucleótido con el sitio de restricción se puede disminuir o aumentar el número de bandas amplificadas (Tatikonda et al., 2009). Una ventaja especial de esta técnica es que es capaz de generar muchos marcadores moleculares en una sola reacción. Por eso el resultado debe resolverse en un gel de poliacrilamida de alta resolución, puesto que no se resolverían en agarosa. Esta técnica ya se ha usado con éxito en papa (*Solanum tuberosum* L.), y cebada (*Hordeum vulgare* L.) (Mba y Tohme, 2005).

RAPD (ADN polimórfico amplificado al azar): Es una de las técnicas más versátiles desde que se desarrolló en el año 1990. Se usa una colección de decanucleótidos para amplificar por PCR áreas específicas distribuidas al azar por el genoma. Su pequeñez y la baja temperatura de alineamiento (36 °C) aseguran su unión a infinidad de secuencias en el genoma para conseguir amplificar muchos fragmentos

de ADN. Estos fragmentos se pueden separar en geles de agarosa para obtener perfiles electroforéticos que variarán según el polimorfismo de los distintos individuos o grupos de individuos, y proporcionarán una huella dactilar característica (Yamagashi, 1995). Es muy cómoda, rápida, necesita poco ADN que además no requiere alta pureza, no presupone conocimientos previos sobre la secuencia, y se pueden distinguir rápida y simultáneamente muchos organismos. Esta tecnología ha sido utilizada para la catalogación de frutos, selección de variedades, y diferenciación de líneas clonales. La técnica de RAPD es una variante de PCR que utiliza un solo oligonucleótido de 10 pb que hibrida al azar con el ADN en estudio. Para que se genere un fragmento RAPD es necesario que el oligonucleótido iniciador hibride en las dos cadenas del ADN en orientaciones opuestas suficientemente cercanas (menos de 3000 pb) como para permitir la amplificación. La secuencia del oligonucleótido es aleatoria al igual que los sitios de hibridación en el ADN, por lo tanto, la secuencia amplificada es desconocida (Arif et al, 2010).

El polimorfismo que se observa entre distintos individuos consiste en la presencia o ausencia de fragmentos de ADN amplificado debido a mutaciones en el sitio de reconocimiento del iniciador, deleciones o inserciones (Williams et al, 1990). Este marcador no permite diferenciar individuos heterocigotos, por lo que es un marcador dominante. Los marcadores RAPD están basados en una técnica sencilla, de bajo costo de implementación, automatizable y no radioactiva (Sehrawat et al., 2003). A diferencia de los marcadores basados en PCR convencional no se requiere información nucleotídica previa para su desarrollo, se dispone de un número ilimitado de marcadores y el nivel de loci polimórficos es alto (Arif et al, 2010). Los marcadores

RAPD se han utilizado para detectar variaciones genómicas dentro y entre las variedades de papa, donde se probaron 160 cebadores, de los cuales ocho mostraron patrones de banda amplificados consistentes entre las plantas con variaciones dentro y entre cultivares (Da-Mata et al, 2009). También la diversidad genética se evaluó mediante marcadores RAPD y caracteres morfoagronómicos para un total en 42 accesiones de gerbera (*Gerbera jamesonii*) empleando un conjunto de 12 pares de cebadores [Da Mata, 2009]. Otro estudio es en Germoplasma de *Plantago* spp, con 80 accesiones, donde se utilizaron 20 cebadores RAPD (Singh, Lal y Shasany, 2009).

Recientemente, los RAPD se han utilizado para estimar la diversidad genética en varias especies de plantas en peligro de extinción (Lu et al., 2006; Zheng, Wang, Meng y Liu, 2008). La principal desventaja de los marcadores RAPD es su baja reproducibilidad entre laboratorios, en el sentido de que pequeñas modificaciones en la técnica como, por ejemplo, concentración de ADN inicial, modelo de termociclador, origen de ADN Polimerasa termoestable, etc., pueden alterar el patrón de fragmentos de ADN generados por RAPD de una muestra (Yamagishi, 1995).

Extracción de ADN

El (ácido desoxirribonucleico) está presente en tres orgánulos celulares vegetales, mitocondrias, cloroplastos y núcleo. La extracción de ADN de la planta es el primer paso para el uso posterior de la misma en diferentes técnicas moleculares. Por lo tanto, este paso es muy importante para que el objetivo se logre con éxito (Romano y Brasileiro, 2003).

Electroforesis

Alexander Reuss realizó las primeras observaciones del principio de la electroforesis en 1807, a través de un campo eléctrico donde las partículas positivas se movían hacia el campo negativo y viceversa. Por lo tanto, la electroforesis se define como la migración de una partícula cargada bajo la influencia de un campo eléctrico. La electroforesis en gel es un método que separa a través de cargas eléctricas y otras propiedades físicas macromoléculas tales como ácidos nucleídos y proteínas. Esta técnica es usada para la identificación de moléculas de ADN a través de patrones de bandas, para determinar la diferencia genética y la relación evolutiva entre especies de plantas y/o animales. La electroforesis en gel de agarosa es un método usado en bioquímica y biología molecular para separar molecularmente ADN o ARN basado en el tamaño; sin embargo, las proteínas pueden también ser separadas en geles de agarosa. La separación de las moléculas es lograda por el movimiento de las moléculas de ácido nucleído cargadas negativamente a través de una matriz de agarosa en un campo eléctrico. Las moléculas más pequeñas se mueven más rápido y migran una distancia más larga que las moléculas más grandes. Un gel de agarosa permite la separación de ADN digerido por enzimas de restricción, secuencias de ADN, y productos de PCR para evaluar la amplificación del ADN objetivo, estimar el tamaño de las moléculas de ADN con un marcador de ADN o "ladder" (que contiene los fragmentos de ADN de varios tamaños conocidos), la calidad del ADN por observación de ausencia o presencia de fragmentos o contaminación por bandas de ADN.

Las ventajas son que el gel es fácilmente vertido, no se desnaturalizan las muestras, las cuales también pueden ser recuperadas. Sin embargo, las desventajas son que los geles pueden fundirse durante la electroforesis, el buffer puede agotarse, y diferentes formas de material genético pueden tratarse cuando su forma no es predecible. Dependiendo del tamaño y la aplicación del ADN a someterse a electroforesis, se pueden utilizar diferentes buffers. Uno de los más comunes es el **CTAB al 2 %**, este buffer, modificado a partir de métodos descritos por Murray y Thompson (1980) es de simple preparación y se ha utilizado con éxito en una amplia gama de especies monocotiledóneas y dicotiledóneas. El método se puede utilizar con tejido fresco o seco. Los productos normalmente están en orden de 100-200 mg/g de tejido fresco (Doyle y Doyle, 1990). La extracción con CTAB es muy eficiente, produciendo grandes cantidades de ADN para su almacenamiento.

PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)

La técnica de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), que se desarrolló en 1988, permite amplificar selectivamente un segmento específico de ADN, hasta obtener una cantidad suficiente para su posterior manipulación y ha surgido como una opción para el uso de marcadores moleculares (Ferreira y Grattapaglia, 1995). Esta reacción creada por Kary Mullis en 1983 consta de tres pasos con temperaturas específicas que permiten la desnaturalización del ADN genómico, recocido con el mismo cebador o cebadores (fragmentos ADN sintético que funcionan como cebadores para la síntesis de fragmentos de ADN genómico) y la extensión de los fragmentos de ADN.

Componentes de la PCR

ADN: muestra de la cual queremos obtener una copia de un fragmento (ADN que queremos amplificar), se conoce como ADN molde.

ADN polimerasa: enzima capaz de generar una copia de ADN a partir del ADN molde. Esta reacción se lleva a cabo con un tampón apropiado para la enzima polimerasa. Se añaden cationes divalentes generalmente en Cloruro de magnesio como cofactores de la polimerasa (Laurentin y Karlovsky, 2007).

Iniciadores de la reacción: Las enzimas ADN polimerasas únicamente son capaces de añadir nucleótidos al extremo 3' libre de una doble cadena de ADN. Son necesarios por tanto moléculas (cebadores) cortas (entre 10 y 30 bases) de ADN de cadena sencilla. A los iniciadores también se les conoce con el nombre de primers o cebadores (Spooner, Núñez, Rodríguez, Naik y Ghislain, 2005).

Nucleótidos libres: necesarios para que la ADN polimerasa pueda crear una nueva cadena complementaria a la cadena molde, mediante la adición de nucleótidos al extremo 3' libre del primer que se ha unido a la cadena. Los nucleótidos se añaden en forma de desoxirribonucleósidos trifosfato (dNTPs). Los cuatro dNTPs sirven para construir las nuevas cadenas de ADN, las variaciones en su concentración afectan especificidad y fidelidad. Concentraciones altas hacen disminuir la actividad de la enzima e incluso pueden llegar a inhibirla. El uso de concentraciones desbalanceadas de DNTPs también afecta la fidelidad, siendo las concentraciones utilizadas en la mayoría de los casos entre 0,2 a 1Mm (Rodríguez y Barrera, 2004). Los dNTPs pueden captar iones de magnesio (Mg^{2+}) por lo tanto las

concentraciones de ambos deben guardar siempre la misma relación (Edwards y McCouch, 2007).

Solución amortiguadora: Se emplea, comúnmente, concentrada diez veces, por lo general incluye Tris-HCl (pH=8.4 a temperatura ambiente), KCl, gelatina y MgCl₂. Se recomiendan el uso de adyuvantes, los cuales aumentan la especificidad y fidelidad de la reacción, como el dimetilsulfoxido (DMSO) añadido para disminuir la estructura secundaria del ADN (Prevost y Wilkinson, 1999), detergentes como el tween 20 o el Tritón X-100, que ayudan a estabilizar la enzima, y, finalmente, el polietilenglicol (PEG), el glicerol, la formamida, o la seroalbumina bovina, entre otros; aunque en ningún caso estos últimos son imprescindibles (Rodríguez y Barrera, 2004).

Magnesio: Tiene una función crítica en la reacción, requiriéndose a una concentración que oscila regularmente entre 0.5 y 2.5 mM. La concentración de MgCl₂ debe optimizarse para cada ensayo en particular, debido a que puede tener efecto tanto en la especificidad como en el rendimiento de la reacción, las concentraciones insuficientes de Mg⁺² dan lugar a bajo rendimiento, mientras que en exceso se obtienen amplificaciones inespecíficas (Prevost y Wilkinson, 1999).

Etapas para un ciclo de reacción

Desnaturalización: se realiza mediante un calentamiento a 94 °C, para que se separe la cadena de doble hélice del ADN. Es muy importante que el ADN molde se desnaturalice completamente, si la muestra tiene alto contenido de guaninas y citosinas es recomendable aumentar el tiempo. El sustrato de la enzima de la PCR

es el ADN de simple cadena que actúa como molde para la síntesis de su nueva cadena complementaria (Rodríguez y Barrera, 2004).

Alineamiento: La ADN polimerasa, necesita del grupo OH- libre en el extremo 3' del iniciador ya apareado al sitio blanco de la amplificación, a partir de donde inicia la síntesis. Este punto constituye el sitio de crecimiento de la cadena complementaria al molde. Mientras que un cebador (5') es complementario a la secuencia del extremo 3' de la región del ADN molde a amplificar, el otro es al extremo 3' de la misma, pero en la cadena opuesta (Rodríguez y Barrera, 2004). El alineamiento específico de ambos primers se produce a una temperatura determinada por composición de bases y oscila entre 36 y 72 °C. Un aumento de temperatura favorece la especificidad, ya que disminuye las uniones incorrectas de los primers con sitios apócrifos del ADN molde (Prevost y Wilkinson, 1999).

Extensión: Con el ADN molde de cadena sencilla, la polimerasa empieza a copiar la hebra, incorporando desoxirribonucleótidos monofosfatos en dirección 5' → 3' excepto en los sitios donde los iniciadores se aparean. Esta etapa debe hacerse a una temperatura alta, que es la que coincide con la máxima actividad de la polimerasa (72 °C) con lo cual se evitan alineamientos inespecíficos de los iniciadores (Rodríguez y Barrera, 2004). El tiempo de extensión depende del tamaño de la amplificación, debiendo estimar 1 minuto para alargar 1000 nucleótidos. Comúnmente al finalizar todos los ciclos se realiza un último alargamiento por 5 minutos a 72 °C, para tener certeza de que todos los productos de amplificación están completamente terminados y tengan exactamente la misma longitud (Singh y Srivastava, 2010).

2.6.2. Aplicación de los marcadores moleculares en la floricultura

La aplicación de marcadores moleculares en la floricultura ha permitido la caracterización de al menos 45 géneros de importancia ornamental (Shiragur, 2009). *Alstroemeria* (*Alstroemeria aurea*), *Lilium* (*Limonium sinuatum*), Gerbera, *Petunia* (*Petunia híbrida*), *Pelargonium* (*Pelargonium hortorum*), Chrysantemun y Rosa (Escandón, 2010).

Tanto el conocimiento de la diversidad genética de los materiales bajo estudio, así como de las relaciones genéticas entre individuos, son condiciones que permiten complementar las estrategias empleadas para que los programas de mejoramiento y conservación sean eficaces. Un programa de mejoramiento comienza a partir de una caracterización adecuada del germoplasma, tomando conocimiento de la base genética de la cual se dispone y de la variabilidad existente en la misma (Cubero, 2003). Al realizar un programa de mejora genética, las posibilidades de éxito serán función tanto del material de partida como de la elección del método apropiado. Por lo tanto, una eficaz prospección de la variación disponible y el conocimiento de los lugares en que podemos encontrarla, brinda información clave para los programas de mejora. Por ello, la formación, mantenimiento y estudio de colecciones es de la mayor importancia para las futuras obtenciones vegetales (Cubero, 2003). El uso de marcadores moleculares para el análisis genético de diversidad y como una herramienta de selección es de alta prioridad en el desarrollo de nuevos cultivares ornamentales y en el aprovechamiento de la diversidad. La información de la variabilidad genética es importante para la selección de los clones parentales y en la predicción del desempeño de los híbridos. La predicción de la heterosis antes de

llevar a cabo los cruzamientos permitiría ahorrar un considerable número de cruzamientos con la consecuente reducción de tiempo y recursos (Edwards y Mogg, 2001).

Además de estimar la diversidad genética, estas herramientas pueden ser utilizadas en el mejoramiento genético de las plantas y en la manipulación asistida por marcadores moleculares, con vistas de obtener la mayor eficiencia en la transferencia de los factores genéticos (Panwar, Singh, Sonah y Deshmekh, 2015). El desarrollo de marcadores moleculares ligados a diferentes características de importancia económica permite una selección indirecta de características deseables en procesos de generaciones segregantes, además del desarrollo de mapas genéticos mediante QTLs (Blair, Panaud y McCouch, 1999).

Además de su importancia en el mejoramiento, los marcadores también son importantes en estudios y análisis genéticos de plantas (Borém y Miranda, 2005). En este contexto, los marcadores moleculares son herramientas útiles tanto para detectar variaciones en el genoma, al aumentar el poder de análisis genético en las mismas, como para obtener una huella digital genética o fingerprint con aplicación en los derechos de propiedad intelectual. Algunas de las aplicaciones de los marcadores genéticos en aspecto de la mejora vegetal son la conservación y uso de los recursos genéticos, la identificación varietal, el conocimiento y uso del sistema reproductivo, en la selección asistida por marcadores, en el desarrollo de plantas transgénicas y en la agroindustria (Borém y Miranda, 2005).

2.6.3. Análisis de caracterización morfológica

2.6.3.1. Taxonomía

Esta metodología refiere a un grupo de técnicas cuyo principal objetivo es el de cuantificar la afinidad entre individuos o Unidades Operativas Taxonómicas (OTUs: Operational Taxonomic Units) basándose en el estado de los caracteres elegidos y agrupar las OTUs que presenten propiedades similares (Sokal y Sneath, 1963). De este modo las OTUs con mayor similitud son matemáticamente reunidas en un mismo grupo o cluster. Los grupos formados evidencian alta homogeneidad interna (dentro del cluster) y alta diferenciación externa (entre clusters) (Crisci y López, 1983).

Las principales características de estas técnicas se basan en la Teoría Feneticista, la cual argumenta que una clasificación es tanto más informativa cuanto mejor refleja la similitud global de un grupo de OTUs, teniendo en cuenta, según Crisci y López (1983) las siguientes:

- La clasificación se realiza con un gran número de caracteres, tomados de todos los órganos/tejidos de un organismo y en cualquier momento de su ciclo vital.
- Todos los caracteres tienen el mismo peso clasificatorio.
- La clasificación no tiene en cuenta relaciones genealógicas o filogenéticas. Por lo tanto, no puede inferirse que los grupos resultantes sean naturales (descendencia de un ancestro común).

- Las clasificaciones se basan en las similitudes fenéticas. Se entiende por “fenético” cualquier tipo de carácter (morfológico, fisiológico, anatómico, citológico, molecular).
- Puede utilizarse sin conocer la historia evolutiva del grupo de organismos en estudio.

2.6.3.2. Análisis multivariado

El estudio de las características morfológicas a través de la utilización de técnicas estadísticas multivariadas, es importante para estimar la divergencia genética del conjunto de cultivares disponibles (González, 2016); se han utilizado en varios trabajos en diversos cultivos como maíz (*Zea mays*) (Martin, et al., 2008), trigo (*Triticum* spp) (Gawel, Wisniewska y Rafalski, 2002) y frijol (*Phaseolus vulgaris*) (Vidal-Barahona, Lagunes-Espinoza, Valadez y Ortiz-García, 2006).

2.6.4. Análisis de caracterización morfológica

2.6.4.1. Interpretación genética

El resultado observable del desarrollo de cualquier tipo de marcador es un patrón de bandas (o de picos cuando se obtiene un patrón con secuenciadores automáticos). Cada banda corresponde a la posición de un fragmento de ADN separado previamente en función de su tamaño por medio de electroforesis en una matriz porosa, habitualmente un gel de agarosa o acrilamida. La hipótesis de partida es que cada banda corresponde a un alelo de un locus determinado. Si el marcador

analizado es codominante, cada individuo heterocigoto tiene otro alelo situado en otra posición del gel, es decir, correspondiente generalmente a un fragmento de ADN con un número de bases distinto. Si el marcador es dominante, no es posible reconocer al individuo heterocigoto frente al homocigoto, y solamente existen dos fenotipos: el que presenta la banda y el que no la tiene. La presencia de banda es dominante sobre su ausencia (Langridge y Chalmers, 2004).

III. JUSTIFICACIÓN

La oferta de plantas ornamentales producidas en México, como es el caso de gerbera, es muy alta en el país, pero la adquisición del material vegetativo depende completamente del extranjero. Esto indica una oportunidad para el sistema científico-tecnológico de proporcionar conocimientos a la actividad comercial para que haga un uso más eficiente de los recursos y se inicie con la generación de nuevos materiales, sin que se tenga que pagar regalía al extranjero por su uso. El uso de métodos para la identificación y caracterización del fenotipo y genotipo es esencial para los programas de mejoramiento y para la protección de derechos de obtentor de las patentes sobre las plantas. La protección y la introducción de variedades vegetales han generado la necesidad de sistemas de identificación. La caracterización es la base para el trabajo de estimación en la similitud genética e identificación de los cultivares.

IV. HIPÓTESIS

La caracterización morfológica y molecular de los nuevos híbridos de gerbera (*Gerbera hybrida*) permitirá la diferenciación entre los híbridos obtenidos dentro de un programa de cruzamiento de variedades en el cultivo.

V. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- 1) Realizar la caracterización morfológica y molecular de los híbridos de Gerbera (*Gerbera híbrida*) obtenidos por hibridación tradicional.

5.2. Objetivos específicos:

- 1) Realizar la caracterización morfológica de los híbridos obtenidos de Gerbera (*Gerbera hybrida*).
- 2) Realizar la caracterización molecular de los híbridos obtenidos de Gerbera (*Gerbera hybrida*) mediante marcadores RAPD.

VI. METODOLOGÍA

6.1. Generalidades en la experimentación

La presente investigación se desarrolló en el laboratorio de Genética y Biología molecular del Centro Universitario UAEM Tenancingo, el cual se localiza a 18° 57' 0.89" N y 99° 36' 45.32" O y a una altitud de 2065 msnm (Figura 15).

La etapa de desarrollo del cultivo de plantas de gerbera se realizó en las instalaciones de la empresa Servicios Integrales de Horticultura Ornamental S.A. de C.V., ubicada en Carretera libre Toluca-Ixtapan de la Sal, km 64, los Arroyos, Villa Guerrero, Estado de México, que se localiza a 18° 54' 58" N y 99° 38' 37" O.



Figura 15. Laboratorio de biología molecular CUT (UAEMEX), Tenancingo.

6.2. Material vegetal utilizado en la experimentación

Los procedimientos y resultados descritos a detalle en esta tesis, son complemento a publicación de Rivera et al. (2019) y refieren el desarrollo de los híbridos a partir de cruza dialélicas y estimación de la aptitud combinatoria general (ACG) de seis variedades de gerbera (Cuadro 3) y la aptitud combinatoria específica (ACE) de sus cruza dialélicas, así como la heterosis en componentes de rendimiento y calidad de flores (Anexo 11).

Cuadro 3. Relación de los mejores híbridos comerciales evaluados en los sistemas de producción en semihidroponía y suelo. (Rivera et al., 2019).

Variedad	O	C. Cap	C. Dis	Tipo	RTO	VF	DC	AP
Fascination	H	Ros	N	Sem	22.21	13.96	11.29	64.44
Jessy	I	Nar	N	Sem	21.00	14.37	12.07	63.31
Alcatraz	H	Roj	V	Sem	21.14	13.71	11.59	63.25
Igloo	H	Bla	V	Sem	20.04	12.75	12.23	66.16
Dino	H	Ama	V	Sem	20.63	12.58	11.82	63.06
MG24	I	Fis	N	Sem	20.71	12.92	11.82	63.41

C. Cap = Color de capítulo. C. Dis = Color del disco. RTO = Rendimiento. VF = Vida en florero. DC = Diámetro de capítulo. AP = Altura de pedúnculo.

Resultado de las cruza dialélicas se seleccionaron 24 híbridos para su evaluación morfológica y molecular (Cuadro 4). Las plántulas de los híbridos en cuestión se obtuvieron por micropropagación, se establecieron en invernadero en camas de 30 x 0.6 x 0.4 m de largo, ancho y fondo respectivamente, en un suelo franco arcilloso con pH de 6.4. El riego y nutrición fue por fertiriego con variación en la dosificación de acuerdo a la etapa fenológica (Soroa, 2005). La evaluación se hizo en la floración fase de corte comercial, cuando dos de las filas exteriores de florecillas del disco mostraron anthesis. La caracterización morfológica se hizo de acuerdo a descriptores oficiales de la gerbera (UPOV, 2002) en nueve caracteres cuantitativos (longitud de

pedúnculo, diámetro de capítulo, longitud y ancho de hoja, altura y diámetro del involucre, longitud y ancho de flor ligulada exterior y diámetro de disco) (Cuadro 5); y 43 cualitativos (20 para flor, seis para limbo, seis para capítulo, tres para pedúnculo, tres para antera, dos para papús, uno para disco, uno para pistilo y uno para estigma) (Cuadro 6).

Cuadro 4. Relación de las características generales de los híbridos de *Gerbera hybrida* utilizados en la presente investigación

Nombre del híbrido	Color de capítulo		Color de disco	Tipo de capítulo
	Núm. RHS [†]	Descripción		
Tayari (TAY)	47D	Rosa rojizo	Negro	SD
Magda (MAG)	58D	rosa azulado medio	Verde	S
Morelia (MOR)	48C	Rosa	Verde	SD
Fabiola (FAB)	23C	Naranja amarillento medio	Negro	S
Imelda (IME)	56B	Rosa azulado claro	Verde	D
Soledad (SOL)	4B	Amarillo medio	Negro	SD
Rafaela (RAF)	22A	Naranja amarillento oscuro	Negro	S
Fernanda (FER)	56D	Rosa azulado claro	Verde	SD
Karla (KAR)	14B	Amarillo oscuro	Negro	SD
Boris (BOR)	16C	Naranja amarillento medio	Verde	S
Lisiecka (LIS)	32C	Naranja medio	Verde	S
Nancy (NAN)	155C	blanco	Verde	S
Bob (BOB)	41C	Rojo anaranjado	Negro	SD
Melissa (MEL)	N34A	Rojo oscuro	Negro	SD
Anel (ANE)	53B	Rojo oscuro	Negro	D
Matilde (MAT)	50C	Rosa	Negro	SD
Valentina (VAL)	36C	Rosa rojizo claro	Verde	SD
Ana (ANA)	56C	Rosa azulado claro	Verde	SD
Natalia (NAT)	63C	Rosa azulado medio	Negro	SD
Refugio (REF)	62B	Rosa azulado medio	Negro	SD
Monika (MON)	4D	Rosa (amarillo claro)	Negro	SD
Carmín (CAR)	43B	Rojo claro	Verde	SD
Lilian (LIL)	72C	Rosa azulado claro	Verde	SD
Marina (MAR)	32C	Naranja medio	Verde	D

[†] Referencia de colores RHS (UPOV, 2018). D= doble, SD= semidoble, S= sencillo.

6.3. Caracterización morfológica en *Gerbera hybrida*

El registro de datos de caracteres morfológicos fue en la floración de agosto del 2016. Se tomaron diez capítulos por cada híbrido, tan pronto como llegaron a la fase

comercial, es decir, cuando dos las filas de las flores del disco estuvieron abiertas. Por lo tanto, se evaluaron 540 capítulos florales, junto con el pedúnculo y las hojas de la planta. Se valoraron 52 caracteres, de los cuales, nueve fueron cuantitativos y 43 cualitativos.

Cuadro 5. Caracteres cuantitativos morfológicos utilizados en el cultivo de *Gerbera híbrida* según la UPOV (2002): Caracteres cuantitativos.

No.	Carácter	Descripción
1	Longitud de pedúnculo (cm)	Corto (1), mediano (2), largo (3)
2	Diámetro de capítulo (cm)	Chico (1), mediano (2), grande (3)
3	Longitud de Hoja (cm)	Chica (1), mediana (2), grande (3)
4	Ancho de hoja (cm)	Estrecha (1), media (2), ancha (3)
5	Capítulo (altura del involucro) (cm)	Medio (1), bajo (2), alto (3)
6	Diámetro del involucro (cm)	Chico (1), mediano (2), grande (3)
7	Flor ligulada exterior. Longitud (cm)	Corta (1), media (2), larga (3)
8	Flor ligulada exterior. Ancho (cm)	Estrecha (1), media (2), ancha (3)
9	Diámetro de disco (cm)	Pequeño (1), mediano (2), grande (3)

Cuadro 6. Caracteres cualitativos morfológicos utilizados en el cultivo de *Gerbera hybrida* según UPOV, (2002).

No.	Carácter	Descripción
1	Hoja: Limbo: abullonado	Débil (1), medio (2), fuerte (3)
2	Hoja: Limbo: profundidad de las incisiones en el tercio central	Poco profundo (1), medio (2), profundo (3)
3	Hoja: Limbo: pubescencia en el Haz (excluida la nervadura principal)	1-Ausente, 2-laza, 3-media,4-densa,5-muy densa
	Hoja: Limbo: profundidad de las incisiones en el tercio central	1-Poco profundo, 2-medio, 3-profundo
4	Hoja: Limbo: color verde del haz	Claro (1), medio (2), oscuro (3)
5	Hoja: Limbo: forma del ápice	Agudo (1), ángulo recto (2), obtuso (3), redondeado (4)
6	Pedúnculo: Intensidad de la pigmentación antocianica en la base	Ausente o muy débil (1), débil (1), media (3), fuerte (4), muy fuerte (5)
7	Pedúnculo: pigmentación antocianica en la punta	Ausente (1), presente (9)
8	Pedúnculo: brácteas debajo del involucro	Ausente (1), presente (9)
9	Capítulo: tipo	Sencillo (1), semidoble (2), doble (3)
10	Variedades semidobles o dobles únicamente: Capítulo: diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo	Pequeño (1), mediano (2), grande (3)
11	Capítulo: Borde de la masa de las flores liguladas interiores	Regular (1), irregular (2)
12	Capítulo: Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores	Separada (1), en contacto (2)
13	Capítulo: pigmentación antocianica en la parte distal de las brácteas interiores	Ausente (1), presente (9)
14	Capítulo: intensidad de la pigmentación antocianica en la parte distal de las brácteas interiores	Débil (1), media (2), fuerte (3)

Cont. Cuadro 6

15	Flor ligulada exterior: nivel del ápice en relación con la punta del involucreo	Debajo (1), mismo nivel (2), encima (3)
16	Flor ligulada exterior: forma	Elíptica (1), obovada (2)
17	Flor ligulada exterior: eje longitudinal	Incurvado hacia arriba (1), recto (2), incurvado hacia abajo (3)
18	Flor ligulada exterior: eje longitudinal	Fuertemente incurvado (1), moderadamente incurvado (2), recto (3).
19	Flor ligulada exterior: perfil en sección transversal de la parte mediana de la lígula	Cóncavo (1), recto (2), convexo (3)
20	Flor ligulada exterior: forma del ápice	Puntiagudo (1) Redondeado (2)
21	Flor ligulada exterior: profundidad de las incisiones	Ausente o poco profunda(1), poco profunda (2), media (3), profunda (4), muy profunda (5)
22	Flor ligulada exterior: tendencia a formar pétalos libres	Ausente (1), presente (9)
23	Flor ligulada exterior: color del lado interno	Diagrama de colores RHS (indíquese número de referencia) Blanco, amarillo, anaranjado, rosa, rojo, purpura
24	Flor ligulada exterior: número de colores	Uno (1), dos (2)
25	Variedades de un solo color únicamente: Flor ligulada exterior únicamente: distribución del color	Ausente (1), más claro en la base (2), más claro en la parte superior (3)
26	Flor ligulada exterior: presencia de estrías	Ausentes (1), presentes (2)
27	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en la mitad inferior	Ausentes (1), presentes (2)
28	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior:	Ausentes (1), presentes (2)
29	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en el borde	Ausentes (1), presentes (2)
30	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en la punta únicamente	Ausentes (1), presentes (2)
31	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario	Ausentes (1), presentes (2)
32	Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior	Blanco (1), amarillento (2), verde amarillento (3), verde (4), amarillo (5), anaranjado (6), rosa (7), rojo (8), púrpura (9)
33	Variedades sencillas o semidobles: Disco oscuro antes de abrirse las florecillas del disco	Presentes (1), ausentes (9)
34	Variedades sencillas solamente: Florecillas del disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto	Blanco (1), amarillo (2), anaranjado (3), rosa (4), rosa (5), rojo (6), púrpura (7), marrón (8)
35	Variedades semidobles y dobles únicamente: florecillas de disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto	Carta de colores RHS (indique el número de referencia)
36	Disco: color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales	Blanco (1), amarillo (2), anaranjado (3), rosa (4), rojo (5), purpura (6), marrón (7)
37	Pistilo: color principal de la parte distal	Blanco (1), amarillo (2), anaranjado (3), rosa (4), rojo (5), purpura (6), marrón (7)
38	Estigma: color principal	Blanco (1), amarillo (2), anaranjado (3), rosa (4), rojo (5), purpura (6), marrón (7)
39	Anteras: color principal	Blanco (1), amarillo (2), anaranjado (3), rosa (4), rojo (5), purpura (6), marrón (7)
40	Anteras: color del extremo en relación con las demás partes	Más claro (1), el mismo (2), más oscuro (3)

	Cont. Cuadro 6.	
41	Anteras: rayas longitudinales	Ausentes (1), presentes (2)
42	Papús. Color del extremo en relación con las demás partes	Más claro (1), el mismo (2), más oscuro (3)
43	Papús: nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas	Bajo (1), medio (2), alto (3)

6.3.1. Hoja

Se determinó el color verde del haz, considerando valores de claro, medio y oscuro (Anexo 3, C6). Se consideró la forma del ápice (Anexo 3, C7). La longitud y ancho de la hoja fueron registrados en cm. El largo se midió de la base del ápice de la lámina doliar al inicio del pedúnculo de la hoja. Los caracteres limbo abullonado, pubescencia en el haz, la profundidad de las incisiones, el color verde del haz y la forma del ápice, se midieron a través de observaciones visuales considerando los caracteres de la UPOV (2002).

6.3.2. Pedúnculo

La longitud (cm) del pedúnculo se midió de la base del capítulo a donde termina el pedúnculo y se realizó en el momento en que el capítulo tenía los primeros anillos que rodean el disco en antesis. La pigmentación y la intensidad de la misma se realizaron de acuerdo a los esquemas (Anexo 3, C9, C10).

6.3.3. Capítulo

El capítulo es una de las características fenotípicas más importantes al seleccionar un híbrido para el gusto del consumidor, ya que aquí se manifiesta el tamaño y el color de la flor, para este trabajo se evaluaron 6 caracteres cualitativos. El tipo de capítulo se consideró de acuerdo a los esquemas (Anexo 3, C13, C14); el diámetro

del capítulo, la altura y el diámetro del involucro se consideraron en cm. El diámetro y borde de la masa de las flores liguladas, la posición de las brácteas y la pigmentación antociánica se realizó de acuerdo a los esquemas (Anexo 3, C20) respetando los caracteres considerados por la UPOV (200).

6.3.4. Flor

Los datos se tomaron en flores abiertas al momento de la antesis. De la flor ligulada exterior; el nivel del ápice, la forma, el eje longitudinal y el perfil se tomó como referencia los esquemas (Anexo 3, C21, C22, C23, C24, y C25); la longitud de la flor ligulada exterior y el ancho se midió en cm (Anexo 3, C26); la forma del ápice, la profundidad de las incisiones, la tendencia formar pétalos libres se realizaron de acuerdo a los esquemas (Anexo 3, C30). El color del lado interno y externo de la flor ligulada exterior se midió de acuerdo a la tabla de colores RHS (Colour Chart RHS, 2012) (Anexo 3, C31). El número de colores, la distribución del color, la presencia de estrías, y el color secundario se realizaron de acuerdo a los esquemas del anexo 3, C32 y 33, UPOV (2002).

6.3.5. Disco

El diámetro del disco se midió en inflorescencias con dos anillos florales en antesis, es decir cuando las flores están maduras y lista para el corte. Esta medida se hizo con una regla y se registró en cm. El color del disco y el color principal de los lóbulos del perianto se realizaron de acuerdo a la guía de colores RHS (Anexo 3, 42). El color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales se determinó de

acuerdo al Diagrama de colores RHS (Colour Chard RHS, 2012) (Anexo 3 C31) UPOV (2002).

6.3.6. Pistilo

El color principal de la parte distal del pistilo se determinó de acuerdo a los esquemas (Anexo 3, C20) UPOV (2002).

6.3.7. Anteras

Los caracteres de las anteras se determinaron de acuerdo a los esquemas de la UPOV, 2002 (Anexo 3, C48, C49 y C50) y estos fueron el color principal, el color de los extremos, el color de los extremos con relación a las demás parte, la presencia de rayas longitudinales.

6.3.8. Estigma

Del estigma se evaluó el color principal, de acuerdo a la UPOV, 2002, en gerbera existen en colores blanco, amarillo, anaranjado, rosa, rojo, purpura, y marrón.

6.3.9. Papús

Del papús se evaluaron dos caracteres; el color del extremo en relación con las demás partes y el nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas de acuerdo a los esquemas (Anexo 3, C51), UPOV (2002).

6.4. Caracterización molecular en el cultivo de *Gerbera hybrida*

6.4.1. Extracción de ADN

La extracción del ADN se hizo con el método CTAB al 2 % reportado por Silva-rojas, Uribe-Cortés, Aguirre-Rayó, Martínez-González y García-Morales (2015), con modificaciones (Anexo 7). Se utilizaron 0.12 g de hoja joven de cada genotipo provenientes de cultivo in vitro (Figura 16 a, b) con un peso promedio para cada híbrido (c), el material se maceró (d) en un mortero de porcelana, agregando 0.1 g de Polyvinylpyrrolidone (PVP) con 1000 microlitros de CTAB al 2 % (e) precalentado a 37 °C, la solución obtenida se pasó a tubos eppendorf.

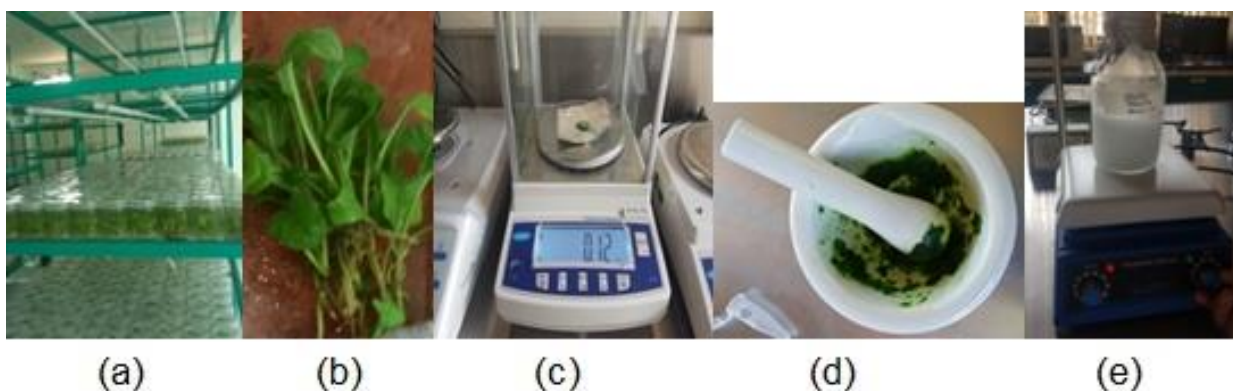


Figura 16. Material vegetal para extracción de ADN (Fotos: Azucena Rivera Colín).

Las muestras se incubaron en baño María a 65 °C por 30 min y posteriormente se centrifugaron a 11,500 g por 10 minutos. La fase acuosa (800 µL) (Figura 17) se transfirió a tubos de 1.5 mL a los que se les agregó 1 mL de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1). Los componentes se mezclaron por inversión del tubo durante 10 minutos y centrifugaron a 8000 g durante 10 minutos. Se repitió el paso anterior del que se extrajeron (600 µL) de solución acuosa y en un tubo nuevo se agregaron 800

mL de cloroformo-álcohol isoamílico (24:1). Los componentes se mezclaron por inversión durante 10 minutos y se centrifugó a 11,500 g por 10 min.



Figura 17. Solución acuosa (Foto: Azucena Rivera Colín).

Se transfirió la solución acuosa a un tubo nuevo de 1.5 ml. Se agregaron 20 μ l de acetato de sodio (NaOAc) y 400 μ l de Etanol al 70 %. Se mantuvo a -20 °C por 2 h. Posteriormente se centrifugó a 11,500 g durante 20 min y se decantó cuidadosamente la fase acuosa. Al tubo se agregó 1 ml de Isopropanol al 70 % y se centrifugó a 8,000 g por 5 min., se decantó y se agregaron 400 μ l de agua HPLC posteriormente se incubó a 55 °C por 15 minutos. Luego se añadió 34 μ l de NaOAc 3M y 1 ml de Etanol al 95 % y se mantuvo a -20 °C por una hora. Posteriormente se centrifugó 11,500 g durante 10 min, el sobrante se decantó.

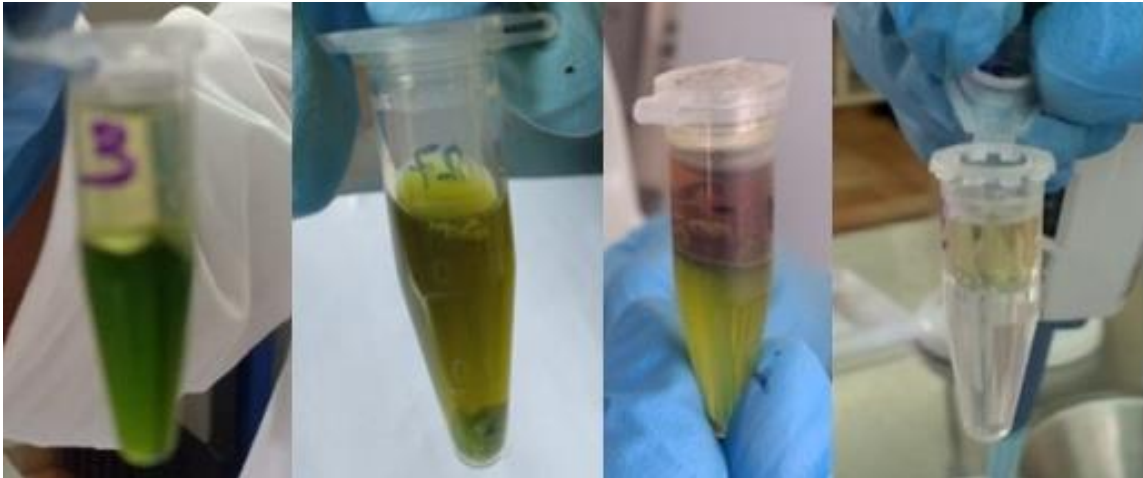


Figura 18. Diferentes etapas de la solución acuosa (Fotos: Azucena Rivera Colín).

Luego se lavó con 600 μ L de Isopropanol al 70 % y se centrifugo por 5 minutos a 11,500 g. El número de lavados fue de acuerdo a la coloración de la pastilla (la cual debe ser lo más clara posible) y se dejó secar durante 30 minutos (Figura 18). Posteriormente la pastilla se resuspendió en 50 o 100 mL de acuerdo al tamaño con agua ultra purificada grado HPLC. El ADN obtenido se guardó a -20 °C, hasta su uso (Figura 19).



Figura 19. Centrifugación y secado del proceso de extracción de ADN (Fotos: Azucena Rivera Colín).

6.4.2. Preparación de geles de agarosa al 1.5 % (electroforesis)

Se disolvieron 4.5 g de agarosa en 300 mL de Buffer TBE al 0.05 % en microondas durante 2.5 minutos con agitación manual intermitente o más hasta desaparecer grumos. Se dejó enfriar a 75 °C y se agregaron 6 µL de ® colorante inocuo que sirve para la tinción de ADN en electroforesis. Se dejó enfriar a 50 °C hasta su uso (figura 20).



Figura 20. Solución Agarosa el 1.5 % conTBE al 0.05X

Se cubrieron con cinta tape los lados de la bandeja electroforética y se colocó el peine, posteriormente se agregó la solución de agarosa sin formación de burbujas, se dejó enfriar a temperatura ambiente por un lapso de 30 minutos. Cuando el gel solidificó, se removi6 la cinta tape y se colocó la bandeja en el tanque de electroforesis con Buffer TBE al 0.05X y se colocaron las muestras de ADN en los pozos del gel sumergido. La carga individual de cada muestra fue de 5 µL de “loading die” y 3.5 microlitros de ADN para un total de 8.5 µL. La bandeja se cubrió y se conectó a la línea eléctrica de tal manera que la terminal negativa quedó al extremo de donde se cargó la muestra. Se inició la electroforesis a 70 voltios durante 10 horas. Posteriormente se apagó y se desconectan las líneas eléctricas y se retiró el

gel de agarosa para observarse la migración del ADN en un transluminador ultravioleta (Figura 21). Los fragmentos de ADN separados indicaron su presencia (Figura 22).

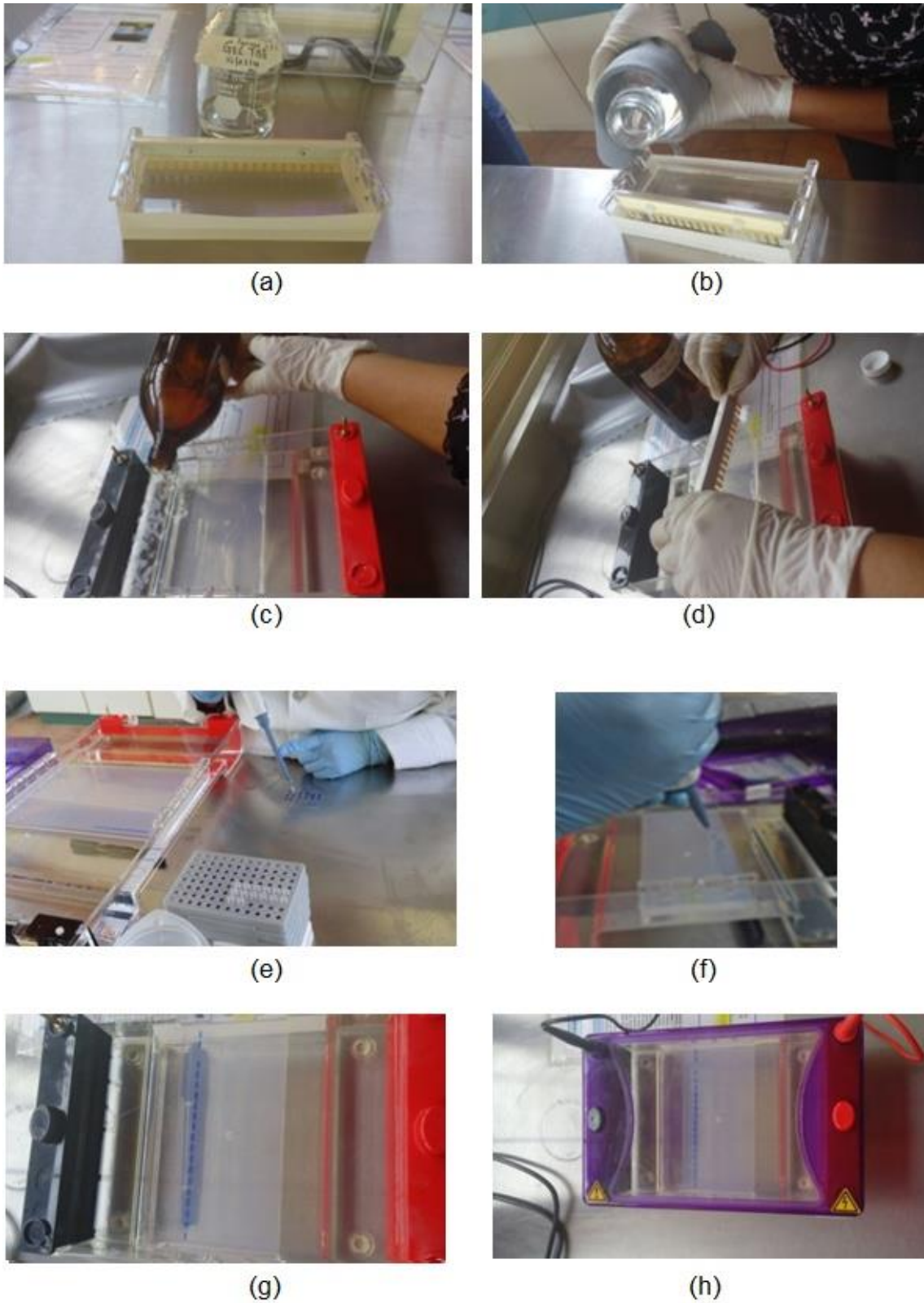


Figura 21. Proceso de electroforesis. Cubierta con tape (a), puesta de gel líquido (b), colocación de gel y llenado de buffer TBE (c), retiro de peine (d), preparación de muestra (e), colocación de muestra (f), tapado de cámara (g), conectado de cámara (h).

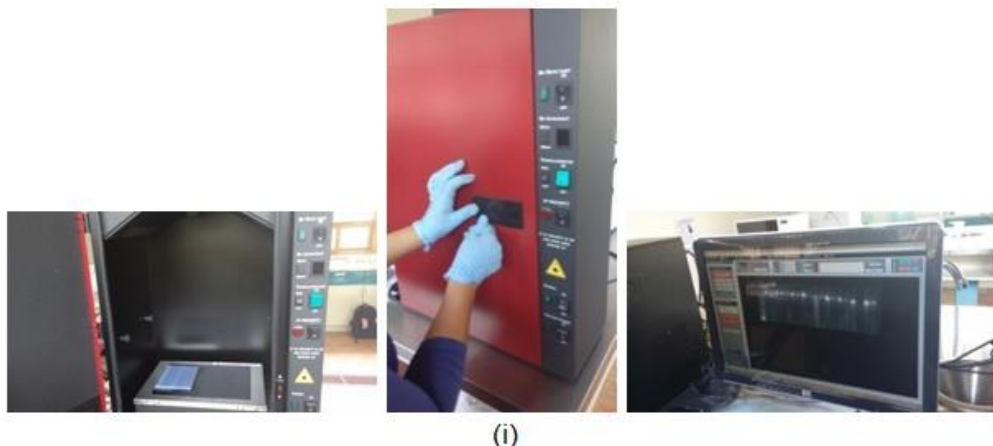


Figura 22. Lectura de gel en el transluminador (Fotos: Azucena Rivera Colín).

6.4.3. Amplificación por PCR

El volumen de carga de cada reacción fue de 20 μL , compuesto de 12 μL de agua, 0.8 μL de MgCl_2 , 4 μL de buffer, 1 μL de oligonucleótido, 0.2 μL de Taq polimerasa y 2 μL de ADN (Cuadro 7). La amplificación se realizó en un termociclador modelo Mastercycler (EPPENDORF), con un programa por ciclo de desnaturalización inicial a 94 $^{\circ}\text{C}$ durante tres minutos, desnaturalización a 94 $^{\circ}\text{C}$ por un minuto, alineamiento a 36 $^{\circ}\text{C}$, por un minuto y extensión a 72 $^{\circ}\text{C}$, por dos minutos; todo por 35 ciclos con una extensión final a 72 $^{\circ}\text{C}$ por siete minutos (Cuadro 8). Para la PCR se utilizó el paquete comercial (My TaqTM de [®]Bioline). Los fragmentos amplificados fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1.5 %, a 70 V con TBE 0.5x (0.001 M de EDTA pH 8.0; 0.04 M de Tris pH 8.0; 0.02 m de ácido acético) por diez horas con GelRed (BiotiumTM) como tinte fluorescente para ácidos nucleicos, en una celda electroforética de la marca [®]Cleaver Scientific (Figura 23).



Figura 23. Procedimiento de PCR (Fotos: Azucena Rivera Colín).

Cuadro 7. Componentes de la mezcla de la Reacción en Cadena de la Taq ADN polimerasa (PCR), para la obtención de patrones RAPD's

		Volumen (1 reacción)	Volumen para 24 reacciones
1	H ₂ O (bidestilada estéril)	12.0 µl	288.0 µl
2	MgCl ₂ (50 mM)	0.8 µl	19.2 µl
3	Buffer	4.0 µl	96.0 µl
4	Primer	1.0 µl	24.0 µl
5	Taq ADN polimerasa (5 U µL ⁻¹)	0.2 µl	4.8 µl
6	ADN genómico (10 ng µL ⁻¹)	2.0 µl	
	Total	20 µl	432 µl

En un tubo Eppendorf de 1.5 mL se agregaron 2 µL de ADN concentrado, al cual se le adicionó la cantidad de agua bidestilada estéril. Enseguida, para cada genotipo se marcó un tubo Eppendorf de 0.2 mL y se adicionaron 5 µL del ADN, en otro tubo de 1.5 mL se preparó la mezcla de reacción en un volumen total de 25 µL. Se adicionaron, 20 µL de la mezcla de reacción se colocaron en cada tubo y se incubaron en un Termociclador Mastercycler® gradient, EPPENDORF; bajo las condiciones de temperatura que se indican en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Programa de termociclaje utilizado para RAPD con equipo de termociclaje mastercycler gradient.

Fase	Ciclos C)	Etapas	Tiempo	Temperatura (°C)
1	1	Desnaturalización	3 min	94 °C
2	35	Desnaturalización	1 min	94 °C
		Alineamiento	1 min	36 °C
		Extensión	2 min	72 °C
3	1	Extensión final	7 min	72 °C

Los productos se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.2 %. La diferencia entre los genotipos se hizo al comparar las similitudes y las diferencias en los patrones de bandeo. Se asignó el valor de 0 a la ausencia de banda y 1 a su presencia. Se contabilizaron el número de bandas producto de la amplificación para cada iniciador, asignándose un número de acuerdo con la distancia de migración en el gel. Los patrones electroforéticos RAPDs obtenidos con los 11 iniciadores para los 24 genotipos se registraron en una matriz de datos y con esa información se hizo un análisis posterior (MBD).

6.4.4. Cebadores

El método empleado fue el descrito por Williams et al. (1990).

Cuadro 9. Secuencias aleatorias para RAPDs (compañía Operon Biotechnologies).

Oligo	Secuencia (5'-3')	Temp	Oligo	Secuencia (5'-3')	Temp
OPA-01	CAGGCCCTTC	27.0	OPB-01	GTTTCGCTCC	25.0
OPA-02	TGCCGAGCTG	27.0	OPB-02	TGATCCCTGG	25.0
OPA-03	AGTCAGCCAC	25.0	OPB-03	CATCCCCCTG	25.0
OPA-04	AATCGGGCTG	25.0	OPB-04	GGACTGGAGT	25.0
OPA-05	AGGGGTCTTG	25.0	OPB-05	TGCGCCCTTC	27.0
OPA-06	GGTCCCTGAC	27.0	OPB-06	TGCTCTGCC	27.0
OPA-07	GAAACGGGTG	25.0	OPB-07	GGTGACGCAG	27.0
OPA-08	GTGACGTAGG	25.0	OPB-08	GTCCACACGG	27.0
OPA-09	GGGTAACGCC	27.0	OPB-09	TGGGGGACTC	27.0
OPA-10	GTGATCGCAG	25.0	OPB-10	CTGCTGGGAC	27.0
OPA-11	CAATCGCCGT	25.0	OPB-11	GTAGACCCGT	25.0
OPA-12	TCGGCGATGA	25.0	OPB-12	CCTTGACGCA	25.0
OPA-13	CAGCACCCAC	27.0	OPB-13	TTCCCCCGCT	27.0
OPA-14	TCTGTGCTGG	25.0	OPB-14	TCCGCTCTGG	27.0
OPA-15	TTCCGAACCC	25.0	OPB-15	GGAGGGTGTT	25.0
OPA-16	AGCCAGCGAA	25.0	OPB-16	TTTGCCCGGA	25.0
OPA-17	GACCGCTTGT	25.0	OPB-17	AGGGAACGAG	25.0
OPA-18	AGGTGACCGT	25.0	OPB-18	CCACAGCAGT	25.0
OPA-19	CAAACGTCGG	25.0	OPB-19	ACCCCCGAAG	27.0
OPA-20	GTTGCGATCC	25.0	OPB-20	GGACCCTTAC	25.0

En el cuadro 9 aparecen las secuencias los RAPDs utilizados, la amplificación se llevó a cabo en un aparato Termociclador Mastercycler® gradient, EPPENDORFT. Para el análisis de variabilidad genética se emplearon 40 oligodesoxinucleótidos decámeros de la serie Operon (Operon Biotechnologies).

6.5. Análisis estadístico para caracterización morfológica

Para los 43 caracteres cualitativos se obtuvo la moda (estadística descriptiva) y para los 9 cuantitativos se realizó un análisis de varianza y comparación de medias, además de un análisis de taxonomía numérica con un estudio de estados únicos para caracteres cualitativos, morfoalelos totales y polimórficos para los 52

descriptores evaluados, los cuales se clasificaron en diferentes categorías: cualitativas binarias, cualitativas multiestado con orden lógico, cualitativas multiestado sin orden lógico, cuantitativas continuas y cuantitativas discontinuas, de acuerdo con la categorización propuesta por Crisci y López (1983). Los resultados también se sometieron a un análisis multivariado. Se seleccionarán los caracteres morfológicos con mayor contribución relativa. También los resultados se representan a través de un dendrograma obtenido por una matriz de distancia euclídea media por el agrupamiento del vecino más cercano (Cruz, 2006).

Para el agrupamiento basado en caracteres cuantitativos, los valores registrados se transformaron en datos binarios, aplicándose el coeficiente "Simple Matching" para analizar el conjunto de datos. Se calculó una matriz de similitud para su clasificación por el método jerárquico a través de la formación de un dendrograma utilizando algoritmos UPGMA, de acuerdo a Rohlf (2000).

Para evaluar la eficiencia de cada agrupamiento, se calculó el coeficiente de correlación cofenética (CCC), en cuanto mayor sea este valor, mayor es la eficiencia del método utilizado. Todo el análisis fue realizado con el programa Infostat 2016 (Di Rienzo et al., 2016).

Para el análisis molecular a partir de los geles generados con cada cebador, se construyó una matriz de datos binarios; se marcó con 1 la presencia y con 0 la ausencia de amplicones en cada banda polimórfica. La lectura de cada gel fue

realizada por una sola persona, con la pantalla del ordenador como medio de visualización.

6.6. Análisis estadístico para caracterización molecular

De la matriz de datos, se realizó el análisis de la eficiencia de cada cebador con los siguientes indicadores:

- **Número de bandas polimórficas:** se contabilizó el número de bandas que están presentes en una frecuencia mayor al 1 % y menor al 100 %; se consideran como monomórficas las que están presentes en la totalidad de los patrones génicos (Luna-Martínez, Flores-Martínez y Ponce-Noyola, 2003).

- **Número de bandas por iniciador:** se contabilizó el número de bandas de ADN sintetizados por cebador en la PCR (FAO, 2010).

- **Porcentaje de contribución:** se calculó la proporción de amplicones revelados por cada cebador RAPD en relación a los demás utilizados.

- **Porcentaje de polimorfismo:** se determinó la proporción de bandas polimórficas y no polimórficas reveladas por cada cebador (Adhikari, Saha, Bandyopadhyay y Ghosh, 2015), como sigue:

$$\% \text{ polimorfismo} = (\text{loci polimórficos} / \text{loci totales}) \times 100$$

Contenido de información polimórfica (PIC): este indicador se refiere al grado de información que brinda un determinado cebador para distinguir entre genotipos; este valor es análogo a la estimación de diversidad genética (Laurentin y Karlovsky, 2007; González, Lozano, Cruz, Ochoa y Morillo, 2016).

$$\text{PIC} = 1 - [f^2 + (1-f)^2]$$

Dónde:

f = frecuencia de los fragmentos del marcador que estaban presentes.

(1-f) = frecuencia de los fragmentos del marcador que estaban ausentes.

Índice del marcador (IM): Se calculó para determinar la utilidad total de cada cebador, como un equilibrio entre el nivel de polimorfismo detectado y la medida en que un ensayo puede identificar polimorfismos múltiples (Varshney et al., 2005).

$$\text{IM} = \text{PIC} \times (\# \text{ bandas polimórficas})$$

- **Poder de resolución:** Este indicador depende de la distribución de alelos dentro de los genotipos muestreados y teóricamente asume la división de los genotipos analizados en dos grupos con base en la presencia o ausencia de una banda en una posición particular, de tal forma que el sistema de marcaje perfecto tendría una gran cantidad de bandas que dividirían el taxa en partes casi iguales. Así, entre mayor sea la cantidad de bandas que se consideren, mayor será la probabilidad de que dos de ellas puedan dividir los genotipos dentro de dos mitades complementarias (Prevost y Wilkinson, 1999).

Para calcular este índice, primero se determinó la Informatividad de la banda (Ib) con base en su similitud a la condición óptima teórica de que 50 % de los genotipos contengan la banda y se representa en una escala del 0 al 1 por la siguiente fórmula:

$$Ib = 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

Dónde:

p = la proporción de todos los genotipos que contienen la banda.

Con este dato se calculó entonces la habilidad de cada cebador para distinguir entre los genotipos analizados:

$$R_p = \sum I_b$$

6.8.2. Construcción de dendrogramas

Las relaciones genotípicas entre las muestras, a partir de la matriz de datos binarios, se evaluaron por medio del método de agrupación Neighbour-joining (Saitou y Nei, 1987), con el índice de similitud Dice (Nei y Li, 1979) y un remuestreo con reemplazo (Bootstrap) de los caracteres en la matriz de datos de 1,000 corridas, por medio del programa FreeTree (Pavlicek, Hrda y Flegr, 1999). Posteriormente, se crearon los dendrogramas por medio del programa FigTree.

Para establecer los patrones de bandas generados por los productos amplificados, se construyó una matriz de datos, emparejando las bandas de acuerdo a su peso molecular. Una vez establecida la identidad de las bandas observadas se procedió a la construcción de la matriz básica de datos (MBD). Posteriormente, basado en el estudio de Lynch y Milligan (1994; ecuación 2a), se realizaron correcciones a esta matriz, eliminando las bandas que presentaron una frecuencia de alelos nulos (ausentes) menor a $3/N$, donde N correspondió al tamaño de muestra analizada, en este caso 24 materiales. A partir de la matriz final se calculó una matriz de similitud utilizando el coeficiente de Jaccard (1908), y las distancias de Nei (1979) y Rogers

(1972), mediante el paquete computacional Free Tree versión 1.50 (Hapl). Adicionalmente con los datos resultantes se realizó un análisis de agrupamiento (UPGMA, Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average; Sneath, 1973. Para verificar la robustez de los agrupamientos obtenidos, se realizaron 1,000 remuestreos (bootstrapping) con el programa Free Tree. Los dendrogramas así obtenidos fueron graficados utilizando el programa TreeView versión 1.6.6 (Preesman, 2013).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Anexo 11 se pueden apreciar los resultados para la aptitud combinatoria general (ACG) de seis variedades de gerbera y la aptitud combinatoria específica (ACE) de sus cruzas dialélicas, así como la heterosis en componentes de rendimiento y calidad de flores.

7.1. Caracterización morfológica en el cultivo de *Gerbera hybrida*

7.1.1. Hoja

De acuerdo a Zheng, et al., 2019 las hojas de las gerberas son los órganos principales donde se realiza la fotosíntesis, por lo que entre mayor sea el largo y ancho de la hoja mayor será la capacidad fotosintética de la planta. Xu (2018), indica que el contenido de clorofila (entre más oscura, más clorofila) que se manifiesta en la coloración de las hojas tendrá una interacción positiva con la producción de flores en las plantas de gerbera. Por tanto, se deduce que los híbridos que presentan tonalidades más fuertes en las hojas, la producción de flores será mayor. No así para la pubescencia, ya que entre más fuerte sea, menor será la resistencia del híbrido para la incidencia de plagas y enfermedades debido a que en los tricomas funcionan como hospedantes de plagas; trips (*Frankliniella occidentalis*), huevecillos de mosca blanca (*Bemisia Tabaci*) (Soroa, 2005) y enfermedades como cenicienta (Nagaraju, et al, 1998). De acuerdo a lo anterior el híbrido MAG y MOR, presentan un limbo abullanado débil, una pubescencia media, color de hoja oscuro y forma de ápice redondeado, lo que indicaría que pueden ser híbridos con buena producción de flores

y resistente a plagas y enfermedades. No siendo así el caso del híbrido ANA que presenta una hoja con limbo abullonado fuerte, pubescencia densa y forma del ápice moderadamente agudo.

Cuadro 10. Moda en caracteres cualitativos en hoja observados en 24 híbridos mexicanos de gerbera. Hoja limbo abullonado, Hoja: Limbo: pubescencia en el haz (excluida la nervadura principal); Hoja: Limbo: profundidad; Hoja Limbo: color verde del haz de la hoja y Forma del ápice.

CARACTER																									Descripción
	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	JANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR	
HLA	2	2	2	1	2	2	3	1	2	1	1	1	1	2	2	2	2	4	1	1	2	1	1	2	1-Ausente, 2-Débil, 3-Medio,4-Fuerte
HPUB	2	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1	2	3	3	2	1	1	1	4	1-laxa, 2-media, 3-densa, 4-muy densa
HLP	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	3	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1	1-poco profundo, 2-medio, 3-produndo
HC	2	3	3	2	2	2	2	2	3	2	2	3	3	2	2	2	3	2	2	2	3	1	1	3	1-claro, 2-medio, 3-oscuro
HF	2	5	5	4	2	2	2	1	2	3	3	4	2	2	2	1	3	3	3	2	2	2	2	2	1-agudo estrecho, 2-moderadamente agudo, 3-en ángulo recto, 4-obtuso, 5-redondeado

Hoja: Limbo abullonado (HLA); Hoja: Limbo: pubescencia en el haz (excluida la nervadura principal) (HPUB); Hoja: Limbo: profundidad (HLP); Hoja Limbo: color verde del haz (HC); Hoja: Forma del ápice (HF).

En el cuadro 10 se muestran los resultados obtenidos en el carácter cualitativo color de la hoja, donde se observó que el 46 % de los genotipos no presentaron limbo abullonado, es decir fueron hojas lisas, el 42 % tenía un limbo abullonado ligero, el 8 % medio y sólo el 4 % tuvo un abullonado fuerte manifestándose en el híbrido ANA. Lo que refleja que en general los híbridos generados pueden ser resistentes a ciertas plagas y enfermedades. En cuanto a la pubescencia, que es la presencia o ausencia de tricomas, sólo el híbrido ANA presento una pubescencia fuerte, lo que pudiera hacerlo propenso a ciertas plagas y enfermedades. La profundidad de las incisiones en el tercio central fue muy profunda para el híbrido BOB, sin embargo el 54 % tuvieron un nivel medio de profundidad y el 41 % fue poco profundo. Referente al

color de la hoja, el 63 % de los híbridos presentó un color verde medio, el 12 % fue un verde claro y el 25 % verde oscuro. Para la forma del ápice el 54 % fue moderadamente agudo, 6 híbridos fueron en ángulo recto y solo el híbrido MAG tuvo un ápice redondeado.

7.1.2. Pedúnculo

Mascarini, 2005, indica que entre más fuerte sea la intensidad de la pigmentación en el pedúnculo este será más leñoso y por tanto más resistente al doblamiento. Kloos (2005) y Manning et al (2016), indicaron que la durabilidad en florero de un pedúnculo de gerbera está indicando por la pigmentación antociánica en la punta y en la base.

Cuadro 11. Moda en tres caracteres cualitativos en pedúnculo observados en 24 híbridos de Gerbera.

CARACTER																									Descripción
	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR	
PPB	3	2	4	4	3	1	4	2	2	3	4	1	4	4	4	3	4	3	4	4	2	2	3	4	1-Ausente, 2-Débil, 3-Medio,4-Fuerte
PP	9	9	9	9	9	9	9	1	1	9	9	1	9	9	1	9	9	9	9	9	1	9	1	9	1-ausente, 9-presente
PB	1	9	9	9	9	1	1	1	9	1	9	1	9	1	1	1	9	9	1	1	9	1	1	1	1-ausente, 9-presente

Pedúnculo: intensidad de la pigmentación antociánica en la base (PPB); Pedúnculo: pigmentación antociánica en la punta (PP); Pedúnculo: brácteas debajo del involucro (PB).

En el cuadro 11 se observan los resultados para 3 caracteres cualitativos evaluados en el pedúnculo; referente a la intensidad de la pigmentación antociánica en la base (PPB), el 46 % presento una pigmentación fuerte, el 25 % una pigmentación débil y el 21 % fue débil. Se encontró que los híbridos SOL y NAN no presentaron pigmentación, lo que significa que pueden ser híbridos sensibles al doblamiento del

tallo. Los que presentaron una pigmentación fuerte fueron: MOR, FAB, RAF, LIS, BOB, MEL, ANE, VAL, NAT, REF Y MAR lo que indica que pueden ser híbridos resistentes al doblamiento del tallo. Con respecto a la pigmentación en la punta (PP), el 67 % de los híbridos presentaron pigmentación y el resto 33 % no los presentaron lo que indica que los híbridos FER, KAN, NAN, ANE, MON, LIL pueden tener una vida corta en florero y el restante de los híbridos sugieren una vida poscosecha más larga, resultados similares los reporto Chung et al., 2004b al generar un híbrido de color rosa y con pedúnculo fuerte con pigmentación antocianica en la punta y en la base.

7.1.3. Capítulo

El capítulo de la gerbera es uno de los caracteres comerciales más importantes (Souza, et al., 2005). En esta investigación los resultados indicaron que el 75 % son híbridos con capítulos semidobles, el 17 % fue sencillo y el 8 % restante doble. Según los estudios de Roskman, 2005, los híbridos dobles aunque fenotípicamente son más atractivos tienen mayor cantidad de flores y hace que sean más pesados y por lo tanto más difíciles de hidratar y esto hace que reduzcan su vida en florero (Chung, et al (2004a). Los híbridos sencillos no son muy atractivos para el consumidor, pero su vida en florero es mayor. Para el diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo (CDM) de los 24 híbridos, sólo 17 de ellos presentaron este carácter y de éstos el 41 % fue grande, el 30 % mediano y el restante 30 % pequeño. De acuerdo a Rezende, et al (2009), este es un carácter que se manifiesta en estos porcentajes en la mayoría de los híbridos comerciales de gerbera. Para el tamaño del borde de la masa de las flores liguladas

interiores (CBM), en variedades semidobles y dobles, el 42 % fue grande, el 32 % mediano y el 26 % pequeño. Para el borde de la de las flores liguladas interiores (CIP), solo para variedades semidobles y dobles, el 63 % presentaron una masa irregular y el 37 % regular. De la posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores lígulas exteriores (CIPIG), el 83 % estaban en contacto y el 17 % separadas (Cuadro 14). De la pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores, el 75 % manifestó ausencia y el 25 % presencia. En lo referente a la intensidad de la pigmentación antociánica (CINP), en la parte distal de las brácteas el 50 % fue débil, el 29 % media y el 21 % fuerte.

Cuadro 12. Moda en seis caracteres Cualitativos en capítulo observados en 24 híbridos de Gerbera.

CARACTER	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR	Descripción	
CT	2	1	2	1	3	2	1	2	2	1	1	1	2	2	3	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	1-sencillo, 2-semidoble, 3-doble
CDM	2	-	3	-	3	3	-	3	1	-	-	-	2	1	3	3	1	-	2	2	1	2	1	3	3	1-pequeño, 2-mediano, 3-grande
CBM	1	-	1	-	1	2	-	1	2	-	-	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1-regular, 2-irregular
CPB	2	2	2	2	1	2	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1-separada, 2-en contacto
CPA	1	1	9	9	1	1	1	1	9	1	1	1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	9	1-ausente, 9-presente
CIP	2	1	1	2	2	1	3	3	3	1	1	1	2	3	3	2	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1-débil, 2-media, 3-fuerte

Tipo de capítulo (CT) Capítulo: diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo (CDM); Capítulo: Borde de la masa de las flores liguladas interiores (CBM); Capítulo: Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores (CIP); Capítulo: pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores (CIPIG); Capítulo: intensidad de la pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores (CINP).

7.1.4. Flor

En el cuadro 13 se evidencian los resultados obtenidos en los caracteres cualitativos para flor. Prajapati, et al. (2014), indican que la flor es el carácter más importante y atractivo a los ojos de los consumidores y por lo tanto al caracterizar un material se

debe detallar a más profundidad. El nivel del ápice en relación con la punta del involucro el 75 % está al mismo nivel, el 17 % encima y el 8 % debajo, lo que nos indica que la mayoría de las flores tiene posición recta.

Cuadro 13. Moda en 15 caracteres cualitativos en flor observados en 24 híbridos mexicanos de Gerbera.

CARACTER																									Descripción	
	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	JANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR		
FNA	2	2	2	3	2	2	2	2	2	3	2	1	3	2	2	1	2	2	2	2	2	3	2	2	1-debajo, 2-mismo nivel, 3-encima	
FF	1	1	1	2	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1-elíptica estrecha, 2-obovada estrecha		
FEL	3	2	4	4	3	4	4	3	4	4	4	4	1	3	3	2	3	3	4	3	3	2	4	3	1-fuertemente curvado hacia arriba, 2-moderadamente curvada hacia arriba,3-recto, 4-moderadamente curvado hacia abajo	
FLL	2	2	3	3	1	3	3	1	3	3	3	3	1	2	3	3	1	1	3	1	1	1	3	3	1-fuertemente incurvado, 2-moderadamente incurvado,3-recto	
FPT	1	1	2	2	3	2	2	3	2	2	2	2	3	1	2	2	3	3	2	3	3	3	2	2	1-cóncavo, 2-recto, 3-convexo	
FFA	1	1	1	2	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	1-puntiaguda, 2-redondeada	
FPI	3	3	3	4	1	3	4	1	2	2	3	3	3	3	4	1	3	3	3	3	2	2	2	3	1-ausente, 2-poco profunda, 3-media, 4-muy profunda	
FPL	9	1	9	9	9	9	1	9	9	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	9	1	9	9	1-ausente, 9-presente	
FCI		47-D	58-D	48-C	23-C	56-B	4-B	22-A	56-D	14-B	16-C	32-C	155-C	41-C	N34-A	53-B	50-C	36-C	56-C	63-C	62-B	4-D	43-B	72-C	32-C	47-D,58-D,48-C,56-B56-D,41-C,53-B,50-C,36-C,56-C, 4-D Y 43-B rojos; 63-C, 62-B y 72-C rojos púrpura; 23-A,22-A, 14-B, 16-C amarillos-naranja; 32-C, N34-A, 32-C naranja rojo; 155-C, verde blanco
FNC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1-uno	
FDC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1-uniforme	
FE	9	1	9	1	9	1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9	9	9	1	1	1	1	1-ausente, 9-presente	
VBVSI																								9	1-ausente, 9-presente	
VBCS																								3	1-blanco, 2- amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura	
FC	7	7	7	5	7	5	6	7	5	5	6	3	8	8	8	7	7	7	9	9	6	8	6	5	1-blanco, 2-blanco amarillento, 3- verde amarillento, 4-verde, 5-amarillo, 6-anaranjado, 7-rosa, 8-rojo, 9-púrpura	

Flor ligulada exterior: nivel del ápice en relación con la punta del involucro (FNA); Flor ligulada exterior: forma (FF); Flor ligulada exterior: eje longitudinal (FEL); Flor ligulada exterior: forma del ápice (FFA); Flor ligulada exterior: profundidad de las incisiones (FPI); Flor ligulada exterior: tendencia a forma pétalos libres (FPL); Flor ligulada exterior: color del lado interno (FCI); Flor ligulada exterior: número de colores (FCN); Variedades de un solo color únicamente: Flor ligulada exterior únicamente: distribución del color (FDC). Flor ligulada exterior: presencia de estrías (FE); Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior (FC).

En relación a la forma de la flor el 58 % obovada estrecha y el 42 % elíptica estrecha. Respecto al eje longitudinal, el 42 % es recto y moderadamente hacia arriba para ambos casos, el 12 % fue moderadamente curvado hacia abajo y solo el híbrido Bob fue hacia abajo. En cuanto a la tendencia de las flores a formar pétalos libres, el 46 % la manifestó y en el 54 % fue ausente.

En los caracteres número de colores y distribución del color, en el 100 % de los híbridos se manifestaron un solo color y distribución uniforme. El 71 % manifestó la presencia de estrías y el 29 % no las presentó. Según Reisdörfer (2006) los consumidores prefieren capítulos de un solo color, aunque es importante tener como complementos inflorescencias bicolors. Para el color principal del lado exterior de la flor el 33 % fue de color rojo, el 17 % para los colores anaranjado y rojo; el color amarillo se manifestó en el 21 % de los híbridos, el 8 % fue púrpura y el 4 % verde amarillento. No se manifestaron los colores blanco, blanco amarillento ni verde.

7.1.5. Disco

En color de disco el 50 % fue oscuro y el otro 50 % verde. Esta es una característica muy atractiva cuando un consumidor adquiere las inflorescencias, en el mercado sobre todo las de flor blanca, prefiere un disco de color verde, no así para las de color rojo que prefiere que tengan un disco de color negro (Prajapati, et al., 2014). En los híbridos de tipo sencillo solamente se evaluó el color principal de los lóbulos del perianto, de los cinco resultantes el 60 % fue de color amarillo, y el 20 % rosa y anaranjado respetivamente.

Cuadro 14. Moda en cuatro caracteres cualitativos en disco observados en 24 híbridos de Gerbera.

CARACTER	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR	Descripción
DO	9	1	1	9	1	9	9	1	9	1	1	1	9	9	9	9	1	1	9	9	9	1	1	1	1-ausente, 9-presente
DCF	-	4	-	2	-	-	2	-	-	2	3	2	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	1-blanco, 2-amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura, 7-marrón
DCPL	45-C	.	47-C	.	65-D	3-A	.	56-C	21-A	.	.	157-C	44-B	26-A	53-A	47-C	48-C	55-C	64-C	61-C	43-A	45-4	N74	28-A	CARTA DE COLORES
DCFB	4	4	4	2	4	2	2	4	2	2	3	2	5	5	5	4	4	4	6	6	4	5	4	2	1-blanco, 2-amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura, 7-marrón

Variedades sencillas o dobles solamente: Disco: Oscuro (antes de abrirse las florecillas del disco (DO); Variedades Sencillas solamente: florecillas del disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto (DCF); Variedades semidobles y dobles únicamente: Florecillas del disco de la hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto (DCPL); Disco: color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales (DCFB).

En los híbridos de tipo sencillo solamente se evaluó el color principal de los lóbulos del perianto, de los cinco resultante el 60 % fue de color amarillo, y el 20 % rosa y anaranjado respetivamente. El color principal de los lóbulos del perianto de la florecillas bisexuales el 42 % fue de color rosa, el 29 % amarillo, el 17 % rojo, el 8 % púrpura y el 4 % anaranjado; no se manifestaron los colores blanco y marrón (Cuadro 16).

7.1.6. Pistilo

Para el pistilo se evaluó un carácter referente al color principal de la parte distal, resultando que el 46 % fue de color amarillo, el 38 % rosa, el 8 % blanco y anaranjado para ambos casos, no se manifestaron en el pistilo los colores rojo,

púrpura y marrón (Cuadro 15). Bohming, 1985 indica que los pistilos entre más amarillos sean, serán más atractivos para los agentes polinizadores.

Cuadro 15. Moda en 1 carácter cualitativo en pistilo observado en 24 híbridos de Gerbera.

CARACTER	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR	Descripción
PCP	4	2	4	2	4	2	2	4	2	2	3	1	2	4	2	4	4	2	1	2	4	2	4	3	1-blanco, 2-amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura, 7-marrón

(PISCP) Pistilo: color principal de la parte distal

7.1.7. Anteras

En el cuadro 16 se presentan los resultados para los tres caracteres evaluados en la anteras, se encontró que 46 % de las anteras presentaron un color anaranjado, el 29 % fueron de color amarillo, el 16 % fueron rosas y solo el 4 % fueron púrpuras y rojo; ninguna de ellas presento el color marrón. Referente al color en el extremo de las anteras en relación con las demás partes el 50 % de ellas presentó el mismo color que en toda la antera, el 33 % fue más oscuro y el 16 % fue más claro.

Cuadro 16. Moda en tres caracteres cualitativos de las anteras observados en 24 híbridos de Gerbera.

CARACTER	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR	Descripción
ACP	3	3	3	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	4	5	2	2	1	2	2	2	1	1	3	1-amarillo, 2-anaranjado, 3-rosa, 4-rojo, 5-púrpura, 6- marrón
ACE	3	2	2	3	3	2	2	2	3	1	1	2	2	3	2	2	2	2	3	3	1	3	1	2	1-más claro, 2-el mismo, 3-más oscuro
ARL	1	1	1	1	1	1	9	1	1	1	1	1	1	9	9	1	9	9	9	9	1	1	1	1	9-presencia, 1-ausencia

Anteras: color principal (ANTCP); Anteras: color de extremo en relación con las demás partes (ANTLE); Anteras: rayas longitudinales (ANTRL).

En cuanto a la presencia de rayas longitudinales en la antera, el 71 % no las presentó y el 29 % las presentó.

7.1.8. Estigma

En el cuadro 17 se observa la media de los resultados obtenidos en el estigma, se evaluó el color principal, del que el 42 % fue amarillo; el 25 % rosa, el 16 % blanco y el 4 % para los colores anaranjado, rojo, púrpura y marrón. El estigma es un carácter que ayuda a la polinización natural, los colores amarillos son más atractivos para los insectos, por lo que los híbridos generados en este experimento tienen altas posibilidades de ser polinizados (Anastassopoulos y Keil, 1996).

Cuadro 17. Moda en un carácter cualitativo en los estigmas observados en 24 híbridos mexicanos de Gerbera.

CARACTER	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR	Descripción
ECP	4	2	4	2	2	2	2	4	6	2	3	1	2	4	7	1	2	2	2	2	5	4	1	1	1-blanco, 2-amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura, 7-marrón

Estigma: color principal (ESTCP).

7.1.9. Papús

En el cuadro 18 se presentan los resultados para el carácter papús. Para el caso de los híbridos de gerbera evaluados se registraron dos caracteres, el primero se refiere al color del extremo en relación con las demás partes y se encontró que el 54 % presenta el mismo color, el 33 % tiene el color más oscuro en la parte superior y el 12 % fue más claro. En cuanto al nivel de los extremos en relación con las florecillas del disco cerradas se encontró el 50 % debajo del nivel y 50 % sobre el mismo nivel.

Soroa, 2005 menciona que este carácter define la profundidad a la que están anclados los frutos y esta asegura la maduración del fruto antes de la dispersión.

Cuadro 18. Moda en dos caracteres cualitativos en papús observados en 24 híbridos de Gerbera.

CARACTER	TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT	VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR	Descripción
PCE	3	2	2	2	2	2	3	3	3	1	1	2	2	2	2	3	1	2	3	3	3	2	2	2	1-más claro, 2-el mismo, 3-más oscuro
PNE	2	2	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1	2	2	2	1	1	2	1	2	2	2	2	1-debajo, 2 mismo nivel

Papús: Color del extremo en relación con las demás partes (PCE); Papús: nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas (PNE).

7.2. Análisis estadístico

Comparación de medias

En el cuadro 19 se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las nueve variables cuantitativas (Cuadro 2). El índice promedio entre valores extremos (menor/ mayor) de las nueve variables fue de 0.6, lo que indicó un rango de variación de casi el doble del valor del híbrido de menor registro hasta el de mayor en cada variable. Las variables con mayor grado de variabilidad relativa de acuerdo a su coeficiente de variación fueron AH, DI, DC, LP, AF y AI. Resultados similares con variación significativa en largo, ancho y área de hoja, así como longitud de pedúnculo en gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) han sido reportados para valoración de cultivo en maceta (Das, et al., 2012).

Cuadro 19. Comparación de medias para nueve caracteres cuantitativos observados en 24 híbridos de Gerbera.

Híbrido	LH	AH	LP	DC	DI	AI	LF	AF	DD
RAF	42.70a**	14.68abcdef	56.37 abcd	11.23bcdefg	3.59 bcdefg	2.01fghi	3.60de	1.64ef	2.69cde
VAL	43.06a	17.90ef	63.04cd	12.00abcdefg	3.62 bcdefg	1.66 cde	5.23gh	1.26cd	3.51h
MEL	43.85ab	13.51ab	55.40abc	11.87abcd	3.26abc	2.44jk	4.53f	1.31cd	1.81b
ANE	44.20abc	13.00a	48.25 a**	11.56a	3.19ab	1.51 cde	4.62f	0.65 a *	3.51h
NAN	44.84abcd	15.09abcdef	61.97 bcd	11.96 defg	4.08defgh	1.51abc	2.58a	1.32cd	3.15f
MAT	44.99abcd	12.79a**	65.37d**	9.78ab	3.29 abc	1.95cde	3.46cd	1.22c	1.72b
REF	46.57abcde	13.69abc	63.07 bcd	11.39 cdefg	3.44hdefg	1.66cde	4.87fg	1.27cd	2.78de
NAT	47.16bcde	13.35a	54.37ab	10.90abc	2.41abcd	2.32ijk	4.60f	1.35cd	1.82b
TAY	47.39bcde	14.27abcde	56.79 abcd	11.99efg	4.19fgh	1.65 cde	5.43h	1.26cd	1.68b
BOR	47.85cde	18.39f**	61.88bcd	11.53 defg	3.83 cdefgh	1.97efgh	3.05bc	1.76f**	3.38gh
SOL	47.86cde	14.23abcde	57.11 abcd	11.41abcde	4.24gh	1.71 cdef	4.43f	1.40cd	3.53h
IME	47.76cde	14.09abcd	55.94abcd	11.47 cdefg	4.28gh	1.31ab	3.47cde	1.26 cd	2.60cde
LIS	48.02cde	15.97 abcdef	60.65 bcd	12.25abcd	3.50abcdef	1.96efgh	3.39cd	1.63f	2.50c
BOB	48.38de	14.84 abcdef	57.59 abcd	9.51 a**	3.31 abc	2.46k**	2.58a	1.28cd	3.48h
MAR	48.55def	14.56def	57.93 abcd	10.75abcdef	3.49abcdef	1.83cdefg	4.59f	1.73k	2.51c
LIL	48.80def	13.23a	56.32abcd	10.51defg	4.45h**	1.61bcd	4.49f	1.24c	1.42 a *
FER	49.10efg	15.11 abcdef	61.30 bcd	11.93 cdefg	3.80cdefgh	1.90 cde	3.93e	1.46de	2.81e
KAR	49.15efg	15.66 abcdef	58.67bcd	12.08fg	4.19fgh	2.13ghij	2.67ab	1.63ef	3.54h**
MON	52.46fgh	17.17bcdef	62.89 bcd	11.38cdefg	3.47abcde	1.26 a *	4.84fg	1.23c	3.20fg
CAR	52.81gh	13.83abc	59.08 bcd	10.74abcdef	2.82**a	2.35jk	5.19gh	0.78ab	2.50c
MAG	53.18h	17.38cdef	64.47cd	11.95 defg	3.58bcdefg	1.65cde	3.64de	1.34cd	2.62cde
FAB	53.79h	13.28a	63.25 bcd	11.26bcdefg	4.12efgh	2.26hijk	3.47cde	1.37cd	3.24fg
ANA	55.14h	18.37f	60.20 bcd	12.38g	3.61 bcdefg	2.40jk	6.17i**	1.68f	2.51c
MOR	56.15h**	18.0f	62.63 bcd	12.46g**	4.26gh	1.79cdef	2.57 a**	0.88b	2.57cd
CV	5.04	14.95	10.11	8.81	11.51	10.67	7.03	10.09	5.05
p	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

HL = Longitud de hoja, HA = Ancho de hoja, PL = Longitud de pedúnculo, CD = Diámetro de capítulo, ID = Diámetro de involucre, IA = Altura del involucre, FL = Longitud de la flor ligulada, FA = Ancho de la flor ligulada, DD = Diámetro de Disco, CV= coeficiente de variación, p= probabilidad Tukey <0.01, ** valores altamente significativos, * valores significativos.

7.2.1. Taxonomía numérica

El análisis de correlación entre variables (Cuadro 3), destacó asociaciones significativas entre variables de importancia agronómica, como el diámetro del capítulo, el cual se correlacionó positiva y significativamente con el ancho de la hoja ($r= 0.54$, $P \leq 0.01$) y con la longitud del pedúnculo ($r=0.47$, $P \leq 0.05$); así como también el largo y ancho de la hoja se correlacionaron positivamente, con efecto directo en la superficie foliar (variable no medida), la cual de acuerdo con Magar *et al.*, (2010) incrementa el rendimiento por planta. Contrariamente, el diámetro y altura del

involucro se correlacionaron significativamente ($r = -0.43$, $P \leq 0.05$) y de manera negativa.

Cuadro 20. Matriz de correlación de Pearson con 12 variables cuantitativas de híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

	LH	AH	LP	DC	DI	AI	LF	AF	DD
LH	1.00								
AH	0.40*	1.00							
LP	0.37	0.47*	1.00						
DC	0.19	0.54**	0.10	1.00					
DI	0.17	0.19	0.17	0.34	1.00				
AI	0.14	-0.08	-0.05	-0.21	-0.43*	1.00			
LF	0.02	-0.06	-0.21	0.09	-0.31	-0.01	1.00		
AF	-0.07	0.31	0.23	0.13	0.18	0.23	-0.12	1.00	
DD	0.02	0.36	0.09	0.16	0.14	0.13	-0.29	0.05	1.00

LH= Longitud de hoja, AH= Ancho de hoja, LP= Longitud de pedúnculo, DC= Diámetro de capítulo, DI= Diámetro de involucro, AI= Altura del involucro, LF= Longitud de la flor ligulada, AF= Ancho de la flor ligulada, DD= Diámetro de Disco. * = $P \leq 0.05$, ** = $P \leq 0.01$.

De acuerdo con los resultados anteriores, MOR es el híbrido de mayor potencial comercial al presentar el mayor diámetro de capítulo y entre los mejores para ancho y largo de hoja y longitud de pedúnculo, variables estrechamente asociadas con el área foliar y diámetro del capítulo (Magar *et al.*, 2010). También resultan sobresalientes VAL, LIS, MON, MAG y ANA, los cuales presentan los mayores valores de ancho de hoja, diámetro de capítulo y longitud de pedúnculo; éste último carácter, de acuerdo con Hermans *et al.*, (2006), garantiza una mayor durabilidad después de la cosecha y es uno de los caracteres que los consumidores consideran al adquirir una flor cortada. Sin embargo, otros autores (Hansen, 2006; Shwetha *et al.*, 2014) indican que los tallos florales con pedúnculos superiores a 60 cm sufren la curvatura del mismo, al igual que aquellos cultivares que tienen inflorescencias excesivamente densas y con más peso que favorecen la curvatura del pedúnculo e incluso su rompimiento. En contraste a los híbridos anteriores, ANE fue significativamente inferior para largo de pedúnculo, lo mismo para el carácter ancho

de flor ligulada, que lo posicionan como un híbrido potencial para cultivo en maceta (Zheng *et al.*, 2004; Das, *et al.*, 2012).

La gama de colores del capítulo entre híbridos, conferidos por la parte interior de las flores liguladas exteriores, se amplió de seis presentes en los progenitores seleccionados (Rivera-Colín, 2019) a 23 diferentes tonalidades en los híbridos F_1 (Cuadro 1). Mientras que, en tipo de capítulo, cuando los progenitores mostraron solo tipo semidoble, los descendientes F_1 exhibieron indistintamente los tres tipos, sencillo, semidoble y doble (Cuadro 1). Esta diversidad del tipo de capítulo en los híbridos, amplía las alternativas a las demandas del mercado, al incluso ofrecer ejemplares dobles (IME, ANE Y MAR) los cuales son considerados de mayor atracción por los compradores (Das *et al.*, 2012). Referente al color del disco, éste fue indistintamente verde o negro en todos los descendientes, carácter que de acuerdo a Kloos *et al.*, (2005), es controlado por un gen mayor con dominancia para el color negro.

De 42 descriptores cualitativos propuestos por la UPOV (2002), se excluyeron siete, cinco correspondieron a descriptores para capítulos bicolor en las flores liguladas exteriores y que fueron ausentes en progenitores y descendencia F_1 de la presente investigación y otros dos correspondieron a caracteres presentes en progenitores y descendencia F_1 , pero sin variación (un solo color con distribución uniforme en las flores liguladas exteriores). De 203 categorías en los 35 descriptores cualitativos, se observaron 132 en los híbridos F_1 (Cuadro 4), que en razón de proporcionalidad (observadas/ registradas), representó el 65 % de la variación total registrada por UPOV (2002).

Cuadro 21. Descriptores cualitativos y sus categorías presentes en diferentes estructuras de la planta de híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

Estructura	Descriptor	Cd	Ce	Moda	
Limbo de la hoja	Abullonado	5	4	Ausente	
	Pubescencia en el haz	5	4	Media	
	Profundidad de las incisiones en el tercio central	3	3	Media	
	Color verde del haz	3	3	Media	
	Forma del ápice	5	5	Moderadamente agudo	
Pedúnculo	Intensidad de la pigmentación antociánica en la base	5	4	Fuerte	
	Pigmentación antociánica en la punta	2	2	Ausente	
	Brácteas debajo del involucre	2	2	Ausente	
Capítulo	Tipo	3	3	Semidoble	
	Diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo (variedades semidobles o dobles únicamente)	3	3	Grande	
	Borde de la masa de las flores liguladas interiores	2	2	Irregular	
	Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores	2	2	En contacto	
	Pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	2	2	Ausente	
	Intensidad de la pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	3	2	Débil	
	Nivel del ápice en relación con la punta del involucre	3	3	Mismo nivel	
Flor ligulada exterior	Forma	2	2	Abobada estrecha	
	Eje longitudinal	5	4	Moderadamente curvada hacia abajo	
	Eje longitudinal	3	3	Recto	
	Perfil en sección transversal de la parte mediana de la lígula	3	3	Recto	
	Forma del ápice	2	2	Redondeada	
	Profundidad de las incisiones	5	4	Media	
	Flor ligulada exterior: tendencia a formar largos pétalos libres	2	2	Ausente	
	Color del lado interno	73	24	Rojo	
	Presencia de estrías	2	2	Ausente	
	Color principal del lado exterior	9	6	Rosa	
	Disco del capítulo	Disco oscuro antes de abrirse las florecillas (variedades sencillas o semidobles)	2	2	Ausente y presente
		Variedades sencillas solamente: Color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas del disco de las hileras exteriores:	7	3	Amarillo
		Florecillas de disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto (variedades semidobles y dobles únicamente)	8	7	Rojo
Color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales		7	5	Rosa	
Pistilo	Color principal de la parte distal (estigma)	7	4	Amarillo	
	Color principal de las anteras	7	5	Anaranjado	
Estambre	Color del extremo de las anteras: en relación con las demás partes	3	3	El mismo	
	Rayas longitudinales en las anteras	2	2	Ausencia	
Papús	Color del extremo en relación con las demás partes	3	3	El mismo	
	Nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas	3	2	El mismo nivel	
Total	35	203	132		

Cd=Categorías del descriptor; Ce= Categorías encontradas

Análisis de agrupamiento

La matriz de similitud para análisis de agrupamiento presentó una correlación cofenética de 0.843, que de acuerdo con Benemann *et al.*, (2012) representa un alto grado de correspondencia entre las variables analizadas y certeza en los grupos formados. El fenograma con coeficiente de identidad promedio de 0.712 (línea de corte), organizó a los híbridos de acuerdo a su similitud fenotípica en cinco grupos (Figura 1). El primer grupo incluyó a MAT, ANA, NAT, MEL y BOB, cuyo distintivo principal es el capítulo semidoble y disco de color negro (a excepción de ANA, que es verde); el segundo grupo contuvo sólo a los híbridos CAR Y RAF, los cuales no manifestaron un distintivo común en el capítulo; el tercer grupo incluyó a VAL, LIS, REF, NAN, BOR Y MAG, con distintivos de disco en color verde (excepto REF) y de tipo de capítulo sencillo (excepto REF Y VAL); el cuarto grupo que fue el más numeroso concentró a IME, KAR, FAB, MON, FER, ANE Y MOR, los cuales no mostraron un distintivo común en color de la lígula exterior ni en tipo de capítulo ni color del disco. El último grupo (5), incluyó a MAR, SOL, LIL y TAY, caracterizados por tipo de capítulo semidoble, a excepción de MAR, que lo mostro doble.

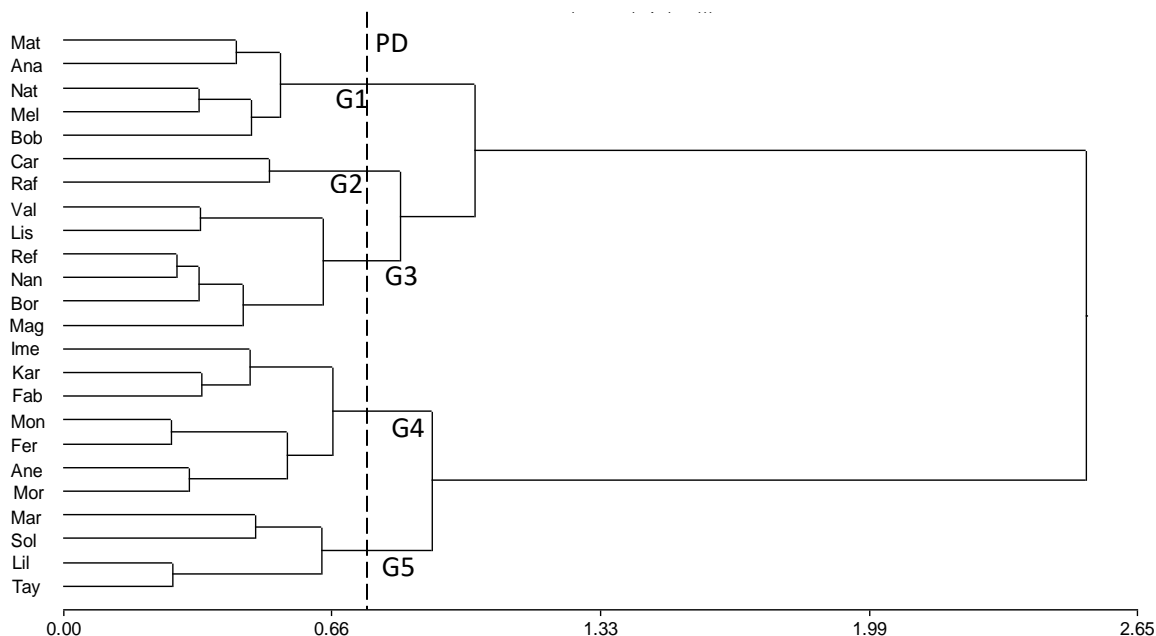


Figura 1. Análisis de agrupamiento de 24 híbridos F_1 de *Gerbera hybrida* con distancia promedio de disimilaridad (PD) de 0.712, calculados por el método de mínima varianza de Ward y distancia Gower. G= grupos (1, 2, 3, 4, 5).

El grupo cuatro con un valor de 0.66 fue el más distante, seguido estrechamente del grupo tres, ambos fueron los más numerosos. Contrariamente, el grupo con menor disimilitud fue el dos con una distancia aproximada de 0.5, aunque de forma individual, sus integrantes (CAR Y RAF) fueron los más distantes. De manera opuesta, REF, NAN, MON FER, LIL y TAY fueron los híbridos de menor disimilitud, con los valores más próximos a cero. Un estudio similar pero con diferentes cultivares y especies silvestres del género *Gerbera* (Benemann *et al.*, 2013), reportan disimilitudes de 0.0 a 0.5, lo cual sugiere una menor variación fenotípica respecto a los de la presente investigación, cuyos valores oscilaron de 0.5 a 0.66, aun cuando todos los individuos fueron de descendencia F_1 de cultivares comerciales sin ejemplares silvestres los cuales pudieran manifestar mayor divergencia genética de acuerdo con este análisis de agrupamiento multivariado.

Análisis de Componentes principales

Los tres primeros componentes principales (CP) explicaron el 66 % de la varianza total observada (Cuadro 5), donde al segundo componente la varianza acumulada fue de más del 50 %. En el CP1 las variables con mayor aportación de varianza fueron “tendencia a formar pétalos libres” y “borde de la masa de las flores liguladas interiores” (Cuadro 6); mientras que, para el CP2 fueron “diámetro del involucro” y “color principal del lado exterior de la flor ligulada exterior”; y para el CP3, las variables de mayor aporte fueron “largo del pedúnculo” y “tendencia a formar pétalos libres” (Cuadro 6). Los resultados indican que las variables asociadas a los descriptores del capítulo floral en los tres primeros componentes principales son las que mayor aporte hacen a la variación entre los híbridos evaluados.

Cuadro 22. Componentes principales de ocho variables morfológicas en 24 híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

Componente Principal	Valores propios (λ _p)	Proporción de la varianza total explicada (%)	
		Absoluta	Acumulada
1	2.91	36	36
2	1.32	17	53
3	1.05	13	66
4	0.71	9	75
5	0.63	8	83
6	0.58	7	90
7	0.46	6	96
8	0.33	4	100

Cuadro 23. Variables con mayor aporte en la varianza de los cuatro primeros componentes principales en híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

Caracteres	Componentes principales			
	1	2	3	4
Borde de la masa de las flores liguladas interiores	0.45	-0.17	-0.23	0.06
Forma de la flor	-0.39	-0.04	-0.03	0.68
Tendencia a forma pétalos libres	0.47	0.13	-0.27	0.04
Color principal del lado exterior (flor)	-0.33	0.54	-0.04	0.11
Largo de la hoja	0.39	-0.23	0.04	0.38
Largo de pedúnculo	0.12	-0.08	0.91	-0.09
Diámetro de capítulo	0.31	0.39	0.22	0.56
Diámetro de involucro	0.24	0.67	0.03	-0.25

Análisis discriminante

El análisis discriminante clasificó a los 24 híbridos en tres grupos (Figura 2), diferenciados principalmente por las variables largo y ancho de hoja y longitud del pedúnculo (Cuadro 2), las cuales afectan el tamaño de planta (Magar *et al.*, 2010). El grupo que incluye MEL, ANE y MAT, representa a híbridos de menor porte con valores bajos en largo y ancho de hoja y longitud del pedúnculo, de capítulos dobles y semidobles y de colores rojo oscuro a rosa (Cuadro 1). Otro grupo comprende a los híbridos TAY, MAG, RAF, BOR, REF, LIS, NAN, BOB, NAT, VAL, LIL, la mayoría de los cuales son de porte medio de acuerdo con los valores de largo y ancho de hoja y pedúnculo floral (Cuadro 2); éstos híbridos incluyeron colores desde blanco hasta rojo anaranjado, con tipo de disco simple y semidoble (Cuadro 1). El último grupo incluyó a los híbridos FAB, MOR, IME, SOL, FER, KAR, ANA, MON, KAR, MAR, los cuales representan a aquellos con plantas de mayor tamaño y de capítulos semidobles a dobles y de colores desde rosa hasta rojo claro. De acuerdo con lo

anterior, las variables cualitativas del capítulo floral estuvieron menos asociadas a la clasificación del análisis discriminante.

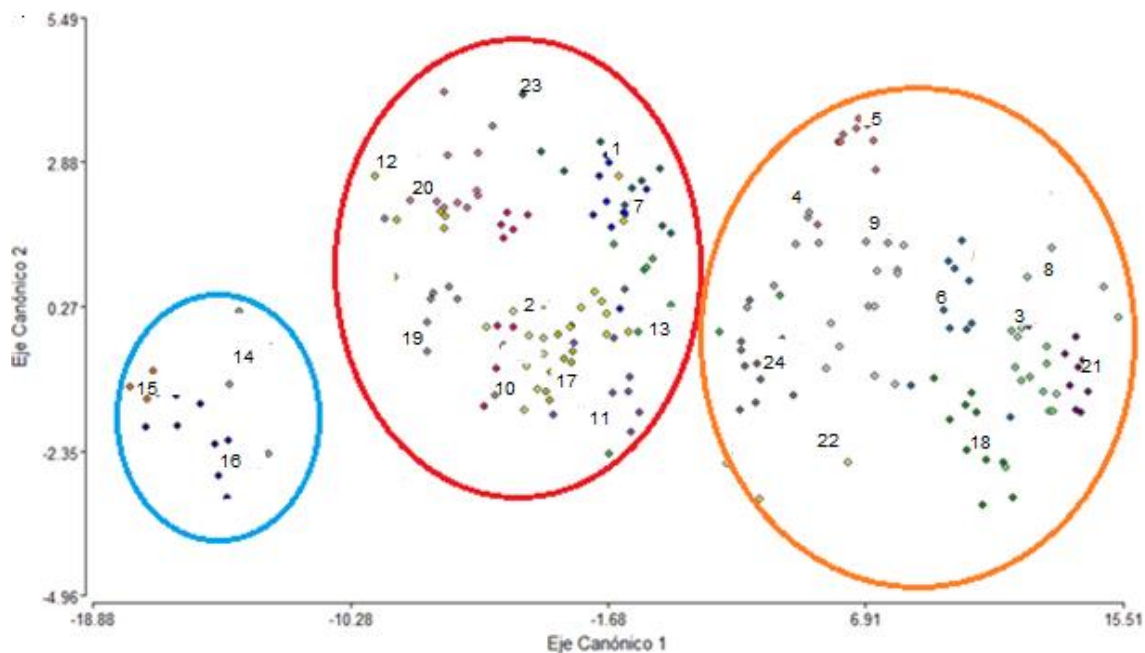


Figura 24. Análisis discriminante de 24 híbridos de *Gerbera hybrida* de acuerdo a ocho variables morfológicas. Híbridos: 1= TAY, 2= MAG, 3= MOR, 4= FAB, 5= IME, 6= SOL, 7= RAF, 8= FER, 9=KAR, 10= BOR, 11=LIS, 12=NAN, 13=BOB, 14=MEL, 15= ANE, 16= MAT, 17= VAL, 18= ANA, 19= NAT, 20= REF, 21= MON, 22= CAR, 23= LIL, 24= MAR.

7.3. Extracción de ADN

En la Figura 24 se muestra el ADN obtenido de 24 híbridos de gerbera en un gel agarosa al 1.5 %. La extracción del ADN en los híbridos de gerbera no presentó complicaciones durante las precipitaciones durante el proceso de extracción, ni problemas de viscosidad en el filtrado de las muestras, debido a que la gerbera no presenta altos contenidos de metabolitos secundarios (Agarwal et al, 2008).

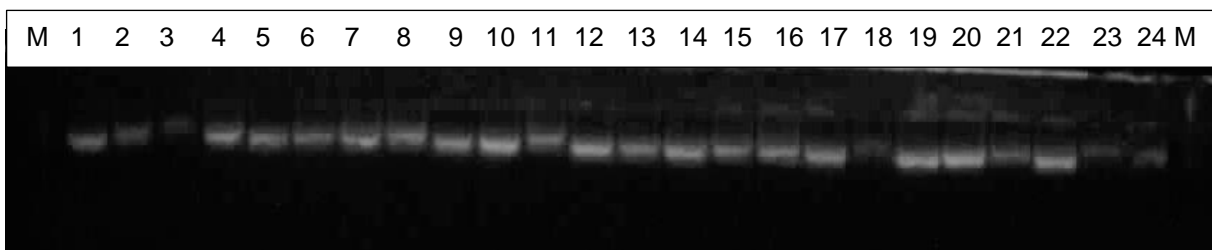


Figura 25. Electroforesis. Electroforesis en gel de agarosa con muestras de ADN extraído en 24 híbridos de gerbera y observado con luz UV en fotodocumentador.

7.4. Productos de amplificación para selección de cebadores RAPDs

En el cuadro 29 se aprecian los resultados del presente trabajo que muestran la diversidad de 24 genotipos de gerbera utilizando marcadores RAPD. Se presentan 11 de 40 primers evaluados: OPA1, OPA8, OPA10, OPA13, OPA17, OPA19, OPB1, OPB7, OPB10, OPB14 y OPB20, debido a que mostraron la mayor cantidad, consistencia y facilidad de observación de bandas en los gels. De los 24 híbridos evaluados con los 11 primers hubo 53 bandas polimórficas y 2 monomórficas; el porcentaje mínimo de polimorfismo fue de 66.66 % para los primers OPB-01 y OPB-14, y el porcentaje máximo fue de 100 para los primers: OPA-01, OPA-08, OPA-10, OPA-13, OPA-17, OPA-19, OPA-07, OPB-10 y OPB-20.

En el cuadro 27 se detallan los resultados obtenidos de la amplificación con diferentes cebadores RAPDs. El número de fragmentos polimórficos varió de 3 con los primers OPB-01, OPB-07, OPB-10 y OPB-14 hasta 9 con el primer OPA-08; se generaron 55 bandas diferentes con un promedio por cada primer de 5 fragmentos. El tamaño de los fragmentos amplificados varió desde 200 hasta 1100 pares de bases aproximadamente. Bhatia en 2010 obtuvo con 12 primers RAPD 4.5 bandas por cebador con valores de 2 (OPE-1) a 7(OPF-12). Otros estudios con RAPDs

también han logrado la caracterización de gerbera (Chung et al., 2001; Rezande et al., 2009).

Cuadro 26. Cebadores seleccionados y número de bandas generadas

Oligo	Secuencia (5' - 3')	Número total de bandas	Número de bandas monomórficas	Número de bandas polimórficas	Polimorfismo (%)
OPA-01	CAGGCCCTTC	6	0	6	100.00
OPA-08	GTGACGTAGG	9	0	9	100.00
OPA-10	GTGATCGCAG	6	0	6	100.00
OPA-13	CAGCACCCAC	5	0	5	100.00
OPA-17	GACCGCTTGT	4	0	4	100.00
OPA-19	CAAACGTCGG	8	0	8	100.00
OPB-01	GTTTCGCTCC	3	1	2	66.66
OPB-07	GGTGACGCAG	3	0	3	100.00
OPB-10	CTGCTGGGAC	3	0	3	100.00
OPB-14	TCCGCTCTGG	3	1	2	66.66
OPB-20	GGACCCTTAC	5	0	5	100.00
Total		55	2	53	-

El número total de bandas amplificadas (NTBA) encontrados en los 11 primers fue de 1257 y el cebador OPA-08 fue el que presentó el mayor número de bandas. Por el poder de resolución, el contenido de información y el Índice del marcador, los mejores cebadores fueron OPA-08, OPA-01, OPA-10 y OPA19, mientras que los que presentaron el menor número de bandas fueron OPB con 73 y OPB14 con 82. Los RAPDs analizados mostraron un valor de PIC superior a los 0.25 por lo tanto se consideran como altamente informativos para marcadores dominantes, de acuerdo con Laurentin y Karlovsky (2007); por lo que los 11 cebadores evaluados para gerbera se consideran altamente informativos. De acuerdo con los autores anteriores, valores entre 0.15 y 0.25 son suficientemente informativos, mientras que valores menores a 0.15 se consideran no informativos y no se presentó ninguno de éstos en este estudio. Lo anterior concuerda con lo que mencionan González et al.

(2016), lo que sugiere que estos valores demuestran la habilidad de los cebadores utilizados para diferenciar un genotipo de otro.

Cuadro 27. Detalles de amplificación obtenido con diferentes cebadores RAPD en diferentes híbridos de gerbera (*Gerbera x Híbrida*).

Cebador	NTBA	RP	PIC	MI
OPA-01	144	3	0.48	2.88
OPA-08	171	6.75	0.46	4.13
OPA-10	148	3	0.49	2.94
OPA-13	113	2.08	0.43	2.15
OPA-17	103	1.33	0.39	1.56
OPA-19	139	5.33	0.50	4.0
OPB-01	88	0.75	0.38	1.13
OPB-07	73	0.75	0.38	1.13
OPB-10	83	0.75	0.42	1.26
OPB-14	82	0.75	0.40	1.19
OPB-20	113	2.08	0.47	2.34
Total	1257			

NTBA= Número total de Bandas amplificadas, RP=Poder de resolución, PIC=Contenido de información polimórfica, MI=Índice del Marcador.

De todos los cebadores RAPD empleados, el cebador OPA-08 obtuvo los valores más elevados de NTBA, RP y MÍ, salvo el PIC que fue de 46, pero aun así está dentro de los más elevados.

De forma general hubo muy buena correspondencia entre los valores NTBA, RP, PIC y MI por cada cebador, esto facilita la elección de un cebador o un grupo de cebadores para estudios futuros. Por lo que se concluye que de los 11 cebadores evaluados los mejores para estudios futuros son OPA-08 y OPA 19.

Los datos de amplificación de RAPDs se usaron para obtener la matriz de identidad genética y la distancia genética para los genotipos de gerbera (cuadro 29).

Cuadro 26. Matriz de identidad genética (arriba de la diagonal) y distancia genética (debajo de la diagonal) de Nei (1978) para genotipos de *gerbera hybrida*.

Var	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	-	0.40	0.55	0.54	0.58	0.68	0.53	0.60	0.57	0.50	0.55	0.59	0.65	0.64	0.60	0.81	0.56	0.70	0.83	0.73	0.76	0.75	0.70	0.72
2	0.40	-	0.33	0.35	0.48	0.54	0.43	0.43	0.44	0.56	0.44	0.46	0.65	0.64	0.56	0.73	0.62	0.63	0.80	0.73	0.65	0.79	0.71	0.61
3	0.55	0.33	-	0.31	0.54	0.41	0.55	0.52	0.35	0.43	0.44	0.39	0.72	0.71	0.66	0.69	0.69	0.62	0.90	0.88	0.72	0.67	0.63	0.68
4	0.54	0.35	0.31	-	0.36	0.46	0.47	0.51	0.34	0.42	0.39	0.41	0.67	0.59	0.69	0.68	0.76	0.81	0.99	0.93	0.76	0.91	0.70	0.67
5	0.58	0.48	0.54	0.36	-	0.50	0.42	0.49	0.43	0.53	0.63	0.55	0.77	0.76	0.63	0.70	0.70	0.79	1.09	0.70	0.82	0.94	0.83	0.82
6	0.68	0.54	0.41	0.46	0.50	-	0.37	0.55	0.43	0.52	0.44	0.42	0.75	0.74	0.52	0.85	0.72	0.73	0.98	0.77	0.67	0.82	0.70	0.67
7	0.53	0.43	0.55	0.47	0.42	0.37	-	0.41	0.37	0.44	0.48	0.50	0.52	0.64	0.57	0.77	0.56	0.63	0.88	0.86	0.61	0.75	0.70	0.72
8	0.60	0.43	0.52	0.51	0.49	0.55	0.41	-	0.34	0.48	0.56	0.53	0.62	0.68	0.67	0.70	0.70	0.64	0.81	0.83	0.62	0.80	0.68	0.77
9	0.57	0.44	0.35	0.34	0.43	0.43	0.37	0.34	-	0.26	0.34	0.48	0.60	0.53	0.58	0.47	0.57	0.55	0.73	0.71	0.63	0.89	0.61	0.78
10	0.50	0.56	0.43	0.42	0.53	0.52	0.44	0.48	0.26	-	0.30	0.50	0.63	0.65	0.65	0.71	0.64	0.65	0.82	1.01	0.74	0.90	0.65	0.79
11	0.55	0.44	0.44	0.39	0.63	0.44	0.48	0.56	0.34	0.30	-	0.45	0.47	0.53	0.52	0.70	0.51	0.56	0.77	0.96	0.57	0.76	0.64	0.78
12	0.59	0.46	0.39	0.41	0.55	0.42	0.50	0.53	0.48	0.50	0.45	-	0.43	0.49	0.40	0.62	0.56	0.60	0.75	0.86	0.68	0.71	0.70	0.65
13	0.65	0.65	0.72	0.67	0.77	0.75	0.52	0.62	0.60	0.63	0.47	0.43	-	0.30	0.50	0.48	0.43	0.56	0.74	0.90	0.54	0.78	0.65	0.71
14	0.64	0.64	0.71	0.59	0.76	0.74	0.64	0.68	0.53	0.65	0.53	0.49	0.30	-	0.36	0.34	0.41	0.44	0.59	0.66	0.50	0.56	0.57	0.59
15	0.60	0.56	0.66	0.69	0.63	0.52	0.57	0.67	0.58	0.65	0.52	0.40	0.50	0.36	-	0.50	0.32	0.52	0.65	0.58	0.52	0.53	0.52	0.52
16	0.81	0.73	0.69	0.68	0.70	0.85	0.77	0.70	0.47	0.71	0.70	0.62	0.48	0.34	0.50	-	0.43	0.70	0.60	0.57	0.61	0.71	0.63	0.72
17	0.56	0.62	0.69	0.76	0.70	0.72	0.56	0.70	0.57	0.64	0.51	0.56	0.43	0.41	0.32	0.43	-	0.42	0.60	0.57	0.48	0.61	0.48	0.48
18	0.70	0.63	0.62	0.81	0.79	0.73	0.63	0.64	0.55	0.65	0.56	0.60	0.56	0.44	0.52	0.70	0.42	-	0.54	0.78	0.46	0.62	0.49	0.77
19	0.83	0.80	0.90	0.99	1.09	0.98	0.88	0.81	0.73	0.82	0.77	0.75	0.74	0.59	0.65	0.60	0.60	0.54	-	0.63	0.63	0.55	0.65	0.83
20	0.73	0.73	0.88	0.93	0.70	0.77	0.86	0.83	0.71	1.01	0.96	0.86	0.90	0.66	0.58	0.57	0.57	0.78	0.63	-	0.77	0.63	0.77	0.60
21	0.76	0.65	0.72	0.76	0.82	0.67	0.61	0.62	0.63	0.74	0.57	0.68	0.54	0.50	0.52	0.61	0.48	0.46	0.63	0.77	-	0.44	0.43	0.50
22	0.75	0.79	0.67	0.91	0.94	0.82	0.75	0.80	0.89	0.90	0.76	0.71	0.78	0.56	0.53	0.71	0.61	0.62	0.55	0.63	0.44	-	0.43	0.56
23	0.70	0.71	0.63	0.70	0.83	0.70	0.70	0.68	0.61	0.65	0.64	0.70	0.65	0.57	0.52	0.63	0.48	0.49	0.65	0.77	0.43	0.43	-	0.47
24	0.72	0.61	0.68	0.67	0.82	0.67	0.72	0.77	0.78	0.79	0.78	0.65	0.71	0.59	0.52	0.72	0.48	0.77	0.83	0.60	0.50	0.56	0.47	-

Los resultados de esta matriz indican mayor identidad genética entre los valores que se acercan más a uno (Panwar, Singh, Sonah y Deshmekh, 2015) por lo valores que se muestran en el cuadro 29, lo híbridos más con mayor identidad genética entre todos los híbridos son: MON de color rojo centro negro, KAR de color amarillo centro negro, MAT de color negro, disco muy grande y MEL de color vino y flor sencilla y al mismo tiempo presentan la mayor distancia genética entre todos los híbridos

Dendrograma

El dendrograma fue obtenido con el método Nei Li/Dice, usando como datos la amplificación de RAPD (Figura 28,29).

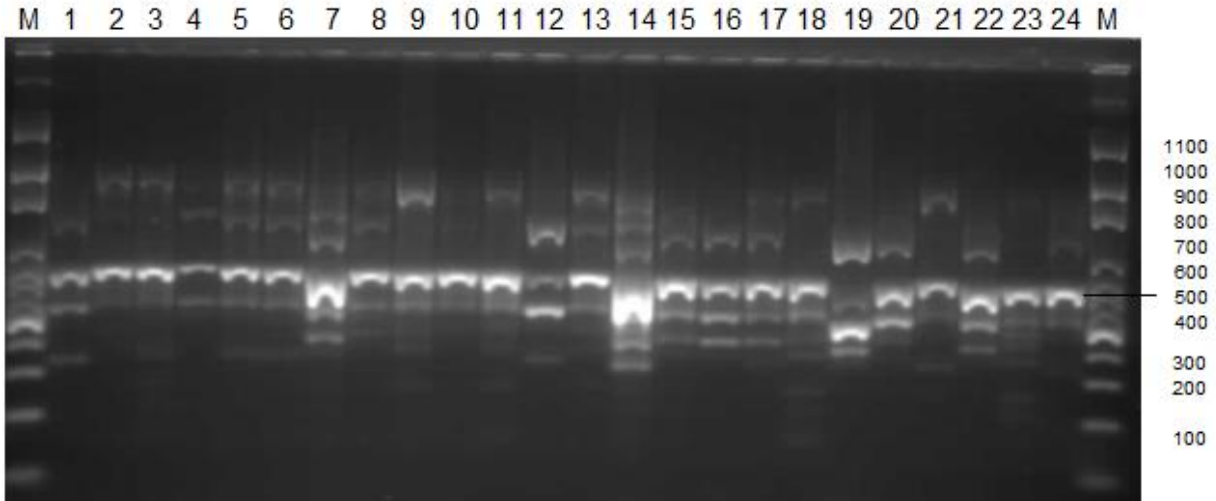


Figura 24. Perfil electroforético de ADN de hoja de 24 híbridos de gerbera (*Gerbera hybrida*) con el cebador OPA-19 (RAPD).

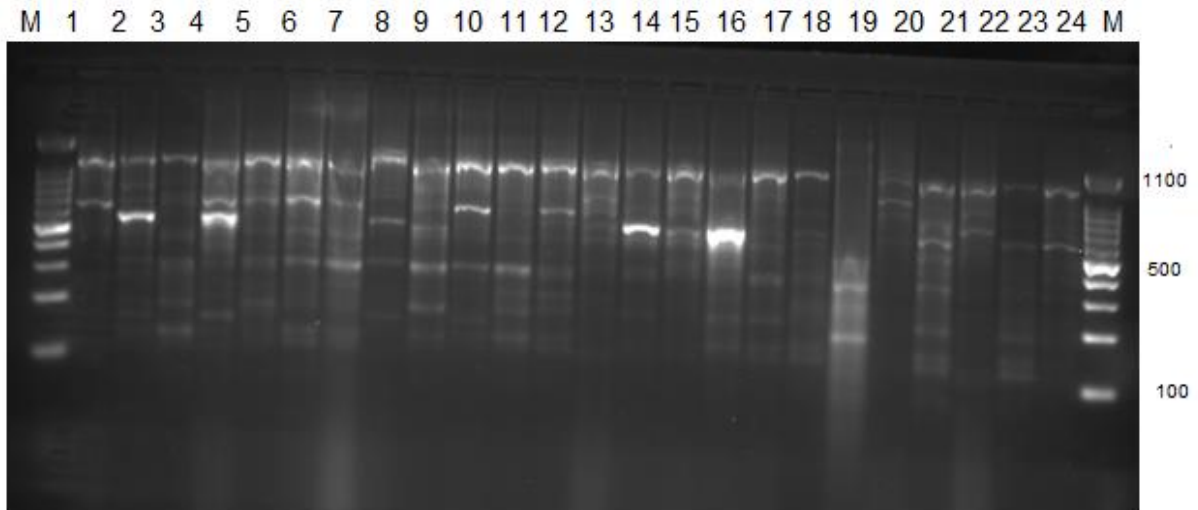


Figura 25. Perfil electroforético de ADN de hoja de 24 híbridos de gerbera (*Gerbera hybrida*) con el cebador OPA-8 (RAPD).

En el dendrograma se formaron 8 grupos de gerberas. El grupo 1 está formado por cinco híbridos (VAL, MON, MOR, MAG y TAY) de capítulos dobles y semidobles de color rosa. El grupo 2 está formado de 4 híbridos en colores fiusha y rosa (NAT, REF,

ANE, e IME). El grupo 3 está integrado de 2 híbridos LIL y ANA. En el grupo 4 está el híbrido CAR que se caracteriza por ser el único en color rojo y color de disco verde. El grupo 5 está integrado por 3 híbridos (FER, FAB y RAF) se caracteriza por presentar color amarillos y disco negro. En el grupo 6 está el híbrido SOL que presenta un color amarillo claro y disco negro. Los híbridos BOR y MAR integran el grupo 7. El grupo 8 está formado por los híbridos LIS, BOB Y NAN y se caracterizan por presentar disco verde y ser capítulo sencillo; y finalmente en el grupo 9 está MAT, MEL y KAR que tiene disco en color negro, tipo semidoble, en color amarillo, rojo y vino. El coeficiente de parentesco varió de 0.45 observado en REF hasta 0.85 asociado a VAL.

El árbol generado representa las relaciones genéticas existentes entre todos los híbridos, este método permitió la agrupación de acuerdo a la distancia genética entre cada uno. La razón de que haya tantos grupos significa que cada uno de los híbridos es diferente uno de otro.

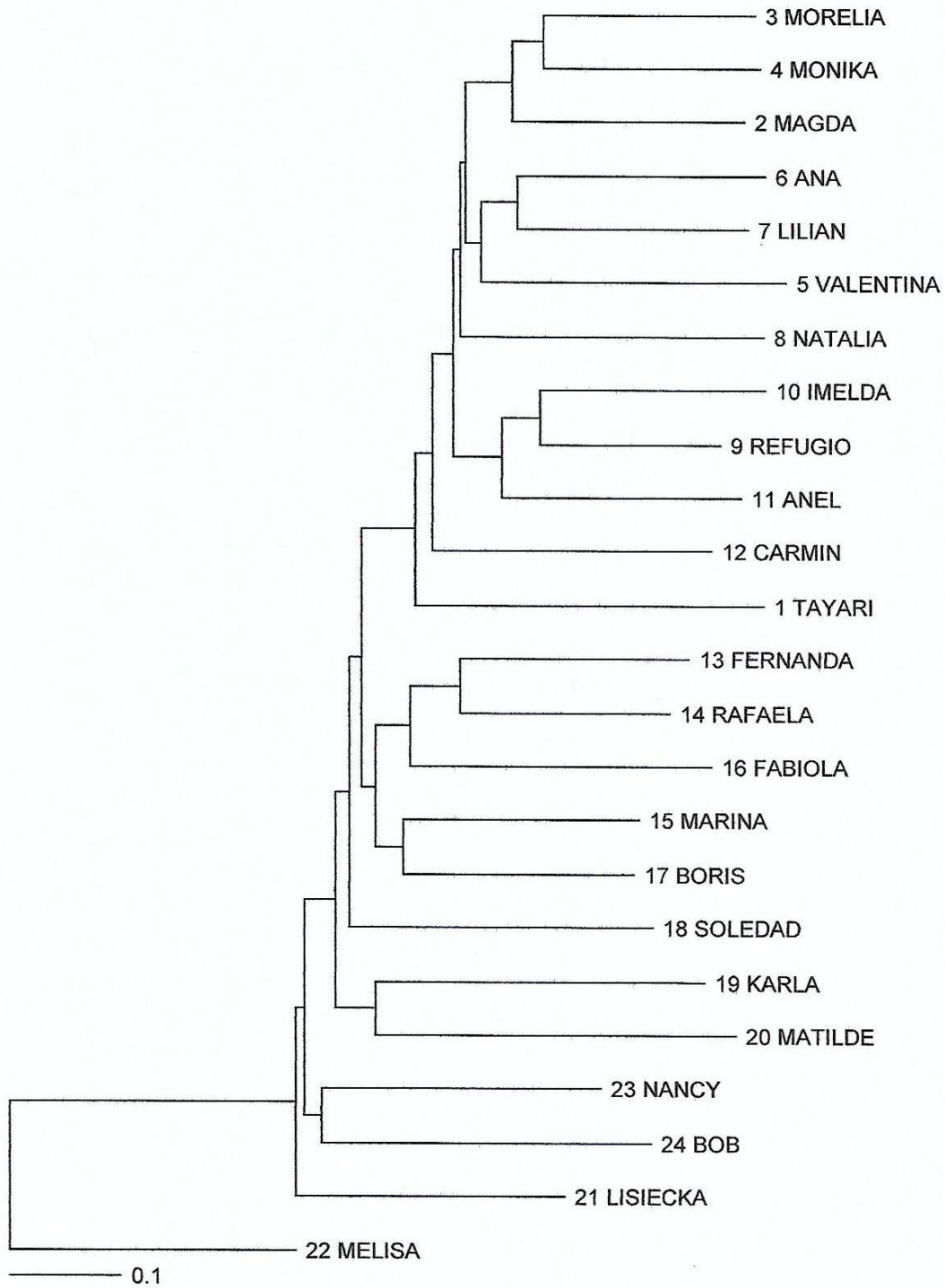


Figura 26. Dendrograma de Gerbera obtenido con el método Nei Li/Dice.

7.7. Repetibilidad de las reacciones PCR

Entre las técnicas moleculares, las correspondientes a marcadores RAPDs son de las más rápidas y operativamente simples para la caracterización de cultivares (Lee, Yae y Kim, 2005). Sin embargo, la confiabilidad de sus resultados radica, en gran parte, en la optimización previa de variables que pueden afectar los patrones de amplificación. Se verificó la repetitividad de marcadores RAPDs de gerbera bajo diferentes condiciones experimentales. Entre ellas, la pureza del ADN, el tipo de Taq ADN-polimerasa, las concentraciones de Mg²⁺ y dNTPs, sin que hubiera modificaciones en el conteo final de bandas. Resultados similares los reporta Cavagnaro y Masuello (2003) en olivo *olea europaea*. En las pruebas realizadas en 24 muestras de híbridos de gerbera se observaron ligeras diferencias en la intensidad de los fragmentos, que no afectaron el conteo final. Los fragmentos polimórficos fueron estables a través de las reacciones de prueba.

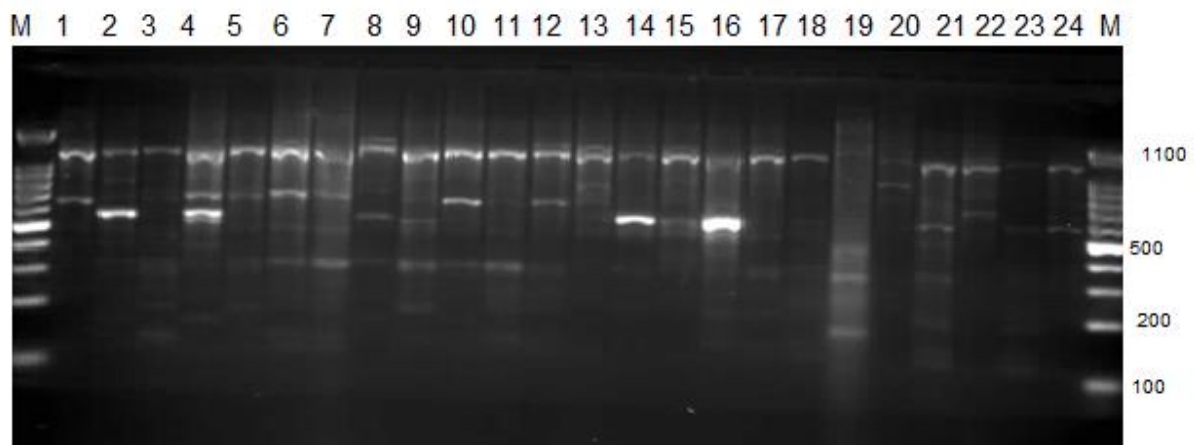


Figura 27. Productos de PCR con el marcador RAPD OPA-8 en 24 híbridos de gerbera. (Prueba 1)

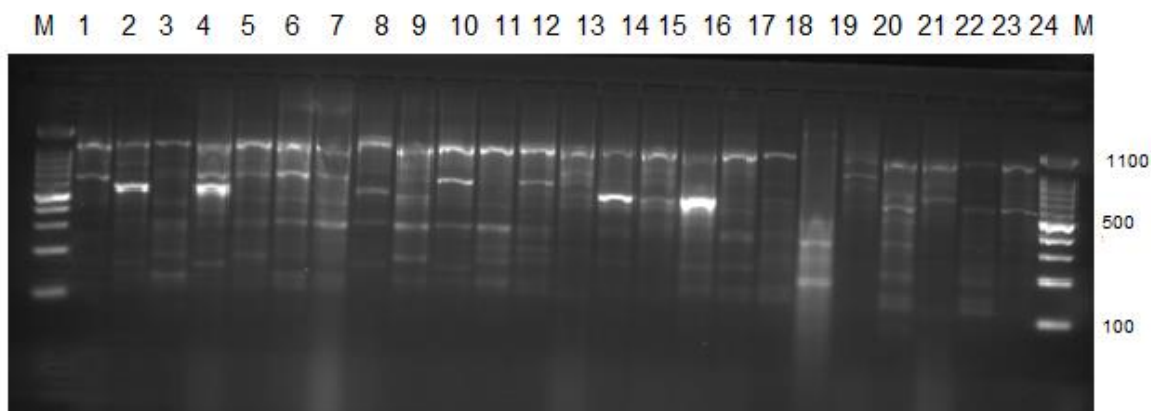


Figura 28. Perfil de RAPD (OPA 8) generados en un termociclador utilizando 24 híbridos de gerbera (prueba de repetibilidad)

Desde el punto de vista de la utilidad de un marcador molecular, es sumamente importante que sea repetible en las condiciones experimentales establecidas para el mismo, debido a la gran cantidad de factores involucrados en las reacciones de PCR de RAPDs como lo son la temperatura y el tiempo (Wilches, 2014)

7.8. Identificación de híbridos verdaderos

En la figura 31 se presentan los resultados obtenidos con cuatro marcadores RAPDs para la identificación de híbridos verdaderos y sus progenitores. Los cebadores que se utilizaron fueron: OPB1, OPA10, OPA19 Y OPB10. Cada cebador generó una banda de ADN polimórfico que estaba presente en el progenitor masculino y ausente en el progenitor femenino. Como las bandas RAPD normalmente se heredan como caracteres dominantes, la presencia de estas bandas en las plantas F1 confirmó su estado (Hamada y Hagimori, 1996; Langridge y Chalmers, 2004).

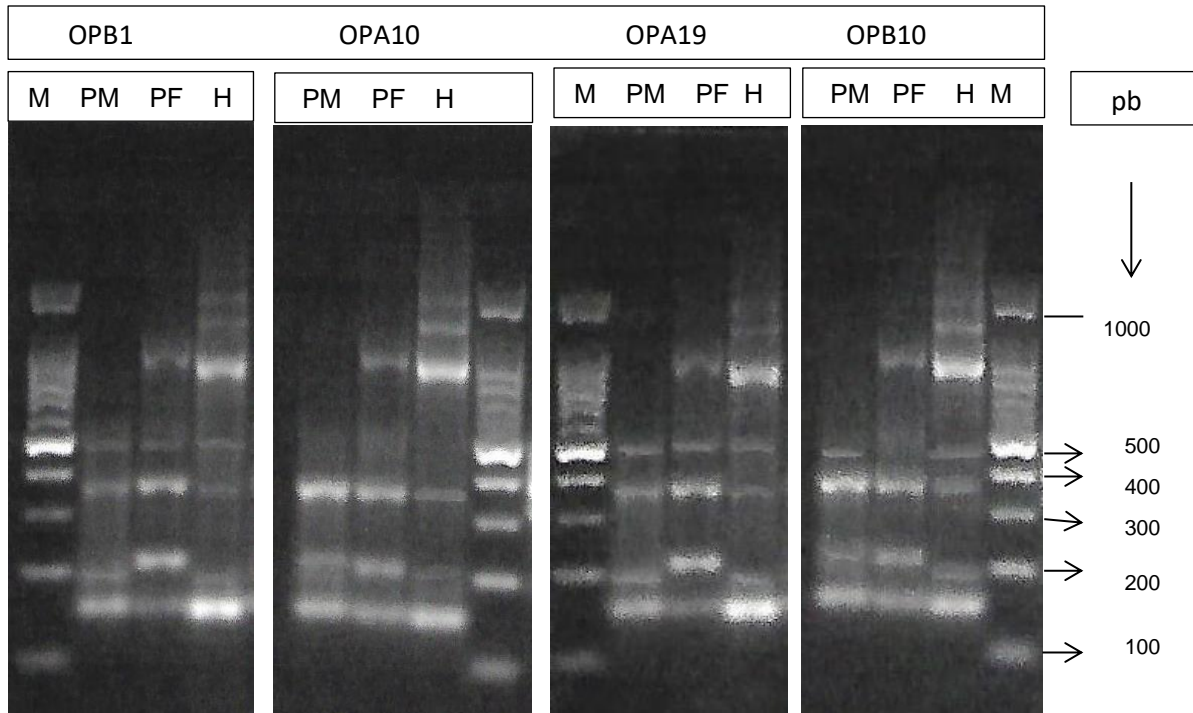


Figura 29. Identificación de híbridos verdaderos

Los RAPDs para identificar plantas híbridas han sido de uso común, como en híbridos de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y soya (*Glycine max*) derivadas de cruces entre progenitores estrechamente relacionados, sin diferencias fenotípicas aparentes (Vidal-Barahona et al., 2006). De igual manera los cebadores OP-F12 y OP-O3 se usaron para identificar híbridos verdaderos derivados de cruces entre los cultivares de frijol común, Ruda (*Ruta graveolens*) y los cultivares de soya Cristalina y Bossier, respectivamente (Vidal-Barahona et al., 2006). Cada cebador generó una banda de ADN polimórfico que estaba presente en el progenitor masculino y ausente en el progenitor femenino.

VIII. CONCLUSIONES

Los híbridos exhibieron el 65 % de la variación total de los descriptores de la UPOV para esta especie, con una amplia variación respecto a sus progenitores en el color interno de la lígula exterior, así como presencia de los tres tipos de capítulo (sencillo, semidoble y doble) y sus dos colores en disco (negro y verde). Las variables cuantitativas exhibieron el doble de variación promedio entre sus valores extremos. El diámetro del capítulo, largo y ancho de hoja y longitud del pedúnculo se correlacionaron positivamente, que en análisis discriminante influyeron en la agrupación de los híbridos. Los híbridos en fenograma se agruparon en cinco categorías con distancias de 0.3 a 0.66 que indicaron variación genética entre los híbridos. Los tres primeros componentes explicaron el 66 % de la varianza total, con variables de mayor aporte asociadas al capítulo floral. Los diferentes análisis permitieron identificar híbridos con alto potencial comercial, así como sus propósitos de uso.

Los marcadores RAPDs caracterizaron los 24 híbridos de gerbera indicando que todas son genéticamente diferentes. Los mejores cebadores fueron OPA-8 y OPA 19. Los grupos de individuos en dendrograma muestran que son producto de hibridaciones de progenitores en común practicadas a lo largo del tiempo.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Adhikari, S., Saha, S., Bandyopadhyay, T. K., and Ghosh, P. (2015).** Efficiency of ISSR marker for characterization of Cymbopogon germplasms and their suitability in molecular barcoding. *Plant. Syst. Evol.*, 301, 439–450. Doi.org/10.1007/s00606-014-1084-y.
- Agarwal, M; Shrivastava, N; Padh, H. (2008).** Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Reports* 27: 617-631. Doi: 10.1007/s00299-008-0507-z.
- Anastassopoulos, E.; Keil, M. (1996).** Assessment of natural and induced genetic variation in *Alstroemeria* using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, v.90, p.235-244. Doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.
- Aswath, C. (1998).** Dry storage as an aid in selection for longevity in gerbera. *Journal of Ornamental Horticulture New Series*, vol. 1, no. 2, p. 55-60. 17.
- Arif, I.A., Bakir, M.A., Khan, H.A., Al Farhan, A.H., Al Homaridan, A.A., Bankali, A.H., Shobrak, M. (2010).** A Brief Review of Molecular Techniques to Assess Plant Diversity. Molecular Fingerprinting and Biodiversity Unit, Prince Sultan Research Chair for Environment and Wildlife, College of Sciences, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia. *Int. J. Mol. Sci.* **2010**, 11(5), 2079-2096; Doi.org/10.3390/ijms11052079.
- Baird, K. E., V. A. Funk, J. Wen y A. Weeks. (2010).** Molecular phylogenetic analysis of *Leibnitzia* Cass. (Asteraceae: Mutisieae. *Gerbera*-complex), an Asian-North American disjunct genus. *Journal of Systematics and Evolution* 48(3): 161-174. doi: doi.org/10.1111/j.1759-6831.2010.00077.x
- Benemann, D. P., Machado, L. N., Arge, L. W. P., Bianchi, V. J., Oliveira, A. C., Maia, L. C., & Peters, J. A. (2012).** Identification, characterization and validation of SSR markers from the gerbera EST database. *Plant Omics Journal*, 5(2), 159-166. doi:10.5539/jas.v5n5p35.
- Bennetzen, J., Buckler, E., Chandler, V., Doebley, J., Dorweiler, J., Gaut, B., Freeling, M., Hake, S., Kellog, E., Poethig, R.S., Walbot V., and S. Wessler. (2001).** Genetic evidence and the origin of maize. *Latin American Antiquity*, 12:84-86. Doi: 1.1007/bf02871713.
- Benin, G. (2003).** Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.33, p.657-662. Doi: 10.1590/S0103-84782003000400011.
- Bhatia, R., Singh, K.P., Jhang T., Sharma, T.R. (2009).** Assessment of clonal fidelity of micropropagated gerbera plants by ISSR markers. *Scientia Horticulturae* 119: 208-211. Doi:10.1016/j.scienta.2008.07.024.

- Bhatia, R., Singh, K.P., Jhang T., Sharma, T.R. (2010).** Evaluation of the genetic fidelity of in vitro-propagated gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) using DNA-based markers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 104(1), 131-135. Doi: 10.1007/s11240-010-9806-5.
- Blair, M.W., Panaud, O. and Mc Couch, S.R. (1999).** Inter-simple sequence repeat amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.) *Theoretical Applied Genetics* 98: 780-792. doi.org/10.1007/s001220051.
- Borém, A.; Miranda, G.V. (2005).** Melhoramento de Plantas. 4 ed. Viçosa: UFV, 525p.
- Bortolini, F. (2006).** Caracterização morfológica e agrônômica e divergência genética em germoplasma de trevo-branco. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n. 4, p. 1601-1610. doi.org/10.1590/S1516-35982006000600005.
- Bohming, C. (1985).** Influencia de la fertilización inorgánica de turba alta sobre la germinación y la calidad de plántulas de gerbera. *Anuales de la Academia de Agricultura, Polonia*. Vol. 49.
- Brammer, S.P.; Milach, S.C.K. (2002).** Marcadores Moleculares em Plantas. In: Brammer, S.P.; Iorczeski, E.J.(Org.) *Atualização em Técnicas Celulares e Moleculares aplicadas ao Melhoramento Genético Vegetal*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p. 167-182.
- Burt, R.L.; Williams, R.J.; Williams, W.T. (1980).** Observation, description and classification of plant collections. In: Clements, R. J.; Cameron, D.G., ed. *Collecting and testing tropical forage plants*. Melbourne: CSIRO, p. 40-51.
- Cardoso, R. D. L., Scheffer-Basso, S. M., & Grando, M. F. (2012).** Genetic divergence in gerbera based on morphological markers. *Revista Brasileira de Biociências*, 5, 462-464. doi:10.5539/jas.v5n5p35.
- Canul K, J., Ramírez, P., Castillo, G. F., Chávez, S, (2005).** Diversidad morfológica de calabaza cultivada en el centro-oriente de Yucatán, México *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 28, núm. 4, octubre-diciembre, 2005, pp. 339-349 *Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México*.
- Cavagnaro, P. F.; Masuelli R.W. (2003).** Optimización de la técnica RAPD para identificación CV de OLIVO. Dpto. de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Agrarias. UNCuyo. Alte. Brown N° 500. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. M5528AHB. ccea@fca.uncu.edu.ar *Rev. FCA UNCuyo*. Tomo XXXV. N° 1. Año 2003. 107-117.
- Charters, Y.M. and Wilkinson, M.J. (2000).** The use of self-pollinated progenies as 'in-groups' for the genetic characterization of cocoa germplasm. *Theor Appl Genet* 100: 160-166. Doi: [10.1007/PL00002903](https://doi.org/10.1007/PL00002903).
- Chen, Z.H; Han W.L. (2016).** Morphological, physiological and biochemical responses of gerbera cultivars to heat stress. *Horticultural Science and Technology*. Vol. 14. Doi: 10.12972/kjhst.20160018.

- Chung, Y.M., Kim H: A., Park S. W., Yu Y. B., Lee J. H. and Chang O.K. (2001)** Morphological characteristics and genetic variation of gerbera (*Gerbera hybrida* hort.). J. Plant Biotechnol. 3: 145-149. Doi: org/105010/JPB.2016.43.2.255.
- Chung, Y. M., Hwang, J. C., Yi, Y. B., Kim, J. B. and Kwon, O. C., (2004a).** A new red gerbera cultivar with high yield for cut flower Honey Moon. Korean J. Breeding, 36 (2): 107-108.
- Chung, Y. M., Hwang, J. C., Yi, Y. B., Kim, J. B. and Kwon, O. C., (2004b).** A new pink gerbera cultivar with strong peduncle and high yield for cut flower 'Pink Angel'. Korean J. Breeding, 36 (2): 109-110.
- Codd, L.E. (1979).** The story of the Barberton Daisy, gerbera jamesinii. Veld and flora. December 114-115.
- Colour Chard RHS. (2012).** RHS (Royal Horticultural Society). *Royal Horticultural Society Color Chart*, London.
- Cubero, J. I. (2003).** Introducción a la mejora genética vegetal. Mundi-Prensa Libros. ISBN 8484760995, 9788484760993. 565 pp.
- Cunha, C.P.; Pinheiro, J.B. (2005). Caracterização morfo-agronômica de acessos** filipinos de arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 51, 2005, Águas de Lindóia. Anais... São Paulo: SBG, p. 542.
- Crisci, J. V. y López, M. F. (1983).** Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Secretaría General de la OEA, Programa de Desarrollo Científico y Tecnológico, Wahington, D.C., USA. 133 p.
- Cruz, C.D. (2006).** Aplicação de algumas técnicas multivariadas nomelhoramento de plantas. Tese (Doutorado). Escola Superior deAgricultura Luis de Queiroz-ESALQ, Piracicaba.
- Cruz, C.D. & Regazzi, A.J. (1994).** Modelos biométricos aplicados aomelhoramento genético. Viçosa: UFV.
- Da-Mata, T.L.; Segeren, M.I.; Fonseca, A.S.; Colombo, C.A. (2009).** Genetic divergence among gerbera accessions evaluated by RAPD. Sci. Hort. 121, 92–96. Doi: 10.1016/j.scienta.2009.01.026.
- Deyue, Y. (1999).** Organ identy genes and modified patterns od flower development in gerbera híbrida (Asteraceae). Plant Journal. Vol. 17, No. 1. Pp 51-63.
- Debener, T, Bartels C, Mattiesh L (1996).** RAPD analysis of genetic variation between a group of rose cultivars and selected wild rose species. Mol. Breed. 2:321-327. Doi: 10.1007/978-94-017-0956-9_17.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada, y Robledo C.W. (2016).** InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- Doyle, J. J. and Doyle J. L. (1990).** A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12:13-15.
- Edwards, K.J., Mogg, R. (2001).** Plant genotyping by analysis of single nucleotide polymorphisms. In *Planta Genotyping: The DNA Fingerprinting of Plants*, edited by Henry, R. J. CABI Publishing, Wallingford, UK, Pp 1-13.
- Edwards, J.; McCouch S. (2007).** Cap. 3. Molecular markers for use in plant molecular breeding and germplasm evaluation. En: *Marker-Assisted Selection. Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*. FAO. Guimarães, Ruane, Scherf, Sonnino y Dargie Eds. ISBN 978-92- 5-105717-9.
- Escandón, A.S. (2010).** Biotecnología en el Cultivo de Especies Ornamentales. En: Echenique, V.; Rubinstein, C. Y Mroginsky, L. eds. *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal*. INTA, Buenos Aires, Argentina, pp.: 257-256.
- Escandón, A. S., Pérez de la Torre, M., Acevedo, A., Marcucci-Poltri, S., & Miyajima, I. (2005b).** Anchored ISSR as molecular marker to characterize accessions of *Jacaranda mimosifolia* L. Don. Proceedings of Vth on New Flor. Crops. ISHS. A.F.C. Tombolato & G: M. Dias-Tagliacozzo eds. *Acta Horticulturae* 683. pp. 121-127.
- FAO. (2010).** Marcadores moleculares: una herramienta para explorar la diversidad genética. En B. Rischkowsky y D. Pilling (Eds.), *La situación de los recursos zoogenéticos mundiales para la alimentación y la agricultura* (pp. 393-416). Roma: Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/011/a1250s/a1250s00.htm>.
- Fernández, M.E., Figueras, A.M., and Benito, C. (2002).** The use of ISSR and RAP markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. *Theor. Appl. Genet.* 104: 845-851.
- Ferreira, M.E.; Grattapaglia, G. (1995).** Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. Brasília : EMBRAPA CENARGEN.
- Franco, M.C.; Cassini, S.T.A.; Oliveira, V.R.; Tsai, S.M. (2001)** Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 2, p. 381-385.
- Franco, T. L. e Hidalgo, R. 2003.** Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- Gaweł, M, Wiśniewska I, Rafalski A. (2002).** Semi-specific PCR for the evaluation of diversity among cultivars of wheat and triticale. *Cellular and Molecular Biology Letters.* 7(2):577–582.
- González, C. C. F., Lozano M. E. L., Cruz, M. C. A., Ochoa, E. I., y Morillo, C. Y. (2016).** Caracterización molecular de palma de aceite *Elaeis guineensis* Jacq., procedente de diferentes orígenes (Zaire y Camerún) usando marcadores microsátélites, *Acta*

Agronómica, 65(3), Recuperado de
https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/rt/prinFRIENDLY/48413/56907.

- Handa, T., Kita, K., Wongsawad, P., Kurashige, Y. and Yukawa, T., (2006).** Molecular phylogeny- assisted breeding of ornamentals. *J. Crop Improvement*, 17 (1/2): 33-34. 14.
- Hansen, H.V. (1985).** A taxonomic revision of the genus *Gerbera* (Compositae, Mutisieae) sections *Gerbera*, *Parva*, *Piloselloides* (in Africa), and *Lasiopus*. *Opera Bot*; v. 78, 1-34. doi.org/10.1111/j.1756-1051.1985.tb01675.
- Hansen, H.V. (2006).** Comments on the ***Gerbera***-complex (Asteraceae: Mutisieae). *SIDA Contributions to Botany*, 22 (2006), pp. 539-543. jstor.org/stable/41968606.
- Hamada, K, Hagimori M. (1996).** RAPD-based method for cultivar-identification of calla lily (*Zantedeschia* spp.) *Scientia Horticulturae*. 65(2-3):215–218.
- Hernández, J. A. y Miranda, S. (2008).** Caracterización morfológica de chíá (*Salvia hispanica*). *Rev. Fitotec. Mex.* 31(2):105-113.
- Hermans, C., Hammond, J. P., White, P. J., & Verbruggen, N. (2006).** How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science*, 11, 610-617.
- Hidalgo, R. (1991).** CIAT's World Phaseolus collection. En: Van Schoonhoven, A. y Voysest, O. (eds.). *Common beans: Research for crop improvement*. CIAT, Cali, Colombia. P. 163-178.
- Hind, D.J.N. (2007).** Compositae: II. Tribe Mutisieae. J.W. Kadereit, C. Jeffrey (Eds.), *The Families and Genera of Vascular Plants VIII Flowering Plants. Eudicots: Asterales*, Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 90-123.
- Horn, W., Wricke, G. and Weber, W. E., (1974).** Genotypic and environmental effects on characters expression in *Gerbera jamesonii*. *Gartenbauwissenschaft*, 39 (3): 289-300.
- INFOAGRO. (2016).** El cultivo de la gerbera. Disponible en: <www.infoagro.com>. Acceso en 16 de marzo del 2017.
- Johnson, I. (2002).** *Gerbera jamesonii* Adlam; Disponible en <http://www.plantzafrica.com/plantefg/gerberajames.htm> Acceso 13 febrero 2016. doi.org/10.11646/phytotaxa.186.4.7.
- Jorasch, P. 2004.** Intellectual Property Rights in the Field of Molecular Marker Analysis. En: *Biotechnology in Agriculture and Forestry 55. Molecular Marker Systems in Plant Breeding and Crop Improvement. Section IV.1*. Springer-Verlag. ISSN 0934-943X. ISBN 3-540-20689-2.

- Katinas, L., (2004).** The Gerbera-complex (Asteraceae, Mutisieae): To split or not to split. SIDA, Contributions to Botany, pp. 935–940. jstor.org/stable/41968349.
- Katinas L., Sancho, M.C. Terreria, J.V. (2009).** Mutisieae sensu stricto (Mutisioideae sensu stricto) Systematics, Evolution and Biogeography of Compositae, International Association for Plant Taxonomy, Vienna pp. 229-248.
- Kloos, W.E, George C.G,; Sorge L.K. (2005).** Inheritance of powdery mildew resistance and leaf macrohair density in *Gerbera hybrida*. Hortic. Sci. 40:1246-1251.
- Kloos, W.E.; George, C.G.; Sorge, L.K. (2005).** Dark disk color in the flower of *Gerbera hybrida* is determined by a dominant Gene, Dc. HortScience, v.40, n.7, p.1992-1994.
- Langridge, P. y Chalmers, K. (2004).** The Principle: Identification and Application of Molecular Markers. En: Biotechnology in Agriculture and Forestry 55. Molecular Marker Systems in Plant Breeding and Crop Improvement. Section 1. Basics. Springer-Verlag. ISSN 0934-943X. ISBN 3-540-20689-2.
- Laurentin, H., & Karlovsky, P. (2007).** AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: Identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters. Genetic Resources and Crop Evolution, 54(7), 1437–1446. <https://doi.org/10.1007/s10722-006-9128-y>.
- Laurentin, H. (2009).** Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. Genet Resour Crop Evol 56: 277-292. doi: 10.1007/s10722-008-9397-8.
- Lee, S.Y. Yae, B.W. Kim, K.S. (2005).** Segregation patterns of several morphological characters and RAPD markers in interspecific hybrids between *Dianthus giganteus* and *D. carthusianorum*. Sci. Hortic. 105:53-64. Doi: 10.1016/j.scienta.2005.01.023
- Leffring, L. 1973.** Flower production in gerbera; Correlation between shoot, leaf and flower formation in seedlings. Scientia Hort. 1:221-229. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(73\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0304-4238(73)90034-4).
- López, A.J: (1991).** Descripción sistemática y parámetros genéticos para características cualitativas y cuantitativas en la colección de batata *Ipomea batata* (L.) Lm. Del CATIE. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica. 128 p.
- Lynch, M., and Milligan, B.G. (1994).** Analysis of population genetic structure with RAPD markers. Molecular Ecology, 3, 91-99
- Lu, H.P.; Cai, Y.W.; Chen, X.Y.; Zhang, X.; Gu, Y.J.; Zhang, G.F. (2006).** High RAPD but no cpDNA sequence variation in the endemic and endangered plant, **Heptacodium miconioides** Rehd. (Caprifoliaceae). *Genetica* 128, 409–417. DOI 10.1007/s10709-006-7542-x.
- Luna-Martínez, F., Flores-Martínez, A., y Ponce-Noyola, P. (2003).** Caracterización molecular de aislados de *sclerotium cepivorum* mediante análisis de polimorfismo de los fragmentos amplificados al azar. Elementos, 49(1), 53. Recuperado de <http://www.elementos.buap.mx/num49/hm/53.htm>.

- Oszkinis, K. y Lisiecka, A. (1990).** Gerbera. Traducción del ruso por Leszczyńska y Boris. Ed. EDAMEX, 248 pp.
- Ortiz, S. Bonifacino, J.V. Cresci, V.A. Funk, H.V. Hansen, D.J. Nicholas Hind, L. Katinas, N. Roque, G. Sancho, A. Susanna, M.C. Telleria (2009).** The basal grade of Compositae: Mutisieae (sensu Cabrera) and Carduoideae. Systematics, Evolution and Biogeography of Compositae, International Association for Plant Taxonomy, Vienna. pp. 193-213.
- Maguire, G.R. (1992).** Reporting of objective color measurement. Hort Science 27: 1254-1255.
- Manning, J.C., Simka, B. Boatwright, J.S., Magee, A.R. (2016).** A revised taxonomy of Gerbera sect. Gerbera (Asteraceae: Mutisieae), South African Journal of Botany, Volume 104, Pages 142-157, ISSN 0254-6299, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.10.002>. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629916000041>).
- Mario, A. P., Linde, M. and Maroun, F. A., (2005).** Morphological and molecular characterization of Italian emmer wheat accessions. Euphytica, 146: 29-37. doi.org/10.1080/11263504.2011.582299.
- Márquez, S. F., (1985).** El mejoramiento genético. Pp. 1-5. Genotécnia vegetal Métodos teoría-Resultados. Tomo I. AGT EDITOR, S.A. D.F. México.
- Martin, L.J.G., Ron, P.J., Sánchez, G. Cruz, L., Morales, R. J.a., Carrera, V., Ortega, C. Vidal, M. y Guerrero, H. (2008).** Caracterización agronómica y morfológica de maíces nativos del Noroccidente de México. Revista Fitotecnia Mexicana 31 (4): 331-340.
- Mascarini, L. (2005).** Gerbera. Manejo del cultivo para flor de corte. Universidad de Buenos Aires.
- Mba, C.; Tohme, J. (2005).** Use of AFLP markers in surveys of plant diversity. Methods Enzymol. 395, 177–201. doi: 10.1016/S0076-6879(05)95012-X.
- Meletti, L.M.M.; Bernacci, L. C.; Soares-Scott, M.D.; Filho, J.A.; Martins, A.L.M. (2003).** Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*pasiflora alata* Curtis). Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal, v.25, n.2. doi.org/10.1590/S0100-29452003000200023.
- McCallum, C.M., Comai L., Greene E.A. & Henikoff S. (2003).** Targeting induced local lesions in genomes (TILLING) for plant functional genomics. Plant Physiol. 123:439-442. doi:10.1104/pp.123.2.439.
- Moreira, J.A.N.; Santos, J.W.; Oliveira, S.R.M. (1994).** Abordagens e metodologias para avaliação de germoplasma. Brasília: Embrapa, 1994. 115p.
- Mullis, K. B. (1990).** The unusual origin of the Polymerase Chain Reaction. Scientific American, 262(4), 56-65. Doi: 10.1038/scientificamerican0490-56.

- Murray, M., Thompson, W. F. (1980).** Nucleic acids research 8: 4321. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321.
- Muthusamy, S., Kanagarajan, S., and Ponnusamy, S. (2008).** Efficiency of RAPD and ISSR markers system in accessing genetic variation of rice bean (*Vigna umbellata*) landraces. Electronic Journal of Biotechnology Vol. 11 No. 3, Issue of July 15, 2008. ISSN: 0717-3458. DOI: 10.2225/vol11-issue3-fulltext-8.
- Nagaraju, V.; Srinivas, G.S.L.; Lakshmi sita, G. (1998).** Agrobacterium-mediated genetic transformation in *Gerbera hybrida*. Current Science, v. 74, n.7, p. 630-633.
- Nei, M., & Li, W. H. (1979).** Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 76(10), 5269–5273. 10.1073/pnas.76.10.5269.
- Nybom, H. May (2004).** Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology, vol. 13: 1143-1155. DOI: org/10.1111/j.1365-294X.2004.02141.x.
- Nuez F., (2000).** Introducción al análisis del ligamiento y cartografía de marcadores simples. En: Los Marcadores Genéticos en la Mejora Vegetal. (Nuez F. y Carrillo J.M., Eds). Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia. Valencia. pp: 153-293.
- Pasini, E., Funk, V.A., de Souza-Chies, T.T., Miotto, S.T.S. (2016).** New insights into the phylogeny and biogeography of the *Gerbera*-complex (Asteraceae: Mutisieae). Taxon 65, 547–562. Doi: 10.12705/653.7.
- Panwar, S., Singh, K., Sonah, H., Deshmekh, R. (2015).** Molecular fingerprinting and assessment of genetic diversity in rose (*Rosa x hybrida*) Indian J. Biotechnol., 14 (2015), pp. 518-524. Doi:10.3906/bot-1608-32.
- Pavlicek, A., Hrda, S., & Flegr, J. (1999).** FreeTree-freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. Folia Biologica, 45(3), 97–99. Retrieved from http://apps.isiknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=2&SID=3CncemegikaKEaCa1i8&page=29&doc=1422.
- Pedroza, S.M. (2001).** Crecimiento y nutrición de microplantas de gerbera inoculadas con HMA. Agrociencia, 2001, vol.35, No. 4, p. 149-158.
- Picca, A., Helguera, M., Salomón, N., y Carrera, A. (2004).** Marcadores Moleculares. En: Echenique, V., Rubinstein, C. y Mroginsky, L. (Eds.). Biotecnología y Mejoramiento Vegetal. INTA, Buenos Aires, Argentina, pp.: 61- 68.
- Pinto, R.J.B. (1995).** Introdução ao melhoramento genético de plantas. Maringá: Eduem.
- Prajapati, P.; Singh, A.; Patel, N.L.; Singh D. and Srivastav, V. (2014).** Evaluation of genetic diversity in different genotypes of *Gerbera jamesonii* Bolus using random

amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Academic Journals, 13(10), 1117-1122. DOI:10.5897/AJB2013.13347.

- Preesman, B. V. (2013).** Consultado: 9 -8- 2016]. Disponible en: <http://www.rosicom.youngplants.com>>. 16. Pavlíček, A., Hrdá, S., J. Flegr. 1999. FreeTree-freeeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. *Folia Biol-Prague*. 45: 97-99.
- Prevost, A., & Wilkinson, M. J. (1999).** A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(1), 107–112. <https://doi.org/10.1007/s001220051046>.
- Powell, W., Morgante, R., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., Rafalsky, A. (1996).** The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. - *Mol. Breed.* 2: 225-238.
- Reisdörfer, A. F. (2006).** Flores e plantas ornamentais: um mercado em expansão. Conselho em revista, Porto Alegre, v.23, p. 11-13.
- Rezende, R.K.S.; Paivai, L.V.; Paiva, R.; Chalfun, J. A.; Torga, P.P.; Masetto, T.E.; (2009).** Genetic divergence among cultivars of gerbera using RAPD markers. *Ciencia Rural* [online DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000176>]. 39:2435-2440.
- Rivera, C. A., Mejía, C. J., Vázquez, G. L.M., Urbina, S. E., y Ramírez, G. M.G. (2019).** Aptitud Combinatoria y heterosis en variedades de Gerbera (*Gerbera x híbrida*). *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 42 (2): 155 – 162.
- Rodríguez I, Barrera H. (2004).** La Reacción en Cadena de la Polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia UANL.* 7:323-35.
- Rohlf, F. J., (2000).** NTSYS-pc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.1. Exeter Software, Setauket, NY.
- Rojas, H. V., Uribe Cortés, T. B., Aguirre Rayo, J. M., Martínez González, C. R., & García Morales, S. (2015).** Extracción de DNA y amplificación de genes ribosomales, cloroplastos, mitocondriales y housekeeping (1a ed.). Texcoco, Estado de México: Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.
- Romano, E; Brasileiro, A.C.M. (2003).** Extração de DNA de plantas. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, v. 5, n. 29, p. 40- 43.
- Romano, E., Carneiro, V.T.C. (1998).** **Extração de DNA de tecidos vegetais** In: Brasileiro, A.C.M.; (Ed.). *Manual de transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapasp/Embrapa-Cenargen. p. 163-177.
- Romero,G.; Adeva, C.; Battad, Z. (2009).** Genetic fingerprinting: Advancing the frontiers of crop biology research. *Philipp. Sci. Lett.* 2, 8–13.

- Roskman, O. J. (2005).** Gerbera cultivation guide. Disponible en <http://www.pressman.com>.
- Ruiz, H. V., Legaría, S.J., Sahagún, C. J., & de la O Olan, M. (2018).** Variabilidad genética en algunas especies cultivadas y silvestres de amaranto. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 9(2), 405-416. doi.org/https://doi.org/10.29312/remexca.v9i2.1081.
- Rusinowski, Z.; Domeradzka, O. (2012).** Evaluation of the Utility of the Random Amplified Polymorphic DNA Method and of the Semi-Specific PCR to Assess the Genetic Diversification or the Gerbera jamesonii Bolus Lines. *The Scientific World Journal*. DOI: 10.1100/2012/450920.
- Sagarpa.http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/ORNAMENTAL.pdf.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987).** The Neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425. doi: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.
- Sehrawat, S.K.; Boora, K.S.; Kumar, R.; Dahiya, D.S. and Yadav, R. (2003).** DNA finger printing of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) using RAPD. *Acta Hort.* 624:479-485.
- SIAP (2018).** Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.
- Shiragur, M., (2009).** Characterization of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) germplasm through morphological and molecular markers. Ph. D. Thesis, Univ. Agric. Sci., Bangalore.
- Singh, D. R. and Srivastava, R. C. (2010),** Genetic diversity analysis among the indigenous orchids of Bay of Islands using RAPD markers. *J. Ornamental Hort.*, 13 (2): 142-145.
- Singh, N.; Lal, R.K.; Shasany, A.K. (2009).** Phenotypic and RAPD diversity among 80 germplasm accessions of the medicinal plant isabgol (*Plantago ovata*), Plantaginaceae. *Genet. Mol. Res.* 8, 1273–1284. doi: 10.4238/vol8-4gmr583.
- Silva-Rojas, H. V., Uribe-Cortés, T. B., Aguirre-Rayó, J. M., Martínez-González, C. R. y García-Morales, S. (2015).** Extracción de DNA y amplificación de genes ribosomales, cloroplastos, mitocondriales y housekeeping. México: Colegio de Postgraduados.
- Shimada, T., Hayam A, H., Haji, T., Yamaguchi, M., & Yoshida, M. (1999).** Genetic diversity of plums characterized by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Euphytica*, 109(3), 143-147.
- Smith, J.S.C.; Smith, O.S.; Bowen, S.L.; Tenborg, R.A.;Wall, S.L. (1990).** Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F1 grain yield, grain

yield, heterosis, and RFLPs. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 80, n. 6, p. 833-840.

Sobral, B.W.S. (1996). *The Impact of Plant Molecular Genetics*. Birkhauser. M.A., Estados Unidos.

Soster, M.T.B.; Scheffer-Basso, S.M.; Dall'agnol. (2004). Caracterização morfofisiológica de genótipos de cornichão (*Lotus corniculatus* L.). *R. Bras. Zootec.*, Viçosa, v. 33, n.6, nov.-dez.

Soroa, M. R. (2005). Revisión bibliográfica *Gerbera jamesonii* L. Bolus. *Cultivos tropicales*, vol. 26, No. 4. Pp 65-75 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba.

Sokal, R.R. and P. H. A. Sneath (1963). *Principles of numerical taxonomy* San Francisco & London, Freeman and Cía.

Souza, J. C., Menezes, A. C. P., Silva, A. F., Paz, C. D., & SÁ, P. G. (2005). Artificial hybridization and germination of gerbera (*Gerbera jamesonii*) seeds in the semi-arid biome. In *Brazilian Congress of Olericulture*, 45, *Brazilian Congress of floriculture and ornamental plants*, 15, *Braz. Cong. of tissue culture*, 2. Abstracts. Fortaleza: SBH (CD-ROM).

SNICS (2018). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera Producción de ornamentales en México. Sagarpa.

SNICS (2017). Servicio Nacional De Inspección y Certificación de semillas.

Stansfield, W. D. (1984). Genética cuantitativa. Pp. 233-258. In: Stansfield W., D. (Eds.). *Teoría y 500 problemas resueltos*. Mc Graw-Hill. D.F. México.

Spooner, DM.; Núñez, J.; Rodríguez, F.; Naik, PS. and Ghislain, M. (2005). Nuclear and chloroplast DNA reassessment of the origin of Indian potato varieties 73 and its implications for the origin of the early European potato. *Theoretical and Applied Genetics*. , vol. 110, n° 6, p. 1020–1026

Tatikonda, L.; Wani, S.P.; Kannan, S.; Beerelli, N.; Sreedevi, T.K.; Hoisington, D.A.; Devi, P.; Varshney, R.K. (2009). AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm collection of *Jatropha curcas* L.: A biofuel plant. *Plant Sci.* 176, 505–513. doi: 10.1016/j.plantsci.2009.01.006.

Teeru, T.H., Elomaa P. Kotilainen, M. Albert V.A., (2006). Mining plant diversity: *Gerbera* as a model system for plant developmental and biosynthetic research. *Bio Essays* 28:756-767. doi: 10.1002/bies.20439.

Tujkens, L.M.M., Schouten, (2009). *Modeling Quality Attributes and Quality Related Product Properties*. Pp. 483-512. Academic Press

UPOV (2002). Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la Estabilidad, *Gerbera* (Cass.) Unión Internacional para la Protección de las obtenciones vegetales. *Gibebra*. TG/77/9.

- UPOV (2017).** Unión Internacional Para la protección de las obtenciones vegetales. TC/38/14.
- Varshney, R. K., Chabane, K., Hendre, P. S., Aggarwal, R. K., and Graner, A. (2005).** Comparative assessment of EST-SSR, EST-SNP and AFLP markers for evaluation of genetic diversity and conservation of genetic resources using wild, cultivated and elite barleys. *Plant Science*, 173, 638-649. doi: 10.1016/j.plantsci.2007.08.010
- Vidal-Barahona A., L. C. Lagunes-Espinoza, E. Valadez M. y C. F. Ortiz-García (2006).** Variabilidad morfológica y molecular de cultivares criollos y mejorados de frijol común en Tabasco, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29:273-281.
- Wang, K., Kang, J., Zhou, H., Sun, Y., Yang, Q., Dong, J. y Meng, L. (2009).** Genetic diversity of *Iris lactea* var. *chinensis* germplasm detected by inter-simple sequence repeat (ISSR). *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (19), pp. 4856-4863. ISSN 1684–5315.
- Weising, K., Nybon, H., Wolff, K. and Kahl, G. (2005).** Applications of DNA Fingerprinting in Plant Sciences. In *DNA Fingerprinting in Plants. Principles, Methods and Applications* (2nd edition).
- Welsh, J. & McClelland, M. (1990).** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18:7213-7218. doi: 10.1093/nar/18.24.7213.
- Wilches, M. A. V. 2014.** Descripción de algunas herramientas moleculares y sus aplicaciones. Universidad Rafael Landívar Guatemala. Serial No. 15, página 1.
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, L.A. & Tingey S.D. (1990).** DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535. doi: 10.1093/nar/18.22.6531.
- Wills, R.B., McGlasson, D. Joyce, 2007.** Postharvest. An introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. UNSW Press-CABI. Sidney, Australia. 227 p. <https://trove.nla.gov.au/version/224610217>.
- Xu, X., Zheng, W., Funk, V.A., Wen, J., (2018).** Home at last II: *Gerbera hieracioides* (Kunth) Zardini (*Mutisieae, Asteraceae*) is really a *Chaptalia*. *PhytoKeys* 95, 93–106. doi.org/10.3897.
- Yamagishi, M. (1995).** Detection of section-specific random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in *Lilium*. *Theor. Appl. Genet.*, v. 91, p. 830-835. doi: 10.1007/BF00223888.
- Ye, J.N., T.Z. Wang, S.Q. Cai, K. Komatsu, M. Mikage and T. Namba. (1990).** Pharmacological studies on folk medicine in Sichuan province, China. II: on Tu-er-fang derived from gerbera plants. *J. Pharmac. Soc. Jpn.* 110 (6):374-382.
- Zheng, W.; Wang, L.; Meng, L.; Liu, J. (2008).** Genetic variation in the endangered *Anisodus tanguticus* (*Solanaceae*), an alpine perennial endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau. *Genetica.* 132, 123–129. DOI 10.1007/s10709-007-9154-5.

Zheng, W., Zhu, Y., Xu, X., Funk, V. A., Wen, J. (2019). Phylogenetic position of the South African endemic genus *Perdicum* in the Gerbera-complex (*compositae, Mutisieae*). South African Journal of Botany, 121, 478-485. Doi:10.1016/j.sajb.2018.12.013.

X. ANEXOS

Anexo 1. Imágenes de híbridos caracterizados morfológica y molecularmente (Fotos: Azucena Rivera Colín).



Tayari



Magda



Morelia



Fabiola



Imelda



Soledad



Rafaela



Fernanda



Karla



Boris



Lisiecka



Nancy



Bob



Melissa



Anel



Matilde



Valentina



Ana



Natalia



Refugio



Monika



Carmin



Lilian



Marina

Anexo 2. Descriptores utilizados de la Guía UPOV (2000).

No.	Caracter	Descripción	tc	Obs.	Modificados
C1	Hoja: Longitud	Corta	SC	1	30-40 cm
		Media	SC	2	40-50 cm
		Larga	SC	3	50-60 cm
C2	Hoja: Ancho	Estrecha	SC	1	10-15 cm
		Media	SC	2	15-20 cm
		ancha	SC	3	20-25 cm
C3	Hoja: Limbo: abullonado	Ausente o muy débil	SC	1	
		Débil	SC	2	
		Medio	SC	3	
		Fuerte	SC	4	
		Muy fuerte	SC	5	
C4	Hoja: Limbo: pubescencia en el Haz (excluida la nervadura principal)	Ausente o muy laxa	SC	1	
		Laxa	SC	2	
		Media	SC	3	
		Densa	SC	4	
		Muy densa	SC	5	
C5	Hoja: Limbo: profundidad de las incisiones en el tercio central	Poco profundo	SC	1	
		Medio	SC	2	
		Profundo	SC	3	
C6	Hoja: Limbo: color verde del haz	Claro	SC	1	
		Medio	SC	2	
		Oscuro	SC	3	
C7	Hoja: Limbo: forma del ápice	Agudo estrecho	SC	1	
		Moderadamente agudo	SC	2	
		En ángulo recto	SC	3	
		Obtuso	SC	4	
		Redondeado	SC	5	
C8	Pedúnculo: Longitud	Corto	C	1	40-50 cm
		Medio	C	2	50-60 cm
		Largo	C	3	60-70 cm
C9	Pedúnculo: intensidad de la pigmentación antocianica en la base	Ausente o muy débil	SC	1	
		Débil	SC	2	
		Media	SC	3	
		Fuerte	SC	4	
		Muy fuerte	SC	5	
C10	Pedúnculo: pigmentación antocianica en la punta	Ausente	SC	1	
		presente	SC	9	
C11	Pedúnculo: brácteas debajo del involucre	Ausentes	SC	1	
		Presentes	SC	9	
C12	Capítulo: tipo	Sencillo	SC	1	
		Semidoble	SC	2	
		doble	SC	3	
13	Capítulo: Diámetro	Muy pequeño	C	1	8 - 9 cm
		Pequeño	C	2	9 - 10 cm
		Medio	C	3	10 - 11 cm
		Grande	C	4	11 - 12 cm
		Muy grande	C	5	12 + cm

Cont. Anexo 2

C14	Variedades semidobles o doble únicamente Capítulo: diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo	Pequeño	C	1	0 - 0.5 cm
		Mediano	C	2	0.5 - 1 cm
		Grande	C	3	1 - 1.5 cm
C15	Capítulo: borde de la masa de las flores liguladas interiores	Regular	SC	1	
		Irregular	SC	2	
C16	Capítulo: altura del involcrocro	Bajo	C	1	0 - 1 cm
		Medio	C	2	1 - 2 cm
		Alto	C	3	2 - 3 cm
C17	Diámetro del involucro	Pequeño	C	1	2 - 3 cm
		Medio	C	2	3 - 4 cm
		grande	C	3	4 - 5 cm
C18	Capítulo: Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores	Separada	SC	1	
		En contacto	SC	2	
C19	Capítulo: pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	Ausente	SC	1	
		Presente	SC	9	
C20	Capítulo: intensidad de la pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	Débil	SC	1	
		media	SC	2	
		Fuerte	SC	3	
C21	Flor ligulada exterior: nivel del ápice en relación con la punta del involucro	Debajo	SC	1	
		Mismo nivel	SC	2	
		Encima	SC	3	
C22	Flor ligulada exterior: forma	Elíptica estrecha	SC	1	
		Obovada estrecha	SC	2	
C23	Flor ligulada exterior: eje longitudinal	Fuertemente curvado hacia arriba	SC	1	
		Moderadamente curvada hacia arriba	SC	2	
		Recto	SC	3	
		Moderadamente curvado hacia abajo	SC	4	
		Fuertemente curvado hacia abajo	SC	5	
C24	Flor ligulada exterior: eje longitudinal	Fuertemente inirvado	SC	1	
		Moderadamente incurvado	SC	2	
		Recto	SC	3	
C25	Flor ligulada exterior: perfil en sección transversal de la parte mediana de la lígula	Cóncavo	SC	1	
		Recto	SC	2	
		Convexo	SC	3	
C26	Flor ligulada exterior. longitud	Muy corta	C	1	2 - 3 cm
		Corta	C	2	3 - 4 cm
		Media	C	3	4 - 5 cm
		Larga	C	4	6 - 7 cm
		Muy larga	C	5	7 - 8 cm
C27	Flor ligulada exterior: anchura				

Cont. Anexo 2

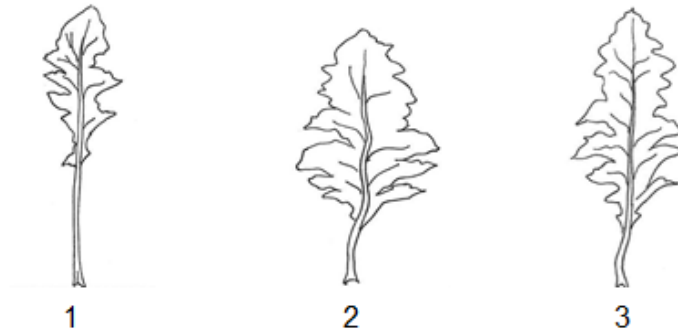
		Estrecha	C	1
		Media	C	2
		Ancha	C	3
C28	Flor ligulada exterior: forma del ápice			
		Puntiagudo	SC	1
		Redondeado	SC	2
C29	Flor ligulada exterior: profundidad de las incisiones			
		Ausente o poco profunda	SC	1
		Poco profunda	SC	2
		Media	SC	3
		Profunda	SC	4
		Muy profunda	SC	5
C30	Flor ligulada exterior: tendencia a formar largos pétalos libres			
		Ausente	SC	1
		Presente	SC	9
C31	Flor ligulada exterior: color del lado interno			
		Diagrama de colores RHS (INDIQUESE NÚMERO DE REFERENCIA)	SC	
C32	Flor ligulada exterior: número de colores			
		Uno	C	1
		Dos	C	2
C33	Variedades de un solo color únicamente: Flor ligulada exterior únicamente: distribución del color			
		Ausente	SC	1
		Más claro en la base	SC	2
		Más claro en la parte superior	SC	3
C34	Flor ligulada exterior: presencia de estrías			
		Ausentes	SC	1
		Presentes	SC	9
C35	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en la mitad inferior			
		Ausente	SC	1
		Presente	SC	9
C36	Variedades bicolors únicamente: Flor ligulada exterior: color secundario en la mitad discal			
		Ausente	SC	1
		Presente	SC	9
C37	Variedades bicolors únicamente: Flor ligulada exterior: color secundario en el borde			
		Ausente	SC	1
		Presente	SC	9
C38	Variedades bicolors únicamente: Flor ligulada exterior: color secundario en la punta únicamente			
		Ausente	SC	1
		Presente	SC	9
C39	Variedades bicolors únicamente: Flor ligulada exterior: color secundario e			
		Blanco	SC	1
		Amarillo	SC	2
		Anaranjado	SC	3
		Rosa	SC	4
		Rojo	SC	5
		Púrpura	SC	6
C40	Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior			
		Blanco	SC	1
		Blanco amarillento	SC	2
		Verde amarillento	SC	3
		Verde	SC	4
		Amarillo	SC	5
		Anaranjado	SC	6
		Rosa	SC	7
		Rojo	SC	8
		Púrpura	SC	9
C41	Variedades sencillas o dobles solamente: Disco: diámetro			
		Pequeño	C	1
		Medio	C	2

Cont. Anexo 2

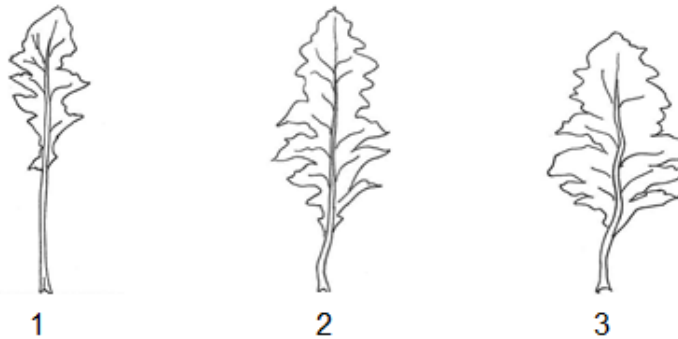
C42	Variedades sencillas o semidobles: Disco oscuro (antes de abrirse las florecillas del disco)	Grande	C	3
		Ausente	SC	1
C43	Variedades sencillas solamente: Florecillas del disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos	Presente	SC	9
		Blanco	SC	1
		Amarillo	SC	2
		Anaranjado	SC	3
		Rosa	SC	4
		Rojo	SC	5
		Púrpura	SC	6
		Marrón		7
C44	Variedades semidobles y dobles únicamente: Florecillas de disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto	Carta de colores RHS (índiquese el número de referencia)	SC	
C45	Disco: color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales	Blanco	SC	1
		Amarillos	SC	2
		Anaranjado	SC	3
		Rosa	SC	4
		Rojo	SC	5
		Púrpura	SC	6
C46	Pistilo: color principal de la parte distal	Blanco	SC	1
		Amarillo	SC	2
		Anaranjado	SC	3
		Rosa	SC	4
		Rojo	SC	5
		Púrpura	SC	6
		Marrón	SC	7
C47	Estigma: color principal	Blanco	SC	1
		Amarillo	SC	2
		Anaranjado	SC	3
		rosa	SC	4
		Rojo	SC	5
		Púrpura	SC	6
		Marrón	SC	7
C48	Anteras: color principal	Amarillo	SC	1
		Anaranjado	SC	2
		Rosa	SC	3
		Rojo	SC	4
		Púrpura	SC	5
		Marrón	SC	6
C49	Anteras: color del extremo en relación con las demás partes	Más claro	SC	1
		El mismo	SC	2
		Más oscuro	SC	3
C50	Anteras: rayas longitudinales	Ausentes	SC	1
		Presentes	SC	9
C51	Papus. Color del extremo en relación con las demás partes	Más claro	SC	1
		El mismo	SC	2
		Más oscuro	SC	3
C52	Papus: nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas	Debajo	SC	1
		Mismo nivel	SC	2
		encima	SC	3

Anexo 3. Esquemas de caracteres morfológicos.

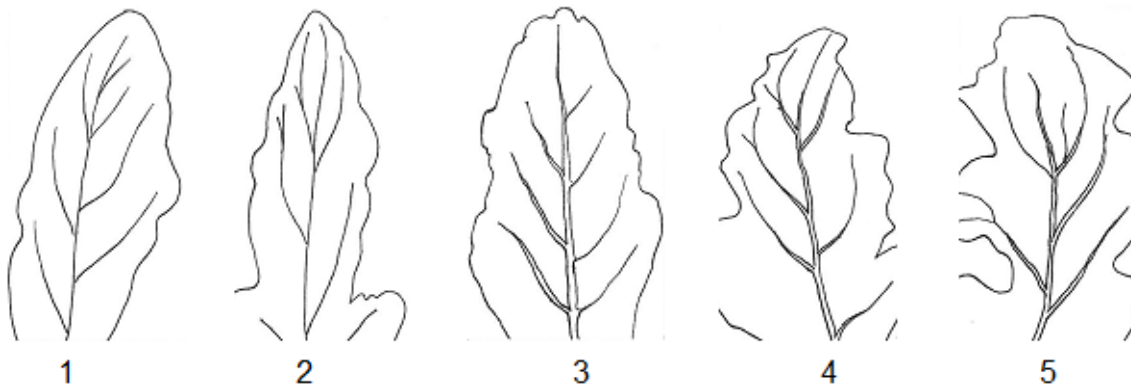
C1. Hoja: Longitud: Corta (1), Media (2), Larga (3).



C2. Hoja: Ancho: Estrecha (1), Media (2), Ancha (3)



C3. Hoja: Limbo abullonado: Ausente (1), Débil (2), Medio (3), Fuerte (4), Muy fuerte (5).



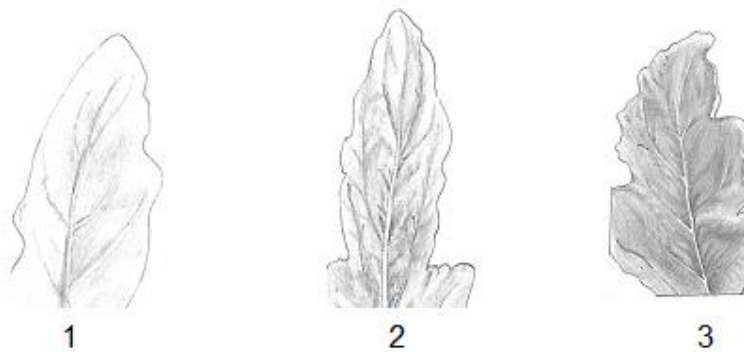
C4. Hoja: Limbo: pubescencia en el haz: Ausente o muy laxa (1) Laxa (2) Media (3) Densa (4) Muy densa (5).



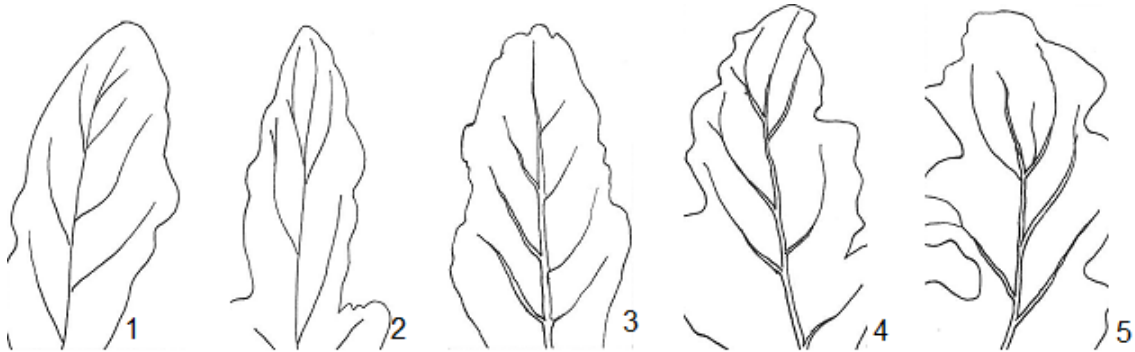
C5. Hoja: Limbo: profundidad de las incisiones en el tercio central: Poco profundo (1), medio (2), profundo (3).



C6. Hoja: Limbo: color del haz: Claro (1), medio (2), oscuro (3)



C7. Hoja: Limbo: forma del ápice: Agudo estrecho (1), moderadamente agudo (2), en ángulo recto (3), obtuso (4), redondeado (5).



C8. Pedúnculo: Longitud: Corto (1), medio (2), largo (3).



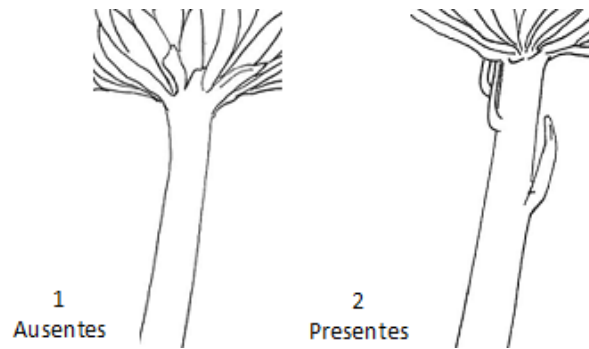
C9. Pedúnculo: intensidad de la pigmentación antocianica en la base: Ausente (1), débil (2), medio (3), fuerte (4), muy fuerte (5).



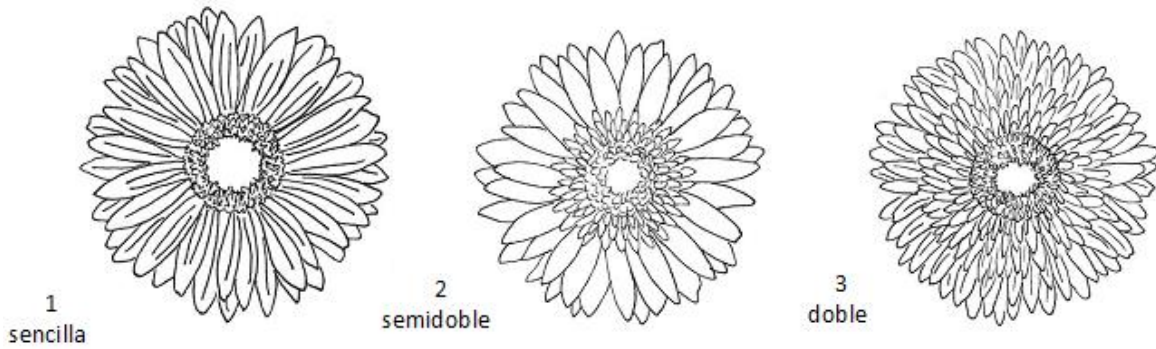
C10. Pedúnculo: Pigmentación antociánica en la punta: Ausente (1), presente (2).



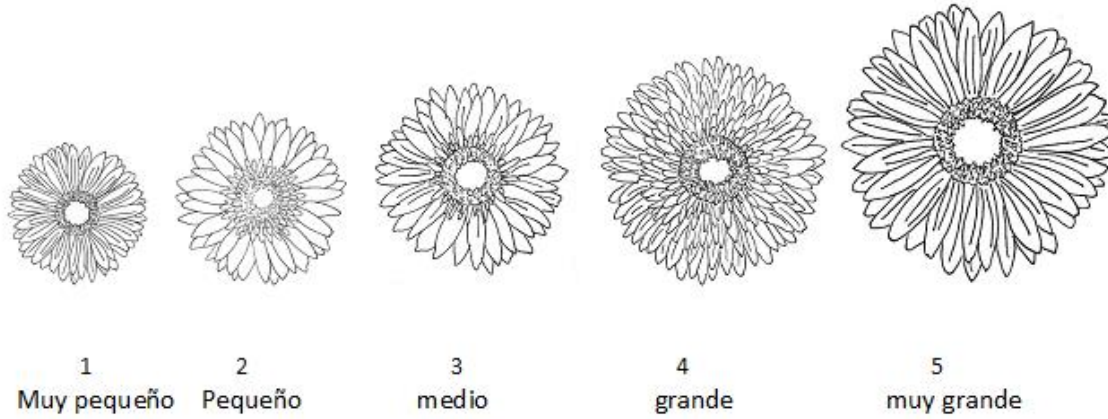
C11. Pedúnculo: Brácteas debajo del involucro



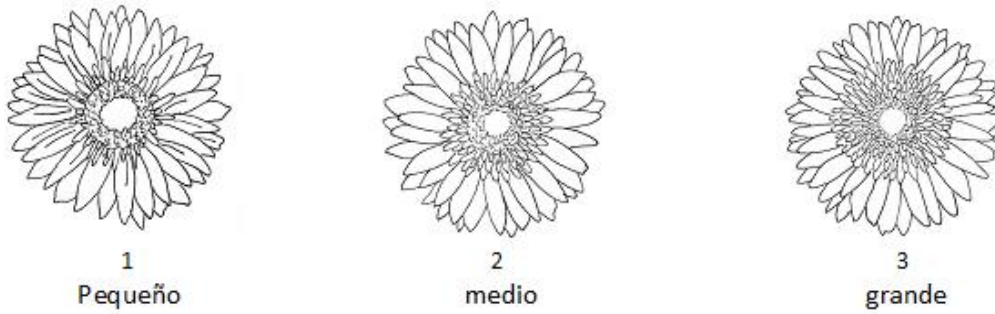
C12. Capítulo: Tipo



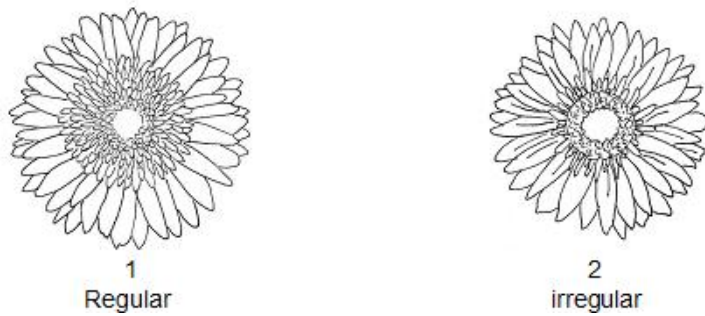
C13. Capítulo: Diámetro



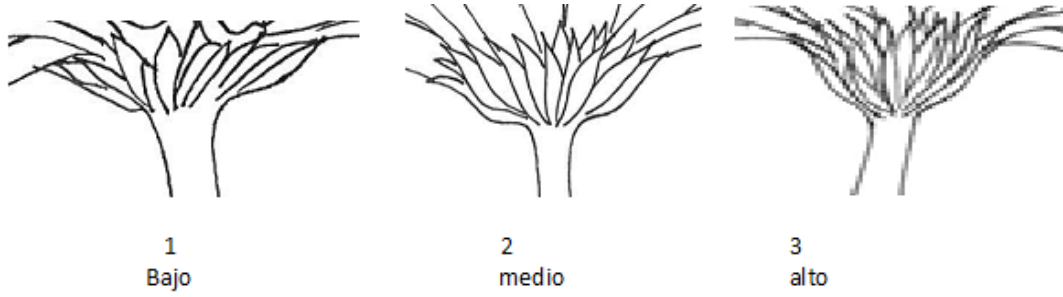
C14. Capítulo: diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el cántulo



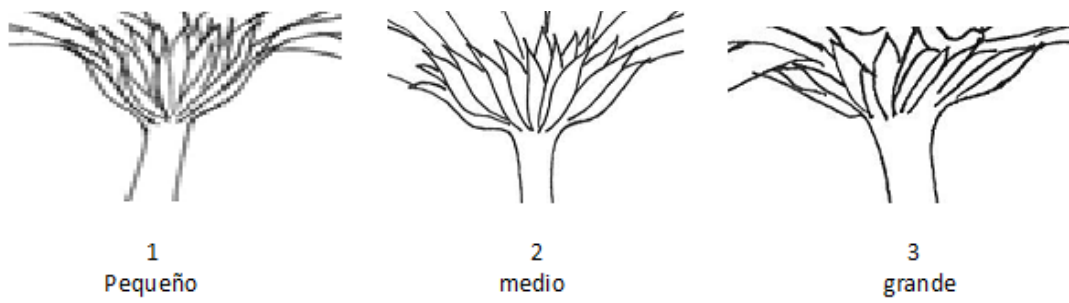
C15. Capítulo: Borde de las masa de las flores liguladas interiores



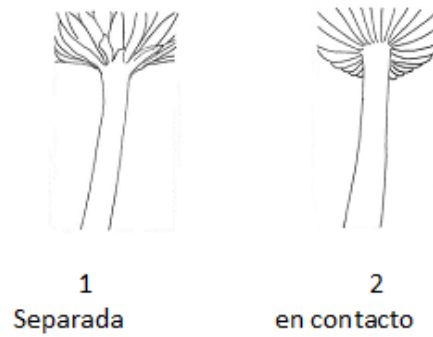
C16. Capítulo: altura del involucre



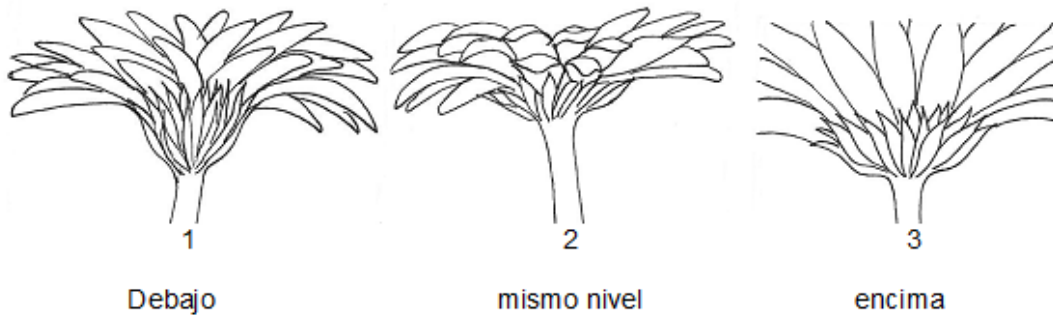
C17. Diámetro del involucre



C18. Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores



C19. Flor ligulada exterior: nivel del ápice en relación con la punta del involucre



C20. Capítulo: intensidad de la pigmentación antocianica en la parte distal de las brácteas interiores: Débil (1), media (2), fuerte (3).



C21. Flor ligulada exterior: nivel del ápice en relación con la punta del involucre: Debajo (1), mismo nivel (2), encima (3).



C22. Flor ligulada exterior: forma: Elíptica estrecha (1), obada estrecha (2).



C23. Flor lígulada exterior: eje longitudinal: Fuertemente curvado hacia arriba (1), moderadamente curvada hacia arriba (2), recto (3), moderadamente curvada hacia abajo (4), fuertemente curvado hacia abajo (5).



C24. Flor ligulada exterior: eje longitudinal: Fuertemente incurva (1), moderadamente incurvado (2), recto (3).



C25. Flor ligulada exterior: perfil en sección transversal de la parte mediana de la lígula: Cóncavo (1), recto (2), convexo (3).



C26. Flor ligulada exterior: Longitud: Muy corta (1), corta (2), media (3), larga (4), muy larga (5).



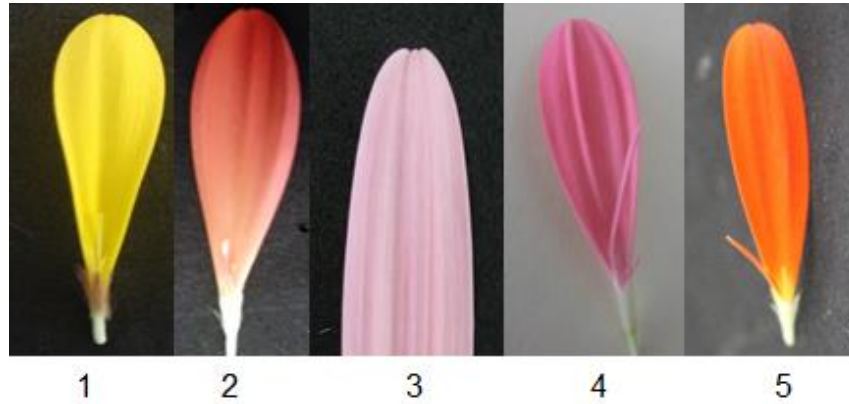
C27. Flor ligulada exterior: ancho: Estrecha (1), media (2), ancha (3).



C28. Flor ligulada exterior: forma del ápice: Puntigrada (1), redondeado (2).



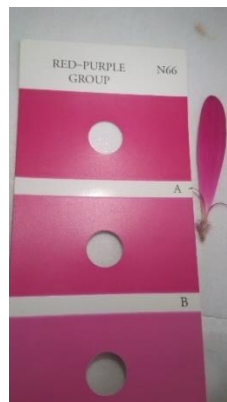
C29. Flor ligulada exterior: profundidad de las incisiones: Ausente o poco profunda (1), poco profunda (2), media (3), profunda (4), muy profunda (5).



C30. Flor ligulada exterior: tendencia a formar largos pétalos libres: Ausente (1), presente (9).



C31. Flor ligulada exterior: color del lado interno (Diagrama de colores RHS (indíquese el no. de referencia)).

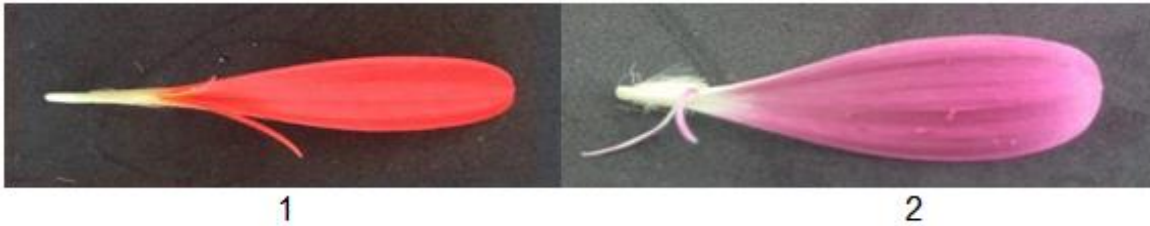


C32: Flor ligulada exterior: número de colores: uno (1), dos (2).



C33: Variedades de un solo color únicamente: Flor ligulada exterior únicamente: distribución del color: Ausente (1), mas claro en la base (2), más claro en la parte superior.

C34: Flor ligulada exterior: presencia de estrías: Ausentes (1), presentes (2).



C40: Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior.



C41: Variedades sencillas o dobles solamente: Disco: diámetro. Chico (1), mediano (2), grande (3).



C42: Variedades sencillas o semidobles: Disco oscuro (antes de abrirse las florecillas del disco).



C43: Variedades sencillas solamente: Florecillas del disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto.



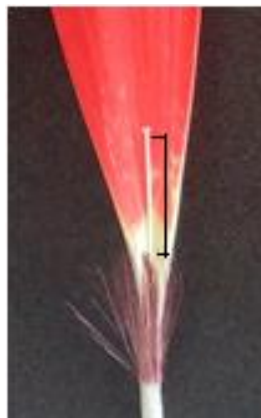
C44: Variedades semidobles y dobles únicamente: Florecillas de disco de las hileras exteriores: color principal de las lóbulos del perianto.



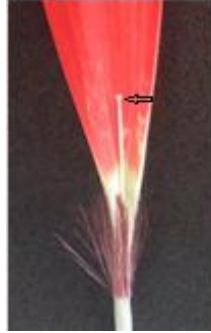
C45: Disco: color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales.



C46: Pistilo: color principal de la parte distal.



C47: Estigma: color principal.



C48: Anteras: color principal.



C49: Anteras: color de extremo en relación con las demás partes.



C50: Anteras: rayas longitudinales.



C51: Papús: color del extremo en relación con las demas partes.

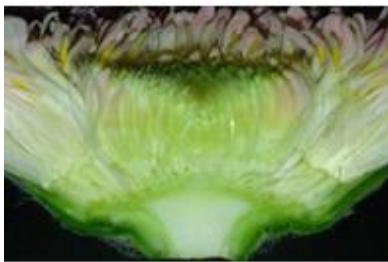


C52: Papús: nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas.

Debajo (1)

Mismo nivel (2)

Encima (3)



1



2



3

Anexo 4. Variables cualitativas y cuantitativas registradas en la colección de 24 híbridos de Gerbera (*Gerbera híbrida*).

No.	Carácter	Doble estado		ME (Cualitativos)		ME Cuantitativos	
		P/A	E/E	S/SL	C/SL	C	D
1	Hoja: Longitud					X	
2	Hoja: Ancho					X	
3	Hoja: Limbo: abullonado				X		
4	Hoja: Limbo: pubescencia en el Haz (excluida la nervadura principal)				X		
5	Hoja: Limbo: profundidad de las incisiones en el tercio central				X		
6	Hoja: Limbo: color verde del haz			X			
7	Hoja: Limbo: forma del ápice			X			
8	Pedúnculo: Longitud					X	
9	Pedúnculo: Intensidad de la pigmentación antociánica en la base	X					
10	Pedúnculo: pigmentación antociánica en la punta	X					
11	Pedúnculo: brácteas debajo del involucre				X		
12	Tipo de capítulo			X			
13	Capítulo Diámetro					X	
14	Variedades semidobles o dobles únicamente: Capítulo: diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo				X		
15	Capítulo: Borde de la masa de las flores liguladas interiores			X			
16	Capítulo: altura del involucre				X		
17	Diámetro del involucre				X		
18	Capítulo: Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores		X				
19	Capítulo: pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	X					
20	Capítulo: intensidad de la pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores			X			
21	Flor ligulada exterior: nivel del ápice en relación con la punta del involucre		X				
22	Flor ligulada exterior: forma		X				
23	Flor ligulada exterior: eje longitudinal				X		
24	Flor ligulada exterior: perfil en sección transversal de la parte mediana de la lígula			X			
25	Flor ligulada exterior: Longitud					X	
26	Flor ligulada exterior: ancho					X	
27	Flor ligulada exterior: forma del ápice		X				
28	Flor ligulada exterior: profundidad de las incisiones			X			
29	Flor ligulada exterior: tendencia a formar pétalos libres	X					
30	Flor ligulada exterior: color del lado interno			X			
31	Flor ligulada exterior: número de colores			X			
32	Variedades de un solo color únicamente: Flor ligulada exterior únicamente: distribución del color			X			
33	Flor ligulada exterior: color del lado externo			X			
34	Flor ligulada exterior: presencia de estrías	X					
35	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en la mitad inferior						
36	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en la mitad distal						
37	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en el borde						
38	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en la punta únicamente						
39	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario						

Cont. Anexo 4

No.	Carácter	Doble estado		ME (Cualitativos)		ME Cuantitativos	
		P/A	E/E	S/SL	C/SL	C	D
41	Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior			X			
42	Variedades sencillas o dobles solamente: Disco: diámetro				X		
43	Variedades sencillas o semidobles: Disco oscuro antes de abrirse las florecillas del disco	X					
44	Variedades sencillas solamente: Florecillas del disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto			X			
45	Variedades semidobles y dobles únicamente: florecillas de disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto			X			
46	Disco: color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales			X			
47	Pistilo: color principal de la parte distal			X			
48	Estigma: color principal			X			
49	Anteras: color principal			X			
50	Anteras: color del extremo en relación con las demás partes			X			
51	Anteras: rayas longitudinales	X					
52	Papús. Color del extremo en relación con las demás partes			X			
53	Papús: nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas		X				

Anexo 5. Matriz general de taxonomía numérica con caracteres cuantitativos y cualitativos registradas en la colección de 24 híbridos de Gerbera (*Gerbera hybrida*).

No.	Caracter	Descripción	M/G	MT	Tipo de dato	C	Modificados
C1	Hoja: Longitud	Corta	1	1	Multiestado (cuantitativo continuo)	1	30-40 cm
		Media	2	2	Multiestado (cuantitativo continuo)	2	40-50 cm
		Larga	3	3	Multiestado (cuantitativo continuo)	3	50+ cm
C2	Hoja: Ancho	Estrecha	4	4	Multiestado (cuantitativo continuo)	1	10-15 cm
		Media	5	5	Multiestado (cuantitativo continuo)	2	15-20 cm
		ancha	6	6	Multiestado (cuantitativo continuo)	3	20+ cm
C3	Hoja: Limbo: abullonado	Ausente o muy débil	7	7	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		Débil	8	8	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Medio	9	9	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
		Fuerte	10	10	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	4	
		Muy fuerte	11	11	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	5	
C4	Hoja: Limbo: pubescencia en el haz (excluida la nervadura principal)	Ausente o muy laxa	12	12	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		Laxa	13	13	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Media	14	14	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
		Densa	15	15	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	4	
		Muy densa	16	16	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	5	
C5	Hoja: Limbo: profundidad de las incisiones en el tercio central	Poco profundo	17	17	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		Medio	18	18	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Profundo	19	19	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
C6	Hoja: Limbo: color verde del haz	Claro	20	20	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		Medio	21	21	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Oscuro	22	22	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
C7	Hoja: Limbo: forma del ápice	Agudo estrecho	23	23	Miltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Moderadamente agudo	24	24	Miltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		En ángulo recto	25	25	Miltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
		Obtuso	26	26	Miltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Redondeado	27	27	Miltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	

Cont. Anexo 5

No.	Caracter	Descripción	M/G	MT	Tipo de dato	C	Modificados
C8	Pedúnculo: Longitud	Corto	1	28	Multiestado (cuantitativo continuo)	1	40-50 cm
		Medio	2	29	Multiestado (cuantitativo continuo)	2	50-60 cm
		Largo	3	30	Multiestado (cuantitativo continuo)	3	60+ cm
C9	Pedúnculo: intensidad de la pigmentación antocianica en la base	Ausente o muy débil	4	31	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		Débil	5	32	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Media	6	33	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
		Fuerte	7	34	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	4	
		Muy fuerte	8	35	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	5	
C10	Pedúnculo: pigmentación antocianica en la punta	Ausente	9	36	Doble estado	1	
		presente	10	37	Doble estado	9	
C11	Pedúnculo: brácteas debajo del involucre	Ausentes	11	38	Doble estado	1	
		Presentes	12	39	Doble estado	9	
C12	Capítulo: tipo	Sencillo	1	40	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Semidoble	2	41	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		doble	3	42	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
13	Capítulo: Diámetro	Muy pequeño	4	43	Multiestado (cuantitativo continuo)	1	8 - 9 cm
		Pequeño	5	44	Multiestado (cuantitativo continuo)	2	9 - 10 cm
		Medio	6	45	Multiestado (cuantitativo continuo)	3	10 - 11 cm
		Grande	7	46	Multiestado (cuantitativo continuo)	4	11 - 12 cm
		Muy grande	8	47	Multiestado (cuantitativo continuo)	5	12 + cm
C14	Variedades semidobles o dobles únicamente Capítulo: diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo	Pequeño	9	48	Multiestado (cuantitativo continuo)	1	
		Mediano	10	49	Multiestado (cuantitativo continuo)	2	
		Grande	11	50	Multiestado (cuantitativo continuo)	3	
C15	Capítulo: borde de la masa de las flores liguladas interiores	Regular	12	51	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Irregular	13	52	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	

Cont. Anexo 5

No.	Caracter	Descripción	M/G	MT	Tipo de dato	C	Modificados
C16	Capítulo: altura del involucre	Bajo	14	53	Doble estado (estado excluyente)	1	0 - 1 cm
		Medio	15	54	Doble estado (estado excluyente)	2	1 - 2 cm
		Alto	16	55	Doble estado (estado excluyente)	3	2 - + cm
C17	Capítulo: diámetro del involucre	Pequeño	17	56	Multiestado (cuantitativo continuo)	1	2 - 3 cm
		Medio	18	57	Multiestado (cuantitativo continuo)	2	3 - 4 cm
		grande	19	58	Multiestado (cuantitativo continuo)	3	4 - + cm
C18	Capítulo: Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores	Separada	20	59	Doble estado (estado excluyente)	1	
		En contacto	21	60	Doble estado (estado excluyente)	2	
C19	Capítulo: pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	Ausente	22	61	Doble estado	1	
		Presente	23	62	Doble estado	9	
C20	Capítulo: intensidad de la pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	Débil	24	63	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		media	25	64	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Fuerte	26	65	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
C21	Flor ligulada exterior: nivel del ápice en relación con la punta del involucre	Debajo	1	66	Doble estado (estado excluyente)	1	
		Mismo nivel	2	67	Doble estado (estado excluyente)	2	
		Encima	3	68	Doble estado (estado excluyente)	3	
C22	Flor ligulada exterior: forma	Elíptica estrecha	4	69	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Obovada estrecha	5	70	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
C23	Flor ligulada exterior: eje longitudinal	Fuertemente curvado hacia arriba	6	71	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Moderadamente curvada hacia arriba	7	72	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Recto	8	73	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
		Moderadamente curvado hacia abajo	9	74	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Fuertemente curvado hacia abajo	10	75	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	

Cont. Anexo 5

No.	Caracter	Descripción	M/G	MT	Tipo de dato	C	Modificados
C24	Flor ligulada exterior: eje longitudinal	Fuertemente inirvado	11	76	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Moderadamente incurvado	12	77	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Recto	13	78	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
C25	Flor ligulada exterior: perfil en sección transversal de la parte mediana de la lígula	Cóncavo	14	79	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Recto	15	80	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Convexo	16	81	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
C26	Flor ligulada exterior: longitud	Muy corta	17	82	Multiestado (cuantitativo continuo)	1	0 – 3 cm
		Corta	18	83	Multiestado (cuantitativo continuo)	2	3 – 4 cm
		Media	19	84	Multiestado (cuantitativo continuo)	3	4 – 5 cm
		Larga	20	85	Multiestado (cuantitativo continuo)	4	6 – 7 cm
		Muy larga	21	86	Multiestado (cuantitativo continuo)	5	7 – + cm
C27	Flor ligulada exterior: ancho	Estrecha	22	87	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	0.5 – 1 cm
		Media	23	88	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	1 – 1.5 cm
		Ancha	24	89	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	1.5-+
C28	Flor ligulada exterior: forma del ápice	Puntiagudo	25	90	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Redondeado	26	91	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
C29	Flor ligulada exterior: profundidad de las incisiones	Ausente o poco profunda	27	92	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		Poco profunda	28	93	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Media	29	94	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
		Profunda	30	95	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	4	
		Muy profunda	31	96	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	5	
C30	Flor ligulada exterior: tendencia a formar largos pétalos libres	Ausente	32	97	Doble estado	1	
		Presente	33	98	Doble estado	9	
C31	Flor ligulada exterior: color del lado interno	Diagrama de colores RHS (INDIQUESE NÚMERO DE REFERENCIA)	34	99	SC		

Cont. Anexo 5

No.	Caracter	Descripción	M/G	MT	Tipo de dato	C	Modificados
C32	Flor ligulada exterior: número de colores	Uno	35	100	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Dos	36	101	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
C33	Variedades de un solo color únicamente: Flor ligulada exterior únicamente: distribución del color	Ausente	37	103	Doble estado	1	
		Más claro en la base	38		Doble estado	2	
		Más claro en la parte superior	39	104	Doble estado	3	
C34	Flor ligulada exterior: presencia de estrías			105			
		Ausentes	40		Doble estado	1	
C35	Variedades bicolors únicamente: flor ligulada exterior: color secundario en la mitad inferior	Presentes	41	106	Doble estado	9	
				107			
C36	Variedades bicolors únicamente: Flor ligulada exterior: color secundario en la mitad discal	Ausente	42		Doble estado	1	
		Presente	43	108	Doble estado	9	
C37	Variedades bicolors únicamente: Flor ligulada exterior: color secundario en el borde			109			
		Ausente	44		Doble estado	1	
C38	Variedades bicolors únicamente: Flor ligulada exterior: color secundario en la punta únicamente	Presente	45	110	Doble estado	9	
				111			
C39	Variedades bicolors únicamente: Flor ligulada exterior: color secundario	Ausente	46		Doble estado	1	
		Presente	47	112	Doble estado	9	
C40	Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior			113			
		Ausente	48		Doble estado	1	
		Presente	49	114	Doble estado	9	
		Blanco	50	116	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Amarillo	51	117	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Anaranjado	52	118	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
C40	Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior	Rosa	53	119	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Rojo	54		Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	
		Púrpura	55	120	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	6	
				121			
		Blanco	56	122	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Blanco amarillento	57	123	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
C40	Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior	Verde amarillento	58	124	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
		Verde	59	125	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Amarillo	60	126	Multiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	

Cont. Anexo 5

No.	Caracter	Descripción	M/G	MT	Tipo de dato	C	Modificados
C41	Variedades sencillas o dobles solamente: Disco: diámetro	Anaranjado	61	127	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	6	
		Rosa	62	128	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	7	
		Rojo	63	129	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	8	
		Púrpura	64	130	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	9	
C41	Variedades sencillas o dobles solamente: Disco: diámetro	Pequeño	1	131	Mltiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	1-1.5 cm
		Medio	2	132	Mltiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	1.5-2 cm
		Grande	3	133	Mltiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	2-+
C42	Variedades sencillas o semidobles: Disco oscuro (antes de abrirse las florecillas del disco)	Ausente	4	134	Doble estado	1	
		Presente	5	134	Doble estado	9	
C43	Variedades sencillas solamente: Florecillas del disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto	Blanco	6	136	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Amarillo	7	137	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Anaranjado	8	138	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
		Rosa	9	139	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Rojo	10	140	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	
		Púrpura	11	141	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	6	
		Marrón	12	142	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	7	
C44	Variedades semidobles y dobles únicamente: Florecillas de disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto	Carta de colores RHS (INDIQUESE EL NÚMERO DE REFERENCIA)	13	143	SC		

Cont. Anexo 5

No.	Caracter	Descripción	M/G	MT	Tipo de dato	C	Modificados
C45	Disco: color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales	Blanco	14	144	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Amarillos	15	145	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Anaranjado	16	146	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
		Rosa	17	147	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Rojo	18	148	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	
		Púrpura	19	149	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	6	
		Marrón	20	150	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	7	
C46	Cont. Anexo 5 Pistilo: color principal de la parte distal	Blanco	1	151	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Amarillo	2	152	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Anaranjado	3	153	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
		Rosa	4	154	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Rojo	5	155	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	
		Púrpura	6	156	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	6	
		Marrón	7	157	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	7	
C47	Estigma: color principal	Blanco	1	158	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Amarillo	2	159	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Anaranjado	3	160	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
		rosa	4	161	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Rojo	5	162	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	
		Púrpura	6	163	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	6	
		Marrón	7	164	Mltiestado (cualit.-sin secuencia lógica)	7	
C48	Anteras: color principal	Amarillo	1	165	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	1	
		Anaranjado	2	166	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	2	
		Rosa	3	167	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	3	
		Rojo	4	168	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	4	
		Púrpura	5	169	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	5	
		Marrón	6	170	Mltiestado (cualitativo-sin secuencia lógica)	6	

Cont. Anexo 5

No.	Caracter	Descripción	M/G	MT	Tipo de dato	C	Modificados
C49	Anteras: color del extremo en relación con las demás partes	Más claro	7	171	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		El mismo	8	172	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Más oscuro	9	173	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
C50	Anteras: rayas longitudinales	Ausentes	10	174	Doble estado	1	
		Presentes	11	175	Doble estado	9	
C51	Papus. Color del extremo en relación con las demás partes	Más claro	1	176	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	1	
		El mismo	2	177	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	2	
		Más oscuro	3	178	Multiestado (cualitativo-con secuencia lógica)	3	
C52	Papus: nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas	Debajo	4	179	Doble estado (estado excluyente)	1	
		Mismo nivel	5	180	Doble estado (estado excluyente)	2	
		encima	6	181	Doble estado (estado excluyente)	3	

Anexo 6. Matriz básica de datos cualitativos

NO.	CARACTER																		Descripción							
		TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT	VAL		ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR
1	HLA	2	3	3	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	2	2	2	2	4	1	1	2	1	1	2	1-Ausente, 2-Débil,3-Medio, 4-Fuerte
2	HPUB	2	3	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	3	3	2	1	1	1	4	1-laxa, 2-media, 3-densa, 4-densa	
3	HLP	2	1	2	1	2	1	2	1	2	2	2	2	3	2	2	2	1	1	2	2	1	1	1	1-poco profundo, 2-medio, 3-profundo	
4	HC	2	2	1	2	2	2	2	2	3	2	2	3	3	2	2	2	3	2	2	2	3	1	1	1-claro, 2-medio, 3-oscuro	
5	HF	2	5	3	4	2	2	2	1	2	3	3	4	2	2	2	1	3	3	3	2	2	2	2	1-agudo estrecho, 2-moderadamente agudo, 3-en ángulo recto, 4-obtuso, 5-redondeado	
6	PPB	3	2	1	4	3	4	4	2	2	3	4	1	4	4	4	3	4	3	4	4	2	2	3	1-Ausente, 2-Débil, 3-Medio, 4-Fuerte	
7	PP	1	1	1	1	1	9	1	1	1	1	1	1	9	9	1	9	1	9	1	1	1	9	1	1-ausente, 9-presente	
8	PB	1	1	1	9	9	1	1	1	9	1	1	1	9	1	1	1	1	1	9	1	1	1	1	1-ausente, 9-presente	
9	CT	2	1	2	1	3	2	1	2	2	1	1	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	1-sencillo, 2-semidoble, 3-doble	
10	CDM	2	-	3	-	3	3	-	3	2	-	-	1	2	1	3	3	1	1	2	2	1	2	3	1-pequeño, 2-mediano, 3-grande	
11	CBM	1	-	1	-	1	2	-	1	2	-	-	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	1-regular, 2-irregular	
12	CPB	2	2	2	2	1	2	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1-separada, 2-en contacto,	
13	CPA	1	1	9	9	1	1	1	1	9	1	1	1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1-ausente, 9-presente	
14	CIP	2	1	1	2	2	1	3	3	3	1	1	1	2	3	3	2	1	1	1	1	1	2	1	1-débil, 2-media, 3-fuerte	
15	FNP	2	2	2	3	2	2	2	2	2	3	2	1	3	2	2	1	2	2	2	2	2	3	2	1-debajo, 2-mismo nivel, 3-encima	
16	FF	1	1	1	2	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1-elíptica estrecha, 2-obovada estrecha	
17	FEL	3	2	4	4	3	4	4	3	4	4	4	4	1	3	3	2	3	3	4	3	3	2	4	1-fuertemente curvado hacia arriba, 2-moderadamente curvado hacia arriba,3-recto, 4-moderadamente curvado hacia abajo	
18	FLL	2	2	3	3	1	3	3	1	3	3	3	3	1	2	3	3	1	1	3	1	1	1	3	1-fuertemente incurvado, 2-moderadamente incurvado, 3-recto	
19	FPT	1	1	2	2	3	2	2	3	2	2	2	2	3	1	2	2	3	3	2	3	3	3	2	1-cóncavo, 2-recto, 3-convexo	
20	FFA	1	1	1	2	2	2	1	2	2	1	1	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	1	1-puntiaguda, 2-redondeada	
21	FPI	3	3	3	4	1	3	4	1	2	2	3	3	3	3	4	1	3	3	3	3	2	2	3	1-ausente. 2-poco profunda, 3-media, 4-muy profunda	
22	FPL	9	1	9	9	9	9	1	9	9	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	9	1	9	9	1-ausente, 9-presente	
23	FCI																								47-D,58-D,48-C,56-B56-D,41-C,53-B,50-C,36-C,56-C, 4-D Y 43-B rojos; 63-C, 62-B y 72-C rojos púrpura; 23-A,22-A, 14-B, 16-C amarillos-naranja; 32-C, N34-A, 32-C naranja rojo; 155-C, verde blanco	
24	FNC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1-uno	
25	FDC	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1-uniforme	
26	FE	9	1	9	1	9	1	9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1-ausente, 9-presente	
27	VBCI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1-ausente, 9-presente	
28	VBCD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1-ausente, 9-presente	
29	VBCB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1-ausente, 9-presente	
30	VBCP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1-ausente, 9-presente	
31	VBCS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1-ausente, 9-presente	
32	FC	7	7	7	5	7	5	6	7	5	5	6	3	8	8	8	7	7	7	9	9	6	8	6	5-1-blanco, 2-blanco amarillento, 3- verde amarillento, 4-verde, 5-amarillo, 6-anaranjado, 7-rosa, 8-rojo, 9-púrpura	
33	DO	9	1	1	9	1	9	9	1	9	1	1	1	9	9	9	9	1	1	9	9	9	1	1	1-ausente, 9-presente	
34	DCF	-	4	-	2	-	-	2	-	-	2	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1-blanco, 2-amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura, 7-marrón	

Cont Anexo 6

NO.	CARACTER	CARACTER																Descripción								
		TAY	MAG	MOR	FAB	IME	SOL	RAF	FER	KAR	BOR	LIS	NAN	BOB	MEL	ANE	MAT		VAL	ANA	NAT	REF	MON	CAR	LIL	MAR
35	DCPL																									CARTA DE COLORES
36	DCFB	4 45-C	4 .	4 47-C	2 .	4 65-D	2 3-A	2 .	4 56-C	2 21-A	2 .	3 .	2 157-C	5 44-B	5 26-A	5 53-A	4 47-C	4 48-C	4 55-C	6 64-C	6 61-C	4 43-A	5 45-4	4 N74	2 28-A	1-blanco, 2-amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura, 7-marrón
37	PCP	4 2	4 2	4 2	4 2	4 2	4 2	4 2	4 2	4 2	4 2	3 3	1 2	2 4	2 2	4 4	4 4	2 2	1 1	2 2	4 4	2 2	4 4	3 3	1 1	1-blanco, 2-amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura, 7-marrón
38	ECP	4 2	4 2	4 2	2 2	2 2	2 2	2 2	4 4	6 6	2 2	3 3	1 1	7 7	4 4	4 4	1 1	2 2	2 2	2 2	2 2	5 5	4 4	1 1	1 1	1-blanco, 2-amarillo, 3-anaranjado, 4-rosa, 5-rojo, 6-púrpura, 7-marrón
39	ACP	3 3	3 3	3 1	1 1	1 1	2 2	2 2	2 2	2 2	2 2	2 2	2 2	1 4	5 5	2 2	2 2	1 1	2 2	2 2	2 2	1 1	1 1	3 3	1 1	1-amarillo, 2-anaranjado, 3-rosa, 4-rojo, 5-púrpura, 6- marrón
40	ACE	3 2	2 2	3 3	3 3	2 2	2 2	2 2	3 3	1 1	1 1	2 2	2 2	3 3	2 2	2 2	2 2	2 2	3 3	3 3	1 1	3 3	1 1	2 2	1 1	1-más claro, 2-el mismo, 3-más oscuro
41	ARL	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	9 9	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	9 9	9 9	1 1	9 9	9 9	9 9	9 9	1 1	1 1	1 1	1 1	1 1	1-ausencia, 9-presencia
42	PCE	3 2	2 2	2 2	2 2	2 2	3 3	3 3	3 3	3 3	1 1	1 1	2 2	2 2	2 2	2 2	3 3	1 1	2 2	3 3	3 3	3 3	2 2	2 2	2 2	1-más claro, 2-el mismo, 3-más oscuro
43	PNE	2 2	1 1	1 1	1 1	1 1	2 2	1 1	2 2	1 1	1 1	1 1	1 1	2 2	2 2	2 2	1 1	1 1	2 2	1 1	2 2	2 2	2 2	2 2	2 2	1-debajo, 2 mismo nivel

Hoja: Limbo abullonado (**HLA**); Hoja: Limbo: pubescencia en el haz (excluida la nervadura principal) (**HPUB**); Hoja: Limbo: profundidad (**HLP**); Hoja Limbo: color verde del haz (**HC**); Hoja: Forma del ápice (**HF**).Pedúnculo: intensidad de la pigmentación antociánica en la base (**PPB**); Pedúnculo: pigmentación antociánica en la punta (**PP**); Pedúnculo: brácteas debajo del involucre (**PB**).Capítulo: tipo (**CT**) Capítulo: diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo (**CDM**); Capítulo: Borde de la masa de las flores liguladas interiores (**CBM**); Capítulo: Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores (**CIP**); Capítulo: pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores (**CIPIG**); Capítulo: intensidad de la pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores (**CINP**).Flor ligulada exterior: nivel del ápice en relación con la punta del involucre (**INA**); Flor ligulada exterior: forma (**FF**); Flor ligulada exterior: eje longitudinal (**FEL**); Flor ligulada exterior: forma del ápice (**FFA**); Flor ligulada exterior: profundidad de las incisiones (**FPI**); Flor ligulada exterior: tendencia a forma pétalos libres (**FPL**); Flor ligulada exterior: color del lado interno (**FCL**); Flor ligulada exterior: número de colores (**FCN**); Variedades de un solo color únicamente: Flor ligulada exterior únicamente: distribución del color (**FDC**). Flor ligulada exterior: presencia de estrías (**FE**); Flor ligulada exterior: color principal del lado exterior (**FC**).Variedades sencillas o dobles solamente: Disco: Oscuro (antes de abrirse las florecillas del disco (**DO**); Variedades Sencillas solamente: florecillas del disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto (**DCF**); Variedades semidobles y dobles únicamente: Florecillas del disco de la hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto (**DCPL**); Disco: color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales (**DCFB**).Pistilo: color principal de la parte distal (**PISCP**). Estigma: color principal (**ESTCP**). Anteras: color principal (**ANTCP**); Anteras: color de extremo en relación con las demás partes (**ANTLE**); Anteras: rayas longitudinales (**ANTRL**). Papús: Color del extremo en relación con las demás partes (**PAPC**); Papús: nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas (**PAPN**).

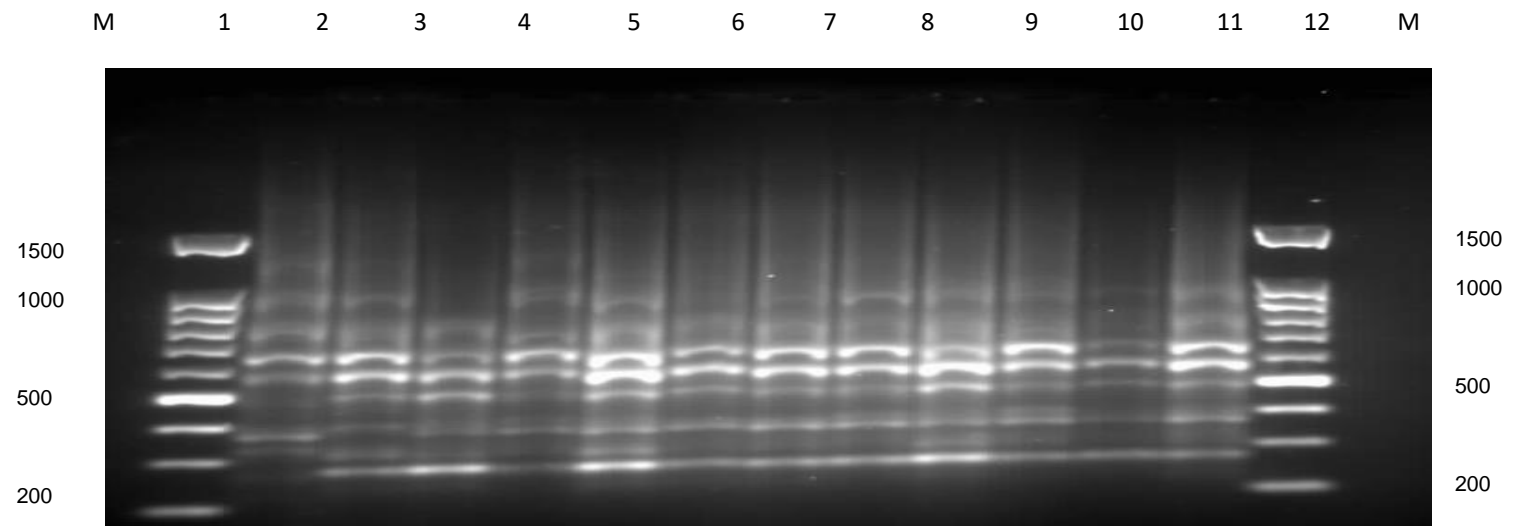
Anexo 7. Protocolo para la extracción de ADN en plantas con alto contenido de fenoles (Silva, et al., 2015).

Paso No.	Procedimiento
1	Precalentar el CTAB 2% (Tris-HCl 10mM pH 8, Na ₂ EDTA H ₂ O 20mM pH 8, CTAB, NaCl 1.4M) a 60°C con una plancha ® LabTech.
2	Seleccionar 1.5 g de muestra de tejido previamente lavado y colocarlo en un mortero.
3	Agregar 0.3g de PVP y 1 ml de CTAB 2% a la muestra y moler cuidadosamente hasta obtener una mezcla fina y homogénea.
4	Pasar la mezcla a un tubo ®Eppendorf de 1.5 ml y agitar con el aparato vórtex ®Clever.
5	Incubar a baño María a 65°C por 30 minutos, dar vórtex cada 10 minutos.
6	Centrifugar a 12,000 rpm en centrífuga ®Labnet por 10 minutos.
7	Pasar la fase acuosa (750 µl) a tubos de 1.5 ml nuevos y agregar 750 µl de solución cloroformo-álcohol isoamílico (24:1) y agitar por inversión por 10 minutos.
8	Centrifugar a 10,000 rpm por 10 minutos.
9	Repetir el paso 7, extrayendo 600 µl de solución acuosa y, en la cámara de extracción de gases, agregar 800 µl de cloroformo-álcohol isoamílico (24:1) en tubos de 1.5 ml nuevos.
10	Agitar por inversión durante 10 minutos y centrifugar a 12,000 rpm por 10 minutos.
11	Transferir la solución acuosa a tubos nuevos de 1.5 ml.
12	Agregar 20 µl de acetato de sodio y 400 µl de etanol al 70% y mezclar suavemente.
13	Mantener a -20°C por 2 horas.
14	Centrifugar a 12,000 rpm durante 20 minutos y decantar dejando en el fondo la pastilla de ADN.
15	Agregar 1 ml de isopropanol al 70% y centrifugar a 10,000 rpm por 5 minutos.
16	Decantar dejando la pastilla de ADN y agregar 400 µl de agua HPLC
17	Incubar a 55°C durante 15 minutos.
18	Añadir 34 µl de acetato de sodio (CH ₃ COONa 3M) y 1 ml de etanol 95%.
19	Mantener a -20°C por 1 hora.
20	Centrifugar a 13,000 rpm por 10 minutos. Decantar el sobrenadante.
21	Lavar con 600 µl de isopropanol al 70 %, centrifugar a 12,000 rpm y decantar (repetir 3 veces o más, el número de lavados dependerá de la coloración de la pastilla).
22	Dejar secar por 30 minutos y resuspender la pastilla en 220 µl de agua HPLC. Incubar a 60° por 10 minutos.
23	Mantener a -20°C hasta su uso.

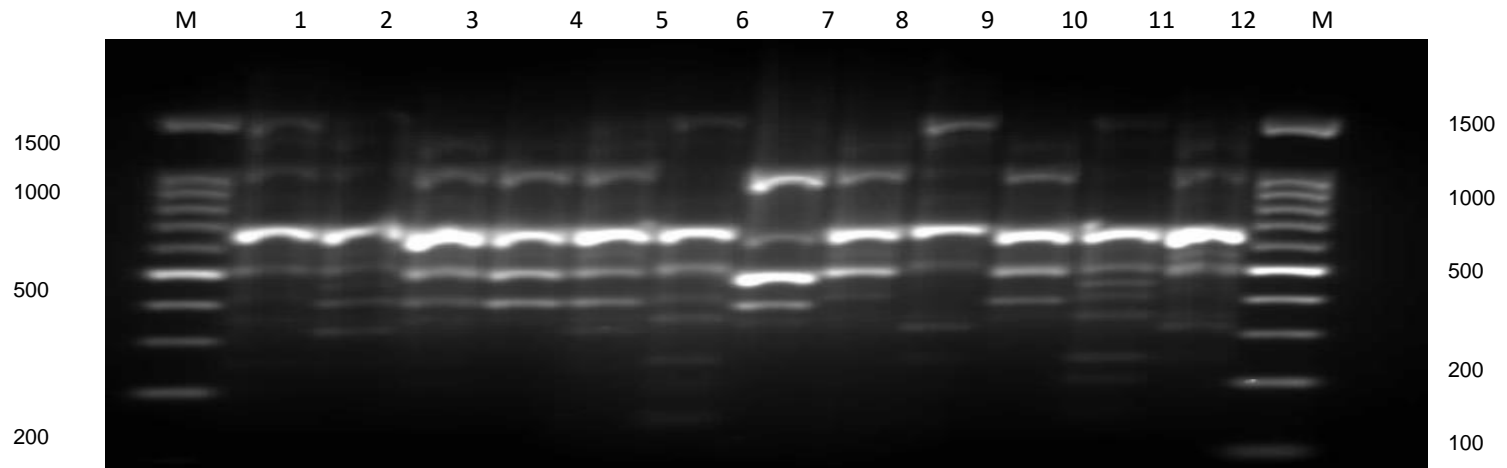
CTAB (Bromuro de cetiltrimetilamonio), **PVP** (polivinilpirrolidona), **HPLC** (agua para cromatografía líquida de alta eficacia).

Anexo 8. Geles de electroforesis obtenidos con cebadores RAPD en 24 híbridos de gerbera (*Gerbera x híbrida*).

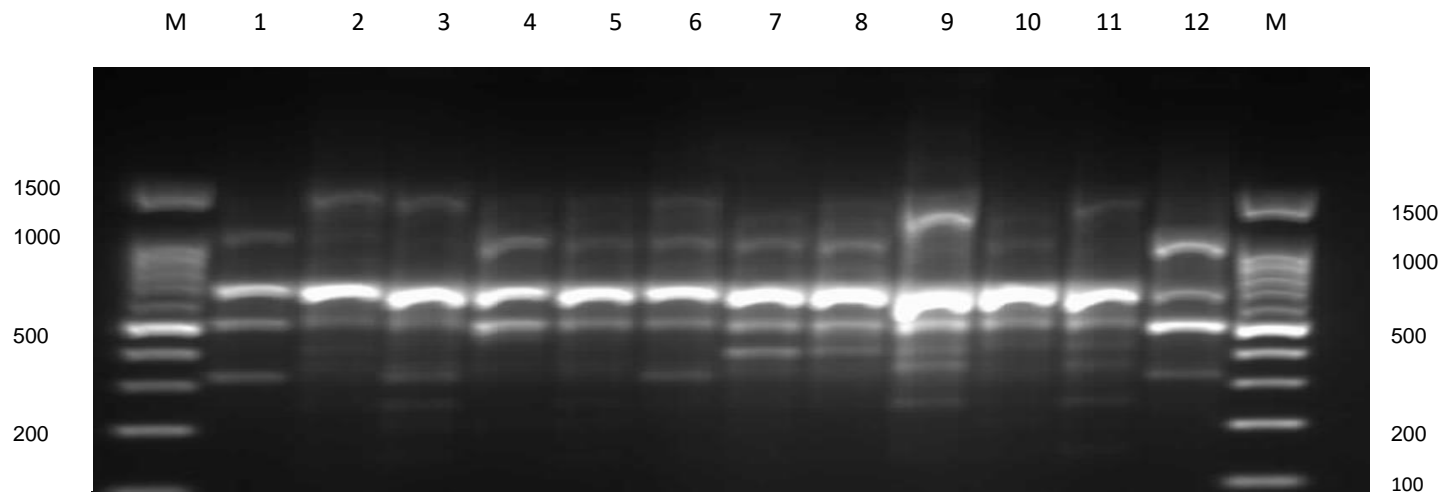
Anexo 8.1. Gel de electroforesis del cebador OPA 1 (híbrido 1-12)



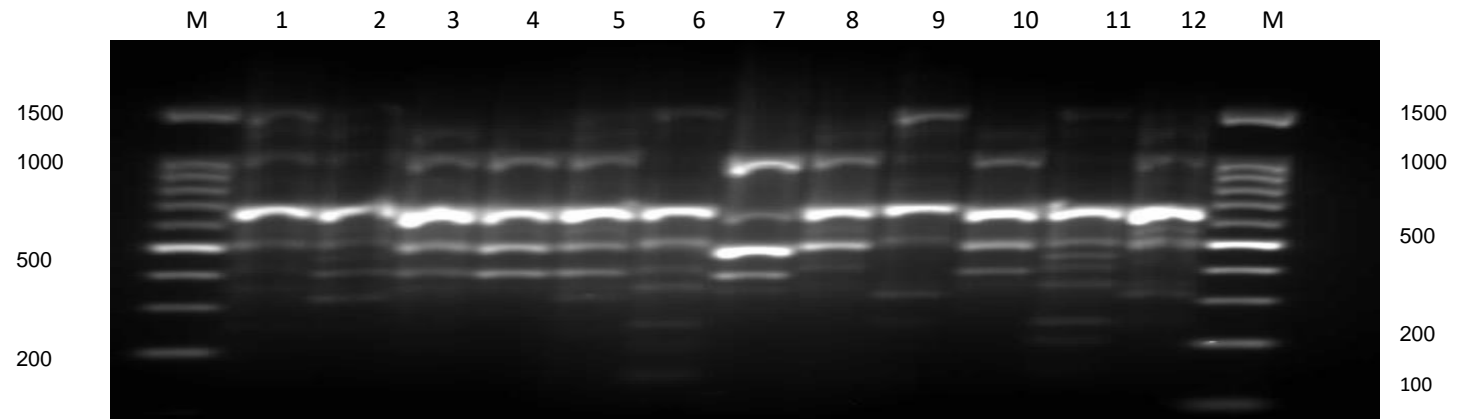
Anexo 8.2. Gel de electroforesis del cebador OPA 1 (híbrido 13-24)



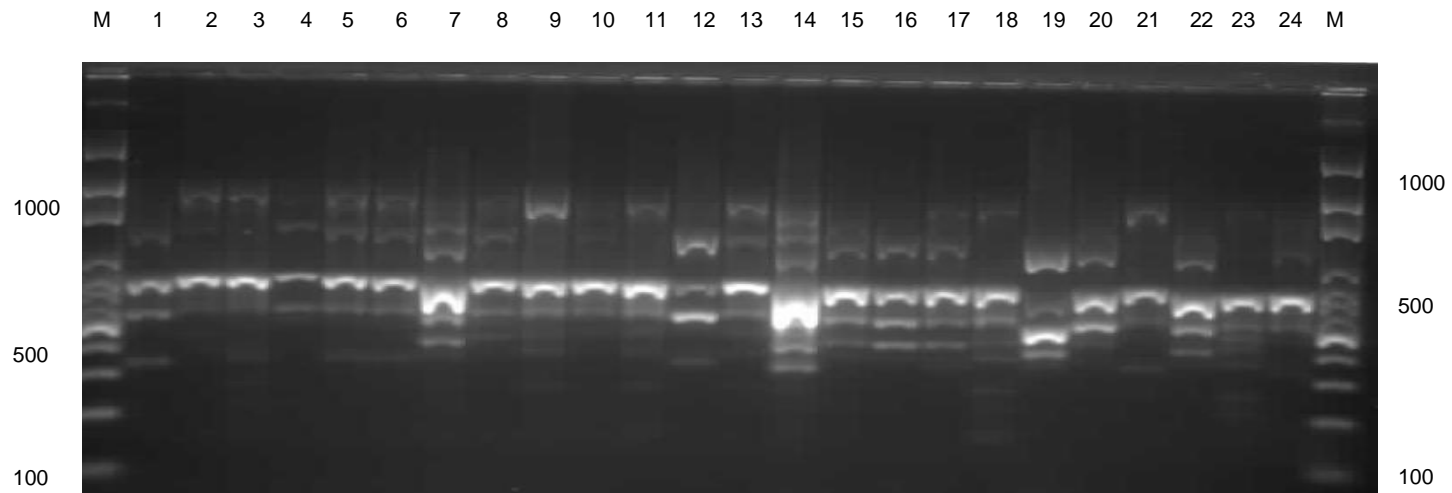
Anexo 8.3. Gel de electroforesis del cebador OPA 19 (prueba de repetitibilidad, híbrido 1-12).



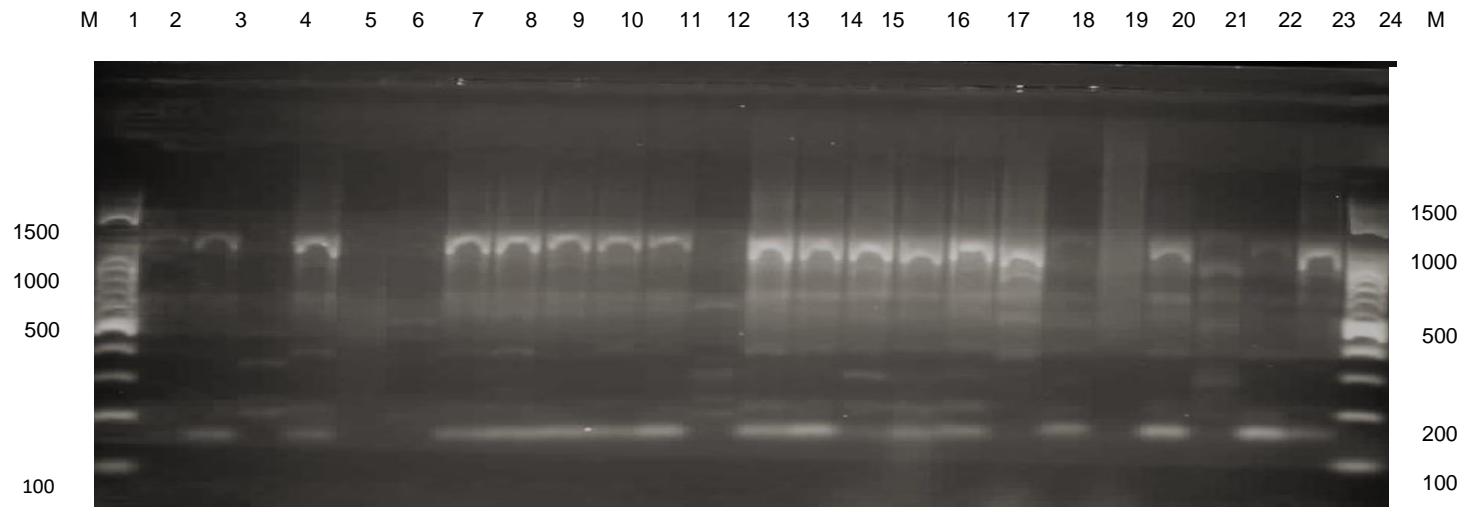
Anexo 8.4. Gel de electroforesis del cebador OPA 19 (prueba de repetitibilidad híbrido 13-24).



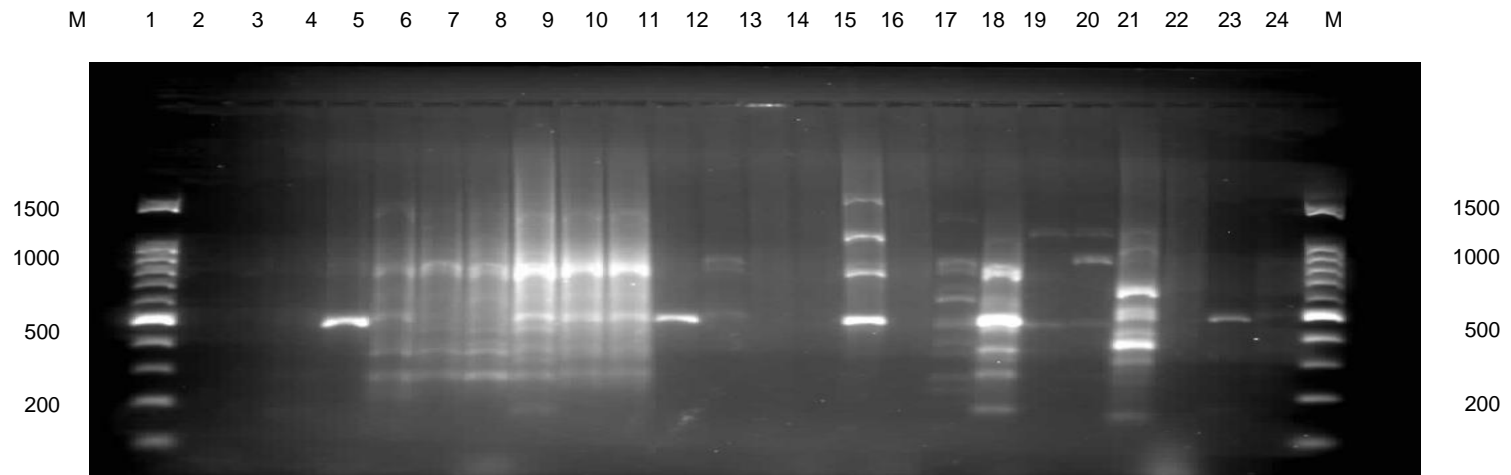
Anexo 8.5. Gel de electroforesis del cebador OPA 19 (prueba de repetitibilidad).



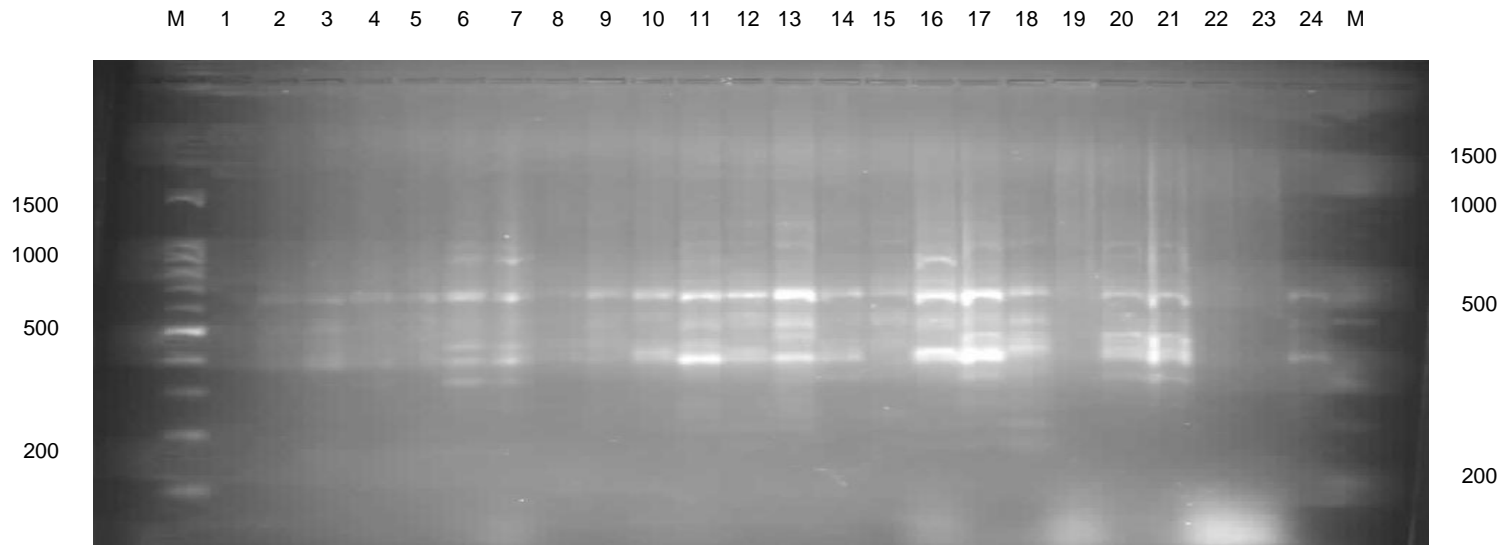
Anexo 8.6. Gel de electroforesis del cebador OPB10 (híbrido 1-24)



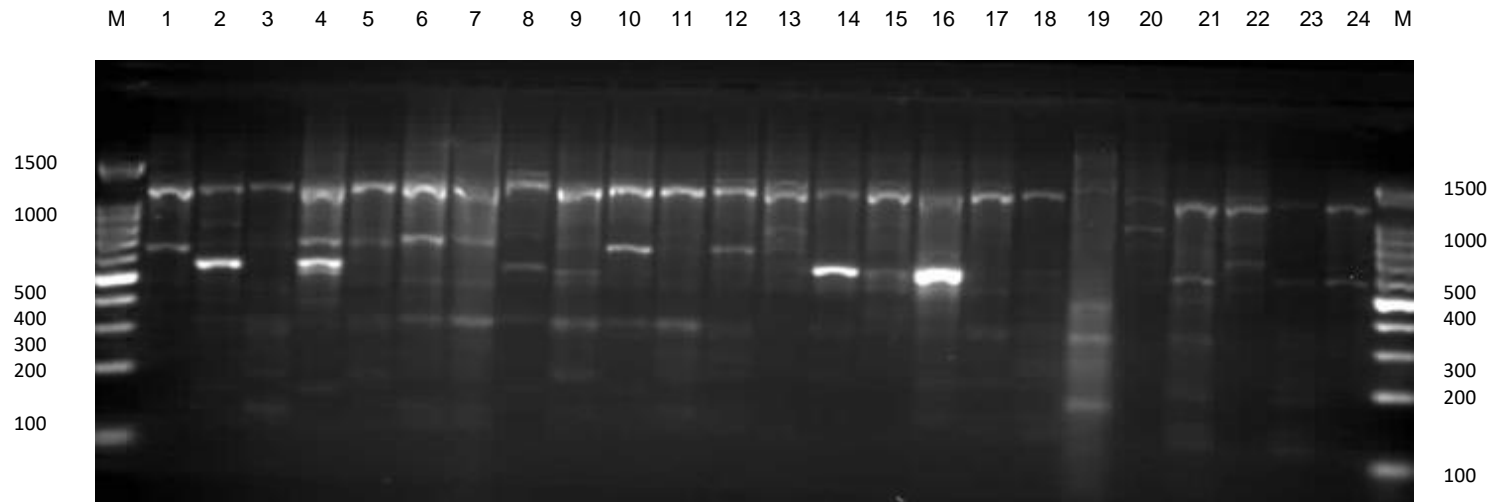
Anexo 8.7. Gel de electroforesis del cebador OPA10 (híbrido 1-24)



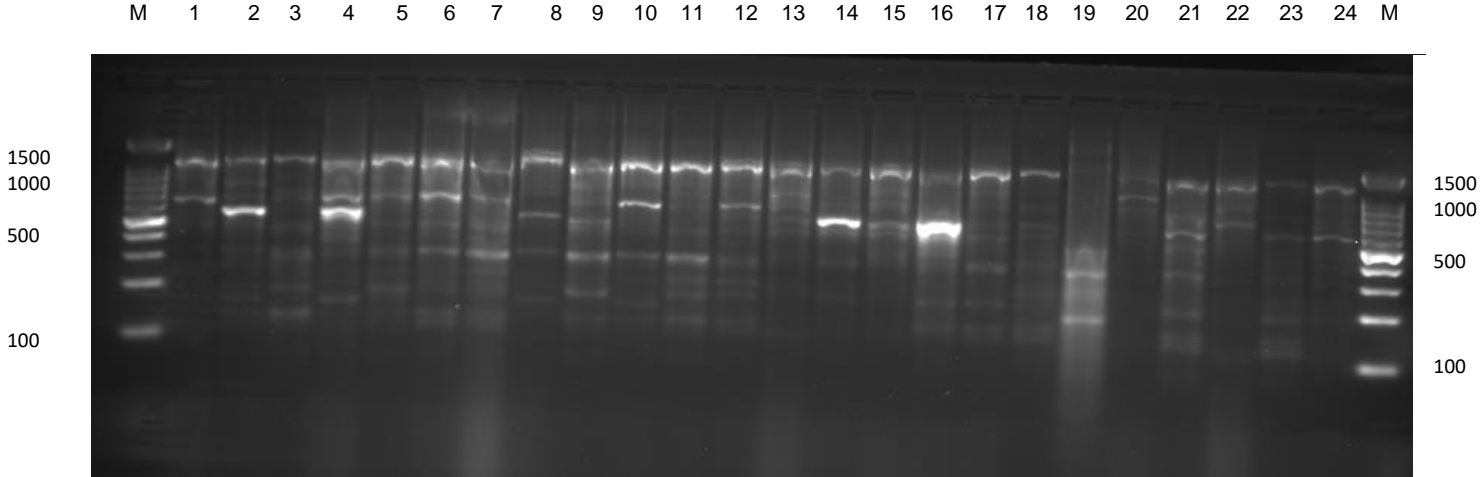
6.- **Anexo 8.8.** Gel de electroforesis del cebador OPB20 (híbrido 1-24)



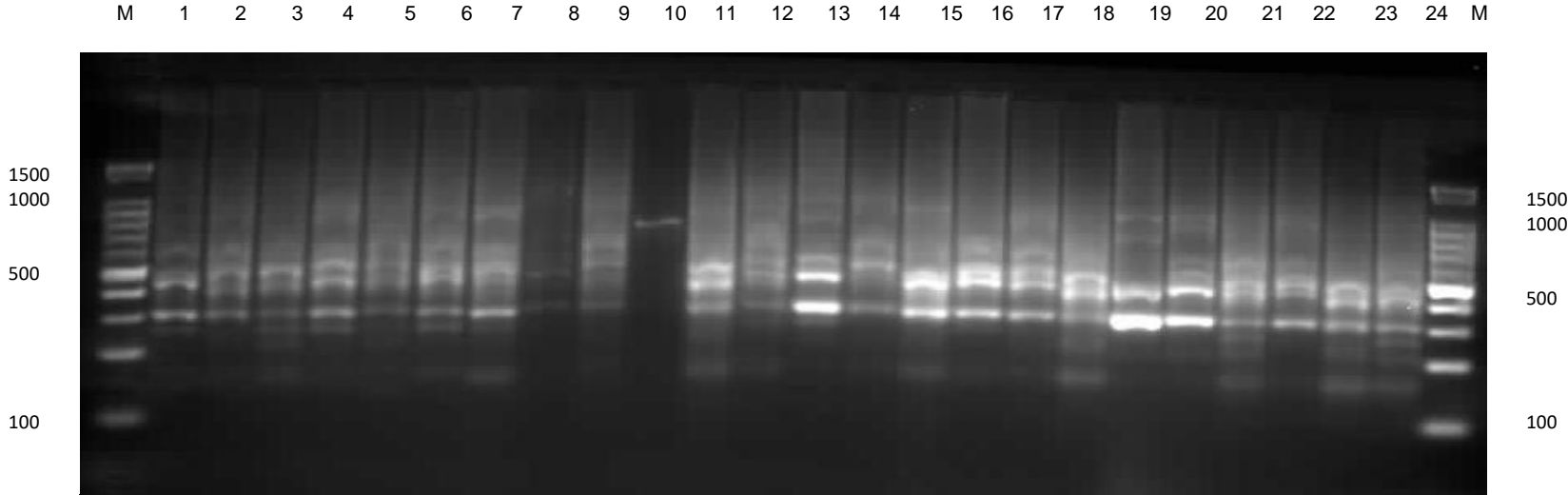
Anexo 8.9 Gel de electroforesis del cebador OPA8 (prueba de repetitibilidad)



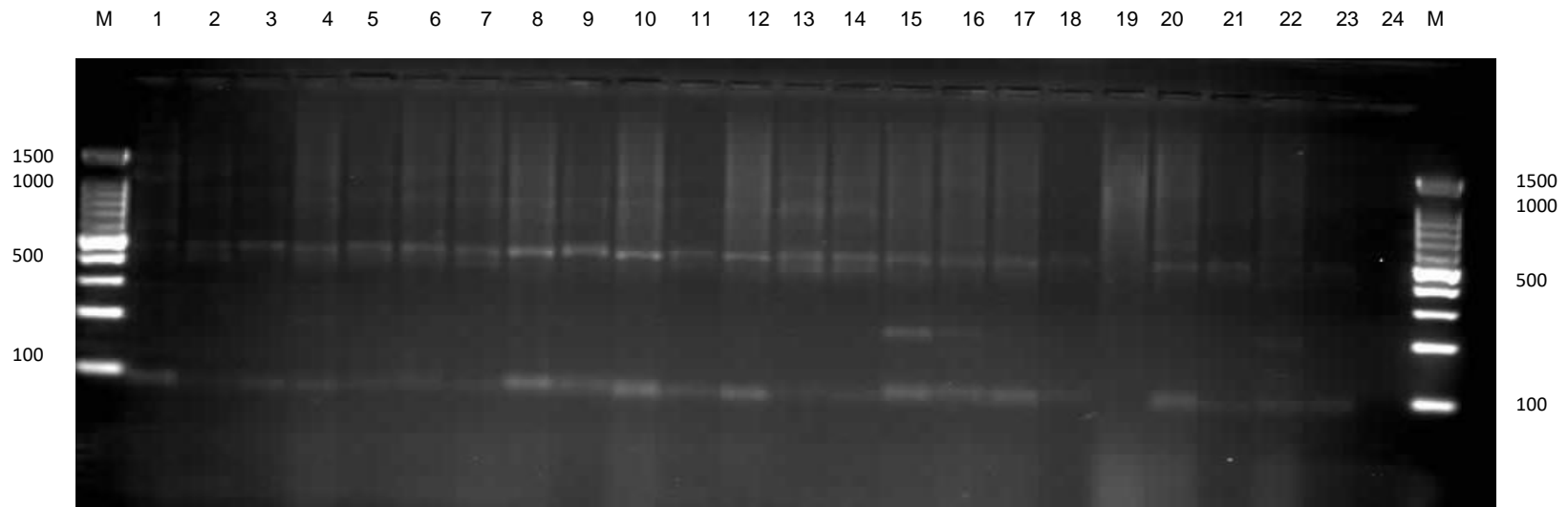
Anexo 8.10. Gel de electroforesis del cebador OPA8 (prueba de repetitibilidad)



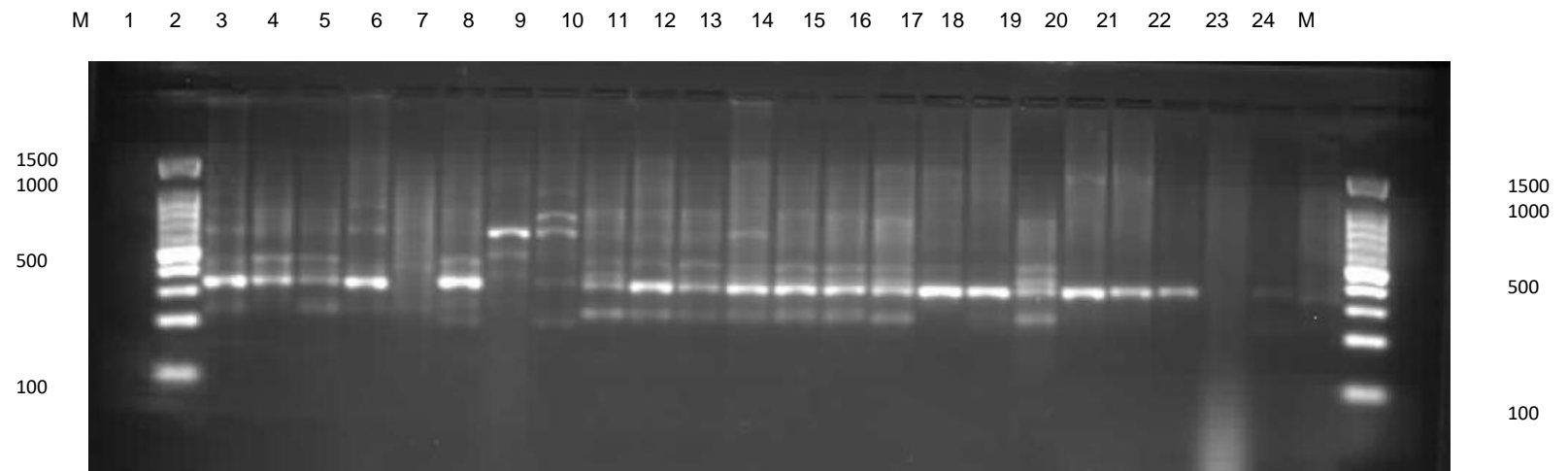
Anexo 8.11. Gel de electroforesis del cebador OPA17



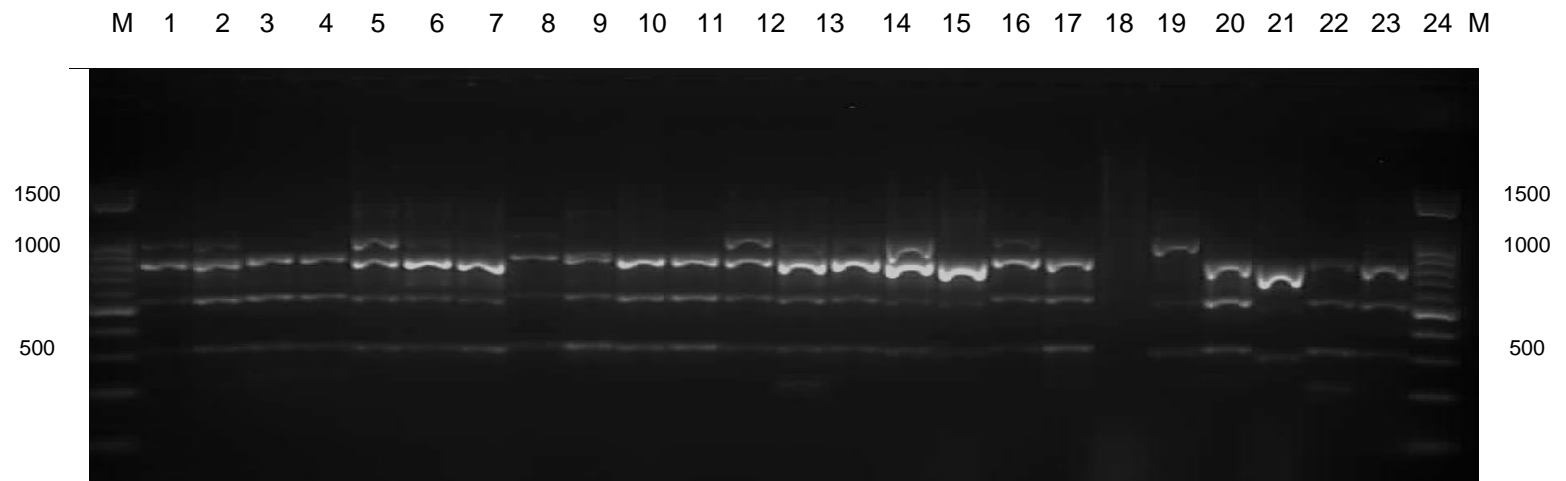
Anexo 8.12. Gel de electroforesis del cebador OPA13



Anexo 8.13. Gel de electroforesis del cebador OPB14



Anexo 8.14 Gel de electroforesis del cebador OPB7



Anexo 9. Variedades de Gerbera registradas en México. (UPOV, 2017).

No.	Código	Tipo	Nombre botánico	No. de solicitud	Fecha de solicitud	No. de concesión	Denominación
1	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	724	18/01/2007	23/01/2008	CRUISER
2	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	725	18/01/2007	23/01/2008	POPOV
3	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	726	18/01/2007	23/01/2008	HEATWAVE
4	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	727	18/01/2007	23/01/2008	AVE MARIA
5	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	977	04/09/2008		KLEGJ07162
6	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	1190	09/04/2010		SAROLTA
7	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	1192	09/04/2010	16/05/2012	PALM BEACH
8	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	1306	17/05/2011	07/06/2013	GRANDOLA
9	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	1307	17/05/2011		AQUA MELONE
10	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	1308	17/05/2011		SCH8508
11	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	1839	01/09/2014		FERNANDA
12	GERBE	PBR	<i>Gerbera</i> L.	1931	20/03/2015	19/01/2016	BEAUDINE
13	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	643	08/05/2006		ADVANCE
14	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	644	08/05/2006		DUNE
15	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	645	08/05/2006		ZINGARO
16	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	646	08/05/2006		PURPLE PRINCE
17	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	647	08/05/2006		SAZOU
18	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	648	08/05/2006		FIGURELLA
19	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	649	08/05/2006		YUCATAN
20	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	650	08/05/2006		SUPERNOVA
21	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	651	08/05/2006		AVANT GARDE
22	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	652	08/05/2006		FICTION
23	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	653	08/05/2006		AMULET
24	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	757	11/05/2007	19/12/2007	SUPERNOVA
25	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	758	11/05/2007	19/12/2007	PURPLE PRINCE
26	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	759	11/05/2007	19/12/2007	FIGURELLA
27	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	760	11/05/2007	19/12/2007	DUNE
28	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	761	11/05/2007	19/12/2007	ADVANCE
29	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	762	11/05/2007	19/12/2007	AVANT GARDE
30	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	763	11/05/2007	19/12/2007	AMULET
31	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	764	11/05/2007	19/12/2007	ZINGARO
32	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	782	12/07/2007	29/08/2008	QUOTE
33	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	868	27/02/2008	11/06/2010	BALANCE
34	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	869	27/02/2008	11/06/2010	CACHARELLE
35	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	870	27/02/2008	11/06/2010	SALVADORE
36	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	987	24/09/2008	14/08/2015	KLEGJ06053
37	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1036	30/03/2009	10/08/2011	ENTOURAGE
38	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1037	30/03/2009	10/08/2011	FLOTIMA
39	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1038	30/03/2009	10/08/2011	FLOPICO

40	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1039	30/03/2009	10/08/2011	FORZA
Cont. Anexo 9							
No.	Codigo	Tipo	Nombre botánico	No. de solicitud	Fecha de solicitud	No. de concesión	Denominación
41	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1041	14/04/2009	30/11/2011	RAFFINNE
42	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1042	14/04/2009	30/11/2011	INTENSE
43	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1043	14/04/2009	30/11/2011	BRILLIANCE
44	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1044	14/04/2009	30/11/2011	EXPLORER
45	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	1045	14/04/2009	30/11/2011	KILIMANJARO
46	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i> Bolus ex Hook. F.	1326	05/07/2011	27/02/2013	LANCASTER
47	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i> Bolus ex Hook. F.	1327	05/07/2011	27/02/2013	CHEVELLE
48	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i> Bolus ex Hook. F.	1328	05/07/2011	27/02/2013	NUANCE
49	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	2085	21/01/2016	28/11/2016	FLOFARAO
50	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	2086	21/01/2016	28/11/2016	SAMARAS
51	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	2087	21/01/2016	28/11/2016	DIABOLO
52	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	2088	21/01/2016	28/11/2016	SHIMMER
53	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	2089	21/01/2016	28/11/2016	BRAVOURE
54	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera</i> Cass. <i>Jamesonii</i>	2120	08/04/2016	16/01/2017	GRANDORADO
55	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	2315	09/01/2017		FLOWBALL
56	GERBE_JAM	PBR	<i>Gerbera jamesonii</i>	2316	09/01/2017		DREAMLINE

Anexo 10. Funciones de diversos productos químicos, reactivos y tampones utilizados en la presente investigación.

1. **CTAB:** es un detergente fuerte, que ayuda a la lisis o ruptura de la pared celular, utilizada durante la extracción de ADN en la preparación del tampón de extracción.
2. **Tris:** ayuda a mantener el pH del buffer en 8.0
3. **NaCl:** Mantiene el equilibrio iónico y ayuda en la separación de diferentes restos orgánicos disueltos durante la extracción de ADN.
4. **Polivinilpirrolidona:** ayuda en la eliminación de compuestos fenólicos.
5. **β -Mercaptoetanol:** elimina las proteínas en el proceso de extracción de ADN
6. **EDTA:** es un fuerte agente quelante que desvía la concentración de iones Mg^{2+} en la solución al extraer ADN.
7. **Cloroformo:** elimina las proteínas y permite la eliminación de trisfenol saturado mientras se purifica el ADN.
8. **Alcohol isoamílico:** elimina las proteínas.
9. **Propanol:** ayuda en la precipitación del ADN.
10. **ARNasa:** eliminación de ARN mientras se purifica el ADN.
11. **Tris fenol saturado:** elimina las proteínas de histonas en el ADN.
12. **70% de etanol:** absorbe la humedad y las sales en el sedimento de ADN y actúa como un agente humectante, ayuda a una mejor penetración del buffer TBE.
13. **Tampón TBE:** disuelve los gránulos de ADN y mantiene el pH a 8.0.

Anexo 11. Artículo publicado

Artículo Científico



Rev. Fitotec. Mex. Vol. 42 (2): 155 - 162, 2019.

APTITUD COMBINATORIA Y HETEROSIS EN VARIEDADES

DE GERBERA (*Gerbera x híbrida*)

COMBINING ABILITY AND HETEROSIS IN GERBERA

(*Gerbera x híbrida*) VARIETIES

Azucena Rivera-Colín¹, Jaime Mejía-Carranza*, Luis M. Vázquez-García¹, Elizabeth Urbina-Sánchez¹, Marithza G. Ramírez-Gerardo²

¹Centro Universitario Tenancingo, Universidad Autónoma del Estado de México. Km 1.5 Carretera Tenancingo - Villa Guerrero, C.P. 52400, Tenancingo, Estado de México, México.

²División de Ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable, Tecnológico de Estudios Superiores de Villa Guerrero. Carretera Federal Toluca - Ixtapan de la Sal, La Finca, 51760 Villa Guerrero, Estado de México, México.

*Autor de correspondencia (jmejia@uaemex.mx)

RESUMEN

Los cultivos que cuentan con un número considerable de variedades cultivadas, como la gerbera (*Gerbera × hybrida*), pueden ser evaluados mediante experimentos de cruzas dialélicas para la formación de nuevos híbridos. El objetivo de la presente investigación fue estimar la aptitud combinatoria general (ACG) de seis variedades de gerbera y la aptitud combinatoria específica (ACE) de sus cruzas dialélicas, así como la heterosis en componentes de rendimiento y calidad de flores. Se empleó el método 1 de progenitores y sus cruzas F1 directas y recíprocas con el modelo II de efectos aleatorios de Griffing. La evaluación se realizó bajo un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. El análisis estadístico detectó diferencias significativas ($P \leq 0.01$) dentro y entre progenitores y cruzas, así como en las interacciones, lo que evidenció amplia variabilidad entre progenitores y efectos maternos significativos por herencia citoplásmica. Los mayores efectos de ACG ($P \leq 0.01$) para rendimiento de tallos florales lo tuvieron los progenitores IGL, MG2 y FAS, mientras que los mayores efectos de ACE los mostraron las cruzas FAS × JES, ALC × IGL y DIN × IGL. Se encontraron efectos positivos de heterosis para rendimiento en las cruzas FAS × IGL, JES × IGL, ALC × IGL, DIN × IGL, MG2 × IGL y FAS × MG2. Los resultados sugieren que Igloo y Fascination pueden ser utilizados como progenitores superiores en programas de cruzamiento para desarrollo de nuevas variedades de gerbera. Los valores altamente significativos de ACG para rendimiento de flor indican la importancia relativa de la acción génica aditiva sobre los efectos no aditivos.

Palabras clave: Gerbera × hybrida, aptitud combinatoria general, aptitud combinatoria específica, cruzas dialélicas, heterosis, rendimiento, calidad de flor.

SUMMARY

Crops that have a considerable number of cultivated varieties such as gerbera (*Gerbera × hybrida*) can be evaluated by diallel cross experiments for the formation of new hybrids. The aim of this research was to estimate the general combining ability (GCA) of six varieties of gerbera and the specific combining ability (SCA) of their diallel crosses and the heterosis on yield components and flower quality. The Griffing method 1 of parents and their direct and reciprocal F1 crosses was used with model II of random effects. The evaluation was carried out under a randomized complete blocks experimental design with four replications. The statistical analysis detected significant differences ($P \leq 0.01$) within and between parents and crosses, as well as in the interactions, which showed wide variability between parents and significant maternal effects due to cytoplasmic inheritance. The greatest effects of GCA ($P \leq 0.01$) for yield of floral stems were obtained by the IGL, MG2 and FAS progenitors, while the greatest effects of SCA were shown by crosses FAS × JES, ALC × IGL and DIN × IGL. Positive effects of heterosis for yield were found in the crosses FAS × IGL, JES × IGL, ALC × IGL, DIN × IGL, MG2 × IGL and FAS × MG2. The results suggest that Igloo and Fascination can be used as superior parents in breeding programs for the development of new gerbera varieties. Highly significant GCA values for flower yield indicate the relative importance of additive gene action over non-additive effects.

Index words: *Gerbera × hybrida*, general combining ability, specific combining ability, diallel crosses, heterosis, yield, flower quality.

INTRODUCCIÓN

La floricultura en México, con más de 200 especies cultivadas, demanda una fuerte inversión, principalmente para la adquisición de material vegetativo, ya que las nuevas variedades son casi en su totalidad desarrolladas por empresas extranjeras (Gómez-Gómez, 2010); en particular, el cultivo de gerbera (*Gerbera × hybrida*) demanda hasta 80 % de inversión para la adquisición de material vegetativo, el cual es desarrollado principalmente por hibridación, técnica iniciada en esta especie desde hace más de 100 años por Robert Jameson, con las especies *Gerbera jamesonii* Bolus y *Gerbera viridifolia* Sch. (Harding et al., 1981a, 1981b; Singh et al., 2011). Una alternativa para disminuir costos de importación de material vegetativo de gerbera en México es utilizar la variabilidad genética existente, prerrequisito indispensable en un programa de mejoramiento genético para desarrollar materiales propios (Rimieri, 2017). En este sentido, el aprovechamiento de componentes como la aptitud combinatoria, con la estimación de parámetros genéticos, permite la identificación de progenitores y cruzamientos superiores (Sprague y Tatum, 1942).

La aptitud combinatoria general (ACG) y la aptitud combinatoria específica (ACE) predicen el comportamiento de los parentales y su desempeño en combinaciones híbridas, respectivamente (Sprague y Tatum, 1942). La ACG se considera asociada a la acción génica de tipo aditivo y la ACE a la de tipo no aditivo (Griffing, 1956). La ACG y la ACE pueden ser evaluadas mediante un sistema de cruzamientos dialélicos, en el que una opción es realizar todos los posibles cruzamientos entre varios parentales (Dickinson y Jinks, 1956; Griffing, 1956; Hayman, 1958; Kempthorne, 1956). Se han propuesto diferentes métodos para el análisis de diseños dialélicos (Griffing, 1956; Hayman, 1958; Kempthorne, 1956), de los cuales se distinguen cuatro métodos experimentales de cruces dialélicos, mismos que varían dependiendo de la inclusión o no de los

progenitores y los cruces recíprocos de las primeras generaciones filiales (F1) durante la evaluación.

Un aspecto importante del desempeño de los progenitores es el efecto heterótico de superioridad que éstos puedan expresar en sus híbridos para ser utilizados agronómicamente (Gutiérrez et al., 2002). De acuerdo con la gaceta oficial de los derechos de obtentor de variedades vegetales (SNICS, 2017), se tienen para gerbera 56 solicitudes de registro de nuevas variedades y si se consideran las que ya cuentan con un título de obtentor y las de dominio público, existen un poco más de 100 variedades en el mercado mexicano, las cuales representan una fuente de variabilidad genética que puede ser aprovechada en programas de hibridación para el desarrollo de nuevos materiales. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue estimar la ACG y ACE de seis variedades comerciales sobresalientes de gerbera y de sus cruzas dialélicas respectivamente, así como la heterosis en variables de rendimiento y calidad de flores mediante el método I de Griffing con el modelo II de efectos aleatorios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la obtención de las cruzas dialélicas se utilizaron seis variedades de gerbera preseleccionadas por estabilidad, calidad y rendimiento (Cuadro 1), las cuales fueron cultivadas en las instalaciones de la empresa Servicios Integrales de Horticultura Ornamental S. A. de C. V., ubicada en Villa Guerrero, Estado de México, a 18° 54' 58" latitud N y 99° 38' 37" longitud O.

Formación de híbridos y su manejo en etapa de plántula

Los cruzamientos se realizaron entre progenitores femeninos con anteras inmaduras y progenitores masculinos con antesis completa y polen abundante. El capítulo del progenitor femenino fue emasculado con pinzas y polinizado con polen del progenitor masculino y cubierto con bolsas de tela de fibra textil “pellón” para evitar contaminación con polen extraño. Las semillas F1 cosechadas a madurez fisiológica fueron sembradas, a razón de una semilla por cavidad, en charolas de germinación de 45 cavidades con sustrato de turba (Premier Peat moos®) y agrolita 2:1 (v/v) hidratado al 100 % y mantenidas a temperatura de 21 ± 3 °C y humedad relativa de 70 %.

Cuadro 1. Origen y características de variedades de *Gerbera x hybrida* utilizadas en análisis dialélico.

Variedad	CC	O	Ccap	Cd	Tipo	Ro	VF	DC	AP
Igloo (IGL)	Tn	H	Bl	V	Sm	22	12	12	60
Fascination (FAS)	Tn	H	Rs	N	Sm	20	14	12	60
Alcatraz (ALC)	Tn	H	Rj	V	Sm	17	12	11	58
Dino (DIN)	Tn	H	Am	V	Sm	16	10	11	60
Jessy (JES)	B	I	Nr	N	Sm	17	10	11	60
MG24 (MG2)	B	I	Fs	N	S	17	12	11	58

CC (casa comercial: Tn = Terra Nigra, B = Bindisirio); O (origen: H = Holanda, I = Italia); Ccap (color de capítulo: Bl = blanco, Bc= bicolor, Rs = rosa, Nr = naranja, Am = amarillo, Rj = rojo, Fs = fiusha); Cd (color de disco: N = negro, V = verde); Ro = rendimiento (tallos florales/m²/mes); VF = vida en florero; DC = diámetro de capítulo; AP = altura de pedúnculo; Tipo de capítulo (S =Sencillo, Sm = semidoble, D = Doble).

Para aprovechar mejor el material generado, y de acuerdo con la experiencia en el laboratorio, las plántulas de cada cruce utilizadas para estimar ACG y ACE se preseleccionaron primero por su crecimiento vigoroso con formación de tres o más pares de hojas verdaderas (Leffring, 1973) y después, por su buena capacidad organogénica en cultivo *in vitro*, criterios que son indispensables para el aprovechamiento y la propagación comercial de esta especie. Plántulas de 20 cm de altura de cada uno de los híbridos seleccionados se trasplantaron a macetas de 20 L con 40 % de tezontle rojo en la base y 60 % de la mezcla turba:agrolita 2:1 (v/v) en la parte superior.

Evaluación experimental y variables evaluadas

Las macetas se establecieron bajo un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Los tratamientos fueron las variedades y la unidad experimental fue una planta por maceta. Se midieron las variables rendimiento (número de tallos florales/m² /mes); altura del pedúnculo (cm), desde la base hasta el receptáculo del capítulo; diámetro del capítulo completamente abierto (cm), medido ecuatorialmente a borde de lígulas; vida en florero a temperatura ambiente en una solución de NaClO 40 ppm, medida en días, de acuerdo con la presencia de pistilos con polen abundante del exterior al interior del disco, y conservación de turgencia, forma y color de capítulos (De Jong, 1978).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza y un análisis genético de las P2 cruces formadas conforme al método I y modelo II de efectos aleatorios (Griffing, 1956). Para la estimación de la ACG y ACE sólo se evaluaron las $P(P-1)/2$ combinaciones de las cruces directas. El análisis de los datos se realizó con el programa de cómputo InfoStat (Di Rienzo et al., 2011). Las estimaciones de heterosis (H) se realizaron con base en la fórmula $H = [(F1 - VPM) / VPM] \times 100$, donde: F1 es

el valor promedio de la crusa y VPM es el valor promedio de los progenitores (Reyes, 1985). Para obtener las significancias estadísticas entre los porcentajes de heterosis obtenidos por las cruas, se realizó un análisis de varianza para cada variable y, donde el modelo detectó diferencias, se utilizó la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). Con base en la proporción relativa de los cuadrados medios de los efectos de ACG y ACE se determinó la contribución relativa de los efectos aditivos y no aditivos de las variables en estudio. Los efectos de ACG y ACE se probaron mediante la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). Los valores superiores de las medias de progenitores y cruas de las variables en estudio fueron aquellos que superaron al valor promedio de las medias más el error estándar ($\mu + ES$). Como criterio de selección de las mejores cruas se utilizó el valor del rendimiento superior a la media del mismo carácter más su error estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El desempeño de todos los progenitores y cruas en rendimiento, altura de pedúnculo, diámetro de capítulo y vida de florero fue variable y con diferencias significativas en los parámetros medidos tanto dentro, como entre progenitores y sus cruas (Cuadro 2), lo que sugiere amplia variabilidad genética entre progenitores. Resultados similares en gerbera se han reportado en trabajos afines para forma del capítulo, número de tallos por planta, índice de área foliar y número de hojas por planta (Cardoso et al., 2009; Kumari et al., 2011; Senapati et al., 2013). Con respecto a rendimiento dentro de progenitores, sólo uno de ellos (FAS) fue superior significativamente a la media, en tanto que dentro de cruas, nueve de 15 presentaron valores significativamente superiores a la media. En estas cruas destacó FAS con mayor número de participaciones como progenitor. Similarmente, para diámetro de capítulo, dentro de

progenitores, sólo el progenitor IGL fue superior significativamente a la media, en tanto que dentro de cruzas, casi la mitad (siete de 15) fueron superiores significativamente a la media, donde JES destacó como el progenitor con intervención en más cruzas.

En cuanto a vida de florero, cuatro de los seis progenitores mostraron valores superiores y significativos a la media; sin embargo, en las cruzas sólo dos de las 15 (DIN \times IGL y MG2 \times IGL) fueron superiores significativamente a la media, las cuales mostraron heterosis. La altura de planta en la mayoría de los progenitores fue superior significativamente a la media; no obstante, en las cruzas sólo cuatro de 15 fueron estadísticamente superiores. Los resultados anteriores indican que los progenitores participantes en cruzas sobresalientes pueden ser utilizados en programas de formación de híbridos intervarietales o como nuevas líneas con uno o más de los atributos considerados. Adicionalmente, también se identificaron cruzas específicas (JES \times ALC, ALC \times IGL y MG2 \times IGL) que mostraron valores superiores a su respectiva media hasta en tres de las variables evaluadas.

El análisis de varianza del dialélico detectó diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las fuentes de variación para las cuatro variables evaluadas, donde estuvieron involucrados los progenitores y las cruzas directas y recíprocas (Cuadro 3).

Cuadro 2. Medias de Rendimiento (Ro), vida en florero (VF), diámetro de capítulo (DC) y altura de pedúnculo (AP) de progenitores e híbridos F₁ de gerbera.

Progenitores	Ro (tallos/m ² /mes)	VF (días)	DC (cm)	AP (cm)
FAS	22.21*	13.96**	11.29	64.44**
JES	21	14.37**	12.07	63.31*
ALC	21.14	13.71**	11.59	63.25*
DIN	20.62	12.5	11.82	63.06
MG2	20.71	12.92*	11.94	63.41*
IGL	20.04	12.75	12.23**	66.16**
Cruzas				
FAS X JES	24.2**	12.45	11.98	63.18
FAS X ALC	21.99	12.38	12.27**	62.98
FAS X DIN	22.34**	12.32	12.09*	60.78
FAS X MG2	22.6**	11.92	11.92	62.03
FAS X IGL	22.3**	11.94	11.94	61.42
JES X ALC	22.46**	13.05	12.32**	64.03**
JES X DIN	22.19*	12.72	12.72**	61.03
JES X MG2	21.74	12.46	12.46**	63.01
JES X IGL	21.22	10.63	10.63	60.93
ALC X DIN	22.12*	11.96	11.5	64.97**
ALC X MG2	20.89	11.3	11.3	60.95
ALC X IGL	23.47**	12.55	12.49**	66.23**
DIN X MG2	22.22*	11.2	11.2	60.53
DIN X IGL	22.35**	14.95**	12	63.23*
MG2 X IGL	21.45	13.39**	13.39**	60.93
μ	21.87	12.64	11.96	62.85
ES	0.21	0.23	0.13	0.38

μ = media; ES = error estándar; * mayor que $\mu+ES$, ** mayor que $\mu+2ES$.

Cuadro 3. Cuadrados medios del análisis de varianza dialélico de seis progenitores de gerbera y sus cruzas directas y recíprocas.

Fuente de variación	G.L.	Ro	VF	DC	AP
Bloques	3	1.57*	0.18*	0.37**	0.65**
Progenitores	5	2.05**	2.22**	0.47**	14.77**
Cruzas directas	14	2.68**	4.51**	1.81**	11.81**
Cruzas recíprocas	14	4.58**	6.95**	2.07**	13.47**
Progenitores y cruzas	(35)	4.07**	5.50**	1.64**	12.16**
Progenitores x Cruzas	1	586.01**	2200.99**	128.60**	2702.43**
C. directas x C. recíprocas	1	52.85**	0.71**	4.97**	15.46**
Error	175	0.41	0.06	0.03	0.09
Total	213				
C.V.		2.94	1.88	1.50	0.49

G.L. = Grados de libertad; Ro = Rendimiento, VF = Vida en florero, DC = Diámetro de capítulo, AP = Altura de pedúnculo, C.V.: Coeficiente de variación. *= significativo a 0.05 de probabilidad; ** = significativo a 0.01 de probabilidad.

Las diferencias altamente significativas en la interacción progenitores x cruzas revelaron, en algunos casos, efectos heteróticos de las cruzas, en específico para rendimiento; sin embargo, para vida de florero el comportamiento de la mayoría de los progenitores fue superior a casi todas las cruzas. Las diferencias altamente significativas en la interacción cruzas directas × cruzas recíprocas sugieren efectos maternos por herencia citoplásmica u otra influencia del progenitor femenino (Mendoza-Elos et al., 2003), lo que deberá estudiarse más a detalle para dirigir las cruzas.

Los efectos de la ACG presentaron valores altamente significativos para rendimiento y vida de florero (Cuadro 4), lo que resalta la importancia relativa de la acción génica aditiva sobre los efectos no aditivos en dichas variables.

En los casos donde el efecto de ACG fue mayor al de ACE es recomendable hacer selección de genotipos con dichas cualidades y utilizar al menos a uno de ellos como progenitor en programas de cruza simple, ya que según Reyes et al. (2004), una cruce simple con al menos uno de sus progenitores con alta ACG puede garantizar altos valores en el rasgo evaluado. Valores significativos de ACG en componentes de rendimiento también han sido reportados para gerbera (Harding et al., 1981b) y otros cultivos como girasol (*Helianthus annuus* L.) (Kaya y Atakisi, 2004; Machikowa et al., 2011), tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) (Camposeco et al., 2015), chile (*Capsicum* sp.) (Gomide et al., 2003) y maíz (*Zea mays* L.) (Reyes et al., 2004), lo que demuestra que la acción génica aditiva constituye uno de los componentes genéticos más importantes del rendimiento en diferentes especies. Contrariamente, Sánchez-Hernández et al. (2011) en calabacita (*cucúrbita pepe* L.) reportaron que la acción génica no aditiva fue más importante en componentes del rendimiento de frutos por planta, largo de fruto y rendimiento por planta, por lo que se deben hacer evaluaciones para dirigir el mejoramiento genético de acuerdo con la especie y el carácter de interés.

Por otra parte, los efectos de ACE mostraron valores altamente significativos en vida de florero, diámetro de capítulo y altura de pedúnculo, lo que da importancia a desviaciones de la varianza aditiva como dominancia, sobredominancia o epistasis y sugieren un efecto complementario de

los progenitores involucrados en particular en las cruzas sobresalientes en dichas variables, que pudieran ser utilizados específicamente para formar nuevas líneas.

Cuadro 4. Cuadrados medios del análisis de varianza para ACG y la ACE de progenitores y cruzas de gerbera para rendimiento, vida en florero, diámetro de capítulo y altura de pedúnculo.

Fuente de variación	G.L.	Ro	VF	DC	AP
Bloques	3	0.87	0.05	0.07	44.37
ACG.	5	6.40**	4.22**	7.06	247.44
ACE.	9	0.61	4.69**	6.74**	265.50**
Error	42	1.00	0.03	0.03	64.99
Total	59				

G.L. = Grados de libertad; Ro = Rendimiento; VF = Vida en florero (días). DC = Diámetro de capítulo (cm). AP = Altura de pedúnculo (cm). ACG. = Aptitud combinatoria general; ACE. = Aptitud combinatoria específica. * = significativo a 0.05 de probabilidad; ** = significativo a 0.01 de probabilidad.

En estos casos, hibridaciones con progenitores específicos resultarían de utilidad para mejorar el carácter e incluso para generar más variabilidad genética y poder hacer selección. Resultados de ACE en *H. annuus*, especie de la misma familia que la gerbera, mostraron valores estadísticamente significativos para altura de planta (Laureti y Del Gatto, 2001).

De acuerdo con Cervantes et al. (2011), es recomendable aprovechar primero la varianza genética aditiva por selección de progenitores con buena ACG y después la varianza no aditiva por hibridación para cruza con buena ACE; sin embargo, esto depende de la proporción que representa la varianza aditiva y la de dominancia de la población estudiada con respecto a la variación genética total (Reyes et al., 2004), aunque en un programa de mejoramiento genético de gerbera, dependiendo de los objetivos específicos, se pueden considerar tanto los efectos de ACG como los efectos de ACE.

La estimación de los efectos de ACG de los progenitores mostró efectos positivos y significativos para rendimiento en las variedades FAS, MG2 e IGL (Cuadro 5), lo que indica que estas variedades tienen una alta contribución en la expresión del rendimiento y que los efectos aditivos son los más importantes; por lo tanto, pudieran incluirse como progenitores contribuyentes de alelos superiores para rendimiento en programas de formación de nuevas variedades mediante métodos de hibridación o formación de sintéticos, cuyo desempeño para un carácter determinado podría verificarse mediante una evaluación de la generación F2 (De la Cruz-Lázaro et al., 2010).

Cuadro 5. Efectos de aptitud combinatoria general y específica para rendimiento (Ro), vida en florero (VF), diámetro de capítulo (DC) y altura de pedúnculo (AP) de seis variedades y 15 cruza de gerbera.

Genotipo	Ro	VF	DC	AP
	Efectos de aptitud combinatoria general			
FAS	2.49*	-0.05	0.03	2.54
JES	1.09	-0.05	-0.05	8.92
ALC	0.57	-0.05	0.07	10.55

DIN	0.72	-0.02	0.02	16.14
MG2	6.05**	-0.05	0.09	0.24
IGL	6.41**	-0.04	0.37	2.56
Efectos de aptitud combinatoria específica				
FAS X JES	2.54**	0.04	0	0.45
FAS X ALC	0.16	-0.21	0.24	1.64
FAS X DIN	0.56	0.1	-0.01	-2.28
FAS X MG	0.36	-0.7	-0.03	-1.65
FAS X IGL	0.43	-0.04	0.03	-1.2
JES X ALC	0.3	0.52	0.28	3.06
JES X DIN	0.09	0.56	0.6	-1.67
JES X MG2	-0.82	-0.1	0.49	-0.32
JES X IGL	-0.97	-1.28	-1.3	-1.34
ALC X DIN	-0.15	-1.25	-0.66	3.67
ALC X MG	-1.85	-1.44	-0.71	-0.98
ALC X IGL	1.11*	0.44	0.52	5.36
DIN X MG2	-0.47	-1.16	-0.88	-3.12
DIN X IGL	0.04	3.23**	-0.05	0.64
MG2 X IGL	-1.33	1.27	1.5	-2.28

*= significativo a 0.05 de probabilidad; ** = significativo a 0.01 de probabilidad.

Según la magnitud de los efectos de ACE, las mejores cruzas con valores positivos y significativos fueron FAS × JES y ALC × IGL para rendimiento y DIN × IGL para vida de florero. De los seis progenitores que intervinieron en las cruzas, FAS e IGL mostraron efectos positivos y significativos de ACG, donde IGL repitió en dos cruzas, tanto para rendimiento como para vida de florero. Aun cuando los efectos de la ACG de los seis progenitores para vida de florero fueron negativos, se obtuvieron efectos positivos de la ACE en siete de las 15 cruzas; es

decir, la interacción entre los progenitores fue buena. Resultados similares han sido reportados en maíz para rendimiento (Guillen-De la Cruz et al., 2009); sin embargo, Harding et al. (1981a) para vida de florero reportaron heredabilidades bajas en sentido estrecho en gerbera, lo que sugiere avance lento en la mejora. No hubo valores significativos para diámetro de capítulo ni para altura de pedúnculo. Las cruzas que presentaron efectos con valores positivos en las cuatro variables evaluadas fueron JES \times ALC y ALC \times IGL.

La estimación de la heterosis para rendimiento indicó un efecto aditivo de las variedades en 14 de las 15 cruzas, con excepción de FAS \times DIN, cuyo valor fue negativo muy próximo a cero (Cuadro 6). Destacó para esta variable el progenitor IGL que participó en cinco (FAS \times IGL, JES \times IGL, ALC \times IGL, DIN \times IGL y MG2 \times IGL) de las siete cruzas con mayor valor heterótico, lo que lo hace un progenitor superior, que de acuerdo con De la Cruz-Lázaro et al. (2010), desde el punto de vista comercial, pudiera ser de importancia por el vigor híbrido generado.

Cuadro 6. Heterosis (%H) de 15 cruzas con respecto al promedio de progenitores para para rendimiento (Ro), vida en florero (VF), diámetro de capítulo (DC) y altura de pedúnculo (AP).

Cruza	Ro	VF	DC	AP
	(%H)			
FAS X JES	5.07	-18.80	-3.53	-1.73
FAS X ALC	1.26	-11.05	7.06	-3.60
FAS X DIN	-0.39	-6.53	6.03	-3.88
FAS X MG2	7.76	-0.80	7.27	-0.09

FAS X IGL	9.33	-8.13	4.17	-1.31
JES X ALC	5.26	-9.18	3.16	-0.90
JES X DIN	2.92	-7.21	4.37	-3.52
JES X MG2	3.63	-9.33	3.06	-2.64
JES X IGL	10.09	-7.13	-2.85	-2.76
ALC X DIN	3.51	-5.59	5.70	-2.32
ALC XMG2	3.10	-2.17	-1.42	-1.94
ALC X IGL	9.88	-10.81	-1.10	-0.80
DIN X MG2	8.52	-12.85	-6.76	-3.25
DIN X IGL	8.80	8.74	0.70	-0.98
MG2 X IGL	6.73	-1.27	3.64	-3.48

En diámetro de capítulo, 10 de las 15 cruzas mostraron un efecto aditivo de heterosis de los progenitores involucrados, donde el progenitor FAS destacó también como un progenitor superior que participó en las tres cruzas con mayor valor heterótico (FAS × ALC, FAS × DIN y FAS × MG2); sin embargo, en las variables vida de florero y altura de pedúnculo no hubo efecto aditivo, con valores negativos en todas las cruzas, excepto en la craza DIN × IGL, lo que sugiere desviaciones de aditividad en combinaciones híbridas varietales específicas

La amplitud de la heterosis para el rendimiento, que osciló de -0.39 a 10.09 %, sugiere un gradiente de divergencia genética entre los progenitores. De acuerdo con Romero et al. (2002), a mayor divergencia genética se presenta mayor heterosis, aunque también destacan que la ausencia de heterosis no necesariamente implica falta de divergencia.

De igual manera, Gutiérrez et al. (2002) reportaron que la diferencia entre los valores de ACG y ACE aumenta a medida que la divergencia genética de los materiales se incrementa, hasta un cierto límite (Hallauer et al., 2010). En tres de las cruzas con el menor valor heterótico participó DIN como progenitor, lo que sugiere que éste, junto con los otros progenitores involucrados, pudiera compartir alelos comunes para el rendimiento de gerbera.

CONCLUSIONES

El desempeño de los progenitores de gerbera y cruzas en el análisis dialélico sugiere amplia variabilidad genética entre los progenitores. Los valores altamente significativos de ACG para rendimiento de flor indican la importancia relativa de la acción génica aditiva sobre los efectos no aditivos en dicha variable. Valores altamente significativos de ACE para vida de florero, diámetro de capítulo y altura de pedúnculo dan importancia a la varianza genética no aditiva, que pudo manifestarse en cruzas específicas y los valores positivos de heterosis, lo que permite identificar a algunas variedades como progenitores superiores que, desde el punto de vista comercial, pudieran ser de gran importancia por el vigor híbrido generado.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero otorgado y a la empresa Servicios Integrales de Horticultura Ornamental S. A. de C. V., por las facilidades brindadas para la realización del trabajo experimental.

BIBLIOGRAFÍA

Camposeco M. N., V. Robledo T., L. A. Valdez A., F. Ramírez G., R. Mendoza V. y A. Benavides M. (2015) Estimación de la aptitud combinatoria en poblaciones de tomate de cáscara. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6:437-451.

Cardoso R. D. L., M. F. Grando, S. M. S. Basso, M. I. Segeren, L. Augustin e M. Suzin (2009) Caracterização citogenética, viabilidade de pólen e hibridação artificial em gérbera. *Horticultura Brasileira* 27:40- 44, <https://doi.org/10.1590/S0102-05362009000100008>.

Cervantes O. F., G. García-De los Santos, A. Carballo C., D. Bergvinson, J. L. Crossa, M. Mendoza E., E. Andrio E., J. G. Rivera R. y E. Moreno M. (2011) Estimación de efectos genéticos relacionados con el vigor de la semilla y de la plántula en maíces tropicales mexicanos. *Phyton* 80:19-26.

De Jong J. (1978) Dry storage and subsequent recovery of cut gerbera flowers as an aid in selection for longevity. *Scientia Horticulturae* 9:389-397, [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(78\)90048-1](https://doi.org/10.1016/0304-4238(78)90048-1).

De la Cruz-Lázaro E., G. Castañón-Najera, N. P. Brito-Manzano, A. GómezVázquez, V. Robledo-Torres y A. J. Lozano R. (2010) Heterosis y aptitud combinatoria de poblaciones de maíz tropical. *Phyton* 79:11-17.

Di Rienzo J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada y C. W. Robledo (2011) Infostat: Software Estadístico. Manual del Usuario. Versión 2011. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. 336 p.

Dickinson A. G. and J. L. Jinks (1956) A generalised analysis of diallel crosses. *Genetics* 41:65-78.

Gómez-Gómez A. A. (2010) La situación de las flores de corte mexicanas dentro de la política comercial internacional de México. *Tecsisistecatl* 2:1-30.

Gomide M. L., W. R. Maluf y L. A. A. Gomes (2003) Heterose e capacidade combinatória de linhagens de pimentão (*Capsicum annum* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, 27:1007-1015.

Griffing B. (1956) Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences* 9:463-493.

Guillen-de la Cruz P., E. de la Cruz-Lázaro, G. G. Castañon-Najera, R. Osorio-Osorio, N. P. Brito-Manzano, A. Lozano-del Río y U. López-Noverola (2009) Aptitud combinatoria general y específica de germoplasma tropical de maíz. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10:101-107.

Gutiérrez del R. E., A. Palomo G., A. Espinoz B. y E. De la Cruz L. (2002) Aptitud combinatoria y heterosis para rendimiento de líneas de maíz en la Comarca Lagunera, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25:271-277.

Hallauer A. R., M. J. Carena and J. B. Miranda Filho (2010) *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. Springer. New York, N. Y., USA. 663 p.

Harding J., T. Byrne and R. L. Nelson (1981a) Heritability of cut-flower vase longevity in gerbera. *Euphytica* 30:653-657, <https://doi.org/10.1007/BF00038793>.

Harding J., T. G. Byrne and R. L. Nelson (1981b) Estimation of heritability and response to selection for cut-flower yield in gerbera. *Euphytica* 30:313-322, <https://doi.org/10.1007/BF00033992>.

Hayman B. I. (1958) The theory and analysis of diallel crosses. II. *Genetics* 43:63-85.

Kaya Y., and I. K. Atakisi (2004) Combining ability analysis of some yield characters of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Helia* 27:75-84, <https://doi.org/10.2298/hel0441075y>.

Kempthorne O. (1956) The theory of diallel cross. *Genetics* 41:451-459.

Kumari A., K. S. Patel and M. Choudhary (2011) Genetic variability studies in Gerbera. *Research in Plant Biology* 1:1-4.

Laureti D. and A. Del Gatto (2001) General and specific combining ability in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Helia* 24:1-16.

Leffring L. (1973) Flower production in gerbera: I. Correlations between shoot, leaf and flower formation in seedlings. *Scientia Horticulturae* 1:221-229, [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(73\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0304-4238(73)90034-4).

Machikowa T., C. Saetang and K. Funpeng (2011) General and specific combining ability for quantitative characters in sunflower. *Journal of Agricultural Science* 3:91-95, <https://doi.org/10.5539/jas.v3n1p91>.

Mendoza-Elos M., A. López-Benitez, A. Oyervides-García, G. MartínezZambrano, C. De León y E. Moreno-Martínez (2003) Herencia genética y citoplásmica de la resistencia a la pudrición de la mazorca del maíz (*Zea mays* L.) causada por *Fusarium moniliforme* Sheld. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 267-271.

Reyes C. P. (1985) *Fitogenotecnia Básica y Aplicada*. AGT Editor. México, D. F. 460 p.

Reyes L. D., J. D. Molina G., M. A. Oropeza R. y E. C. Moreno P. (2004) Cruzas dialélicas entre líneas autofecundadas de maíz derivadas de la raza Tuxpeño. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27:49-56.

Rimieri P. (2017) La diversidad genética y la variabilidad genética: dos conceptos diferentes asociados al germoplasma y al mejoramiento genético vegetal. *Journal of Basic and Applied Genetics* 28:7-13.

Romero P. J., F. Castillo G. y R. Ortega P. (2002) Cruzas de poblaciones nativas de maíz de la raza Chalqueño: II. Grupos genéticos, divergencia genética y heterosis. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25:107-115.

Sánchez-Hernández C., C. Villanueva-Verduzco, J. Sahagún-Castellanos, J. Martínez-Solís, J. P. Legaria-Solano y M. A. Sánchez-Hernández (2011) Efectos de aptitud combinatoria en híbridos de calabacita tipo Grey Zucchini. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17:89-103.

Senapati A. K., P. Prajapati and A. Singh (2013) Genetic variability and heritability studies in *Gerbera jamesonii* Bolus. *African Journal of Agricultural Research* 8:5090-5092.

Singh S., D. Dhyani, A. Kumar Yadav and S. Rajkumar (2011) Flower colour variations in gerbera (*Gerbera jamesonii*) population using image analysis. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 81:1130-1136.

SNICS, Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (2017) Gaceta oficial de los derechos de obtentor de variedades vegetales. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Año 11, Número 27. Ciudad de México. 97 p.

Sprague G. F. and L. A. Tatum (1942) General vs. specific combining ability in single crosses of corn. *Journal of the American Society of Agronomy* 34:923-932.



Anexo 12. Artículo enviado a Revista Fitotecnía Mexicana

VARIACIÓN MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS F1 DE GERBERA

MORPHOLOGICAL VARIATION OF F1 HYBRIDS OF GERBERA

VARIACIÓN MORFOLÓGICA DE HÍBRIDOS DE GERBERA

Azucena Rivera-Colín¹, Jaime Mejía-Carranza^{1*}, Imelda Martínez-Estrada¹, Juan Carlos Reyes-Alemán¹, Andrés González-Huerta² y Marithza Guadalupe Ramírez-Gerardo³

¹Centro Universitario Tenancingo, Universidad Autónoma del Estado de México. Km 1.5 Carretera Tenancingo - Villa Guerrero, Tenancingo, Estado de México. C.P. 52400. ²Facultad de Ciencias Agrícolas, El Cerrillo, Piedras Blancas, Toluca, Estado de México. C.P. 50200. ³Ingeniería en Innovación Agrícola Sustentable. Tecnológico de Estudios Superiores de Villa Guerrero, Carretera Federal Toluca- Ixtapan de la Sal km 64.5 La Finca, Villa Guerrero, Estado de México. C.P. 51767.

*Autor de correspondencia (jmejia@uaemex.mx)

RESUMEN

El método común de mejoramiento de la gerbera (*Gerbera hybrida*) es por hibridación controlada y su multiplicación comercial es por clonación mediante cultivo *in vitro*. En México todas las variedades son importadas lo que hace costosa su producción. El objetivo de esta investigación fue identificar y analizar la variación morfológica de 24 híbridos de gerbera previamente obtenidos de cruza intraespecíficas de seis cultivares comerciales. Los híbridos se establecieron en suelo bajo invernadero con un diseño completamente al azar y se evaluaron en la etapa de floración a punto de corte a partir de 44 descriptores de la Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV) mediante análisis de varianza y multivariado. Los híbridos exhibieron el 65 % de la variación total de los descriptores empleados, con diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en variables cuantitativas e índices de 0.6 promedio entre valores extremos (menor/ mayor); el diámetro del capítulo se correlacionó positiva y significativamente con el ancho de la hoja ($r= 0.54$, $P \leq 0.01$) y con la longitud del pedúnculo ($r=0.47$, $P \leq 0.05$). Exhibieron 23 tonalidades en el color interno de la lígula exterior respecto a las seis de sus progenitores, así como presencia de los tres tipos de capítulo (sencillo, semidoble y doble). Un fenograma con coeficiente de identidad promedio de 0.712, organizó a los híbridos en cinco grupos con distancias comprendidas entre 0.3 a 0.66. Los tres primeros componentes explicaron el 66 % de la varianza total, cuyas variables con mayor aporte correspondieron al capítulo floral. El análisis discriminante agrupó a los híbridos principalmente por las variables largo y ancho de la hoja, longitud de pedúnculo y diámetro del capítulo. Los resultados permitieron identificar híbridos con alto potencial comercial para flor de corte y maceta.

Palabras clave: *Gerbera hybrida*, análisis multivariado, híbridos F₁, variación morfológica.

SUMMARY

The common method of improvement of the gerbera (*Gerbera hybrida*) is by controlled hybridization and its commercial multiplication is by cloning by *in vitro* culture. In Mexico all varieties are imported, which makes their production expensive. The objective of this research was to identify and analyze the morphological variation of 24 gerbera hybrids previously obtained from intraspecific crosses of six commercial cultivars. The hybrids were established in soil under greenhouse with a completely random design and were evaluated in the flowering stage at cut-off point from 44 descriptors of the International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) by analyses of variance and multivariate. The hybrids exhibited 65 % of the total variation of the descriptors used, with highly significant differences ($P \leq 0.01$) in quantitative variables and indexes of 0.6 average between extreme values (lower / higher); the diameter of the capitulum was positively and significantly correlated with the width of the leaf ($r = 0.54$, $P \leq 0.01$) and with the length of the peduncle ($r = 0.47$, $P \leq 0.05$). They exhibited 23 tones in the internal color of the outer ligule with respect to the six of their parents, as well as the presence of the three types of capitulum (single, semi-double and double). A phenogram with an average identity coefficient of 0.712 organized the hybrids into five groups with distances ranging from 0.3 to 0.66. The first three components explained 66 % of the total variance, whose variables with the greatest contribution corresponded to the flower head. The discriminant analysis grouped the hybrids mainly by the variables length and width of the leaf, length of peduncle and diameter of the capitulum. The results allowed to identify hybrids with high commercial potential for cut flower and flowerpot.

Index words: *Gerbera hybrida*, multivariate analysis, hybrids F_1 , morphological variation.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los cultivos ornamentales de mayor comercialización a nivel internacional destaca la gerbera (*Gerbera hybrida*) (Hansen, 2006) que ocupa el quinto lugar en producción, después de rosa (*Rosa hybrida*), clavel (*Dianthus caryophyllus*), crisantemo (*Dendrathera grandiflora*) y tulipán (*Tulipa gesneriana*). A nivel nacional el mayor productor florícola es el Estado de México, donde la gerbera ocupa la séptima posición en superficie cultivada (SIAP, 2018). Sin embargo, el material vegetativo de las variedades cultivadas procede del extranjero principalmente de Países Bajos, Israel, Japón, Francia y Alemania (SIAP, 2018), lo que genera considerable inversión tanto para su adquisición como para su multiplicación clonal que es mediante cultivo *in vitro* (Hansen, 2006; Rivera-Colín *et al.*, 2019). Al igual que otras especies ornamentales, *G. hybrida* requiere de la floricultura nacional mejoramiento genético que permita por una parte disminuir costos y por la otra ampliar la variabilidad genética para la innovación en formas y colores principalmente de sus capítulos (Prajapati *et al.*, 2014).

El mejoramiento de la gerbera comúnmente se basa en hibridación controlada entre variedades con rasgos fenotípicos de interés que se desea combinar para posteriormente hacer selección fenotípica. Los individuos de la progenie seleccionados, son propagados vegetativamente para asegurar su uniformidad y después ser comercializados en plántulas (Bhatia *et al.*, 2010). La selección fenotípica, generalmente de materiales F₁, considera diferenciación en caracteres como la morfología de las flores, el tiempo a floración, longitud de pedúnculo, rendimiento y vida en florero entre otras características, algunas veces difíciles de identificar (Rusinowski y Domeradzka, 2012). Esta dificultad también se presenta en la distinción, homogeneidad y estabilidad que son pruebas que deben cumplirse para el registro de variedades (UPOV, 2017).

En un sentido más amplio la diferenciación de caracteres fenotípicos se hace mediante la caracterización morfológica y que en conjunto con la molecular permiten la identificación de la variabilidad genética existente (Prajapati *et al.*, 2014). En este sentido, el estudio de la variabilidad puede iniciar a partir del análisis de características fenotípicas de sencilla identificación visual tales como forma de hoja, pubescencia, color de fruto, etc., que pueden servir como marcadores morfológicos para la diferenciación de un individuo con otro (Benin, 2003).

El estudio de la variación tanto fenotípica como genotípica a través de la caracterización morfológica a partir de un variado número de caracteres se ha abordado con herramientas estadísticas como el análisis multivariado en diferentes especie como cacahuete, *Arachis spp* (Benin, 2003); maíz, *Zea mays* (Cruz y Regazzi, 1994); pasiflora, *Passiflora alata* (Meletti *et al.*, 2003); lotera, *Lotus corniculatus* (Soster *et al.*, 2004); albahaca, *Ocimum basilicum* (Bortolini, 2006); y trébol blanco, *Trifolium repens* (Bortolini, 2006); los cuales han permitido el agrupamiento de individuos en similitud fenotípica con aproximación a distancias genéticas y agrupación por contribución de la varianza de sus diversas variables para la selección de progenitores que permitan mayores posibilidades de combinaciones, así como de variaciones en la descendencia que amplíen la selección (Benemann *et al.*, 2012). El objetivo del presente trabajo fue identificar y analizar la variación morfológica de 24 híbridos de *G. híbrida* a partir de 44 caracteres morfológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se hizo de 2017 a 2018 en las instalaciones de la empresa Servicios Integrales de Horticultura Ornamental SA de CV en Villa Guerrero (18° 54' 58'' N, 99° 38' 37''O) y en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular del Centro Universitario Tenancingo de la

Universidad Autónoma del Estado de México en Tenancingo Estado de México (18° 58' 4'' N, 99° 36' 44'' O). De cruza a partir de seis cultivares de gerbera, con seis colores diferentes de capítulo, todos de tipo semidoble y con colores de disco en negro y verde indistintamente (Rivera-Colín *et al.*, 2019), se seleccionaron 24 híbridos (Cuadro 1) para su evaluación morfológica.

Cuadro 1. Híbridos F₁ de *Gerbera hybrida* evaluados morfológicamente.

Nombre del híbrido	Color de capítulo		Color de disco	Tipo de capítulo
	Núm.	Descripción		
	RHS [†]			
Tayari (TAY)	47D	Rosa rojizo	Negro	SD
Magda (MAG)	58D	rosa azulado medio	Verde	S
Morelia (MOR)	48C	Rosa	Verde	SD
Fabiola (FAB)	23C	Naranja amarillento medio	Negro	S
Imelda (IME)	56B	Rosa azulado claro	Verde	D
Soledad (SOL)	4B	Amarillo medio	Negro	SD
Rafaela (RAF)	22A	Naranja amarillento oscuro	Negro	S
Fernanda (FER)	56D	Rosa azulado claro	Verde	SD
Karla (KAR)	14B	Amarillo oscuro	Negro	SD
Boris (BOR)	16C	Naranja amarillento medio	Verde	S
Lisiecka (LIS)	32C	Naranja medio	Verde	S
Nancy (NAN)	155C	blanco	Verde	S

Bob (BOB)	41C	Rojo anaranjado	Negro	SD
Melissa (MEL)	N34A	Rojo oscuro	Negro	SD
Anel (ANE)	53B	Rojo oscuro	Negro	D
Matilde (MAT)	50C	Rosa	Negro	SD
Valentina (VAL)	36C	Rosa rojizo claro	Verde	SD
Ana (ANA)	56C	Rosa azulado claro	Verde	SD
Natalia (NAT)	63C	Rosa azulado medio	Negro	SD
Refugio (REF)	62B	Rosa azulado medio	Negro	SD
Monika (MON)	4D	Rosa (amarillo claro)	Negro	SD
Carmín (CAR)	43B	Rojo claro	Verde	SD
Lilian (LIL)	72C	Rosa azulado claro	Verde	SD
Marina (MAR)	32C	Naranja medio	Verde	D

[†] Referencia de colores RHS (UPOV, 2018). D= doble, SD= semidoble, S= sencillo.

Explantos vegetativos de los híbridos F₁ se multiplicaron *in vitro* por organogénesis directa para la obtención de plántulas (Rivera-Colín *et al.*, 2019). Cuando éstas tuvieron 10 cm de altura, se establecieron bajo un diseño completamente al azar, en invernadero en camas de 30 x 0.6 x 0.4 m de largo, ancho y fondo respectivamente, con sustrato de suelo de la región (andosol) a pH de 6.4. La nutrición (Steiner, 1884) fue en fertirriego con variación en la dosificación de acuerdo a la etapa fenológica de la planta y temporada del año. La evaluación se hizo en floración en la etapa comercial de corte, cuando las dos filas exteriores de florecillas del disco del capítulo mostraron antesis. La caracterización morfológica se hizo de acuerdo a descriptores oficiales de la gerbera (UPOV, 2002) y de colores de la Real Sociedad de Horticultura, RHS (UPOV, 2018). Nueve

fueron cuantitativos y 35, de 42 cualitativos, presentes y con variación en los descendientes F₁ analizados.

Los descriptores cuantitativos se evaluaron mediante análisis de varianza, comparación de medias Tukey ($\alpha=0.05$) y análisis de correlación de Pearson. Los 35 descriptores cualitativos se analizaron a partir de 203 categorías distribuidas en las estructuras hoja, pedúnculo, capítulo, flor ligulada exterior, disco pistilo, estambre y papús.

Con la finalidad de establecer relaciones entre híbridos y variables (descriptores), se hizo análisis multivariado de ocho variables mixtas previamente seleccionadas. Cuatro cuantitativas correspondieron a aquellas con mayor varianza e importancia agronómica (ancho de la hoja, longitud del pedúnculo, diámetro de capítulo y diámetro de involucro); y cuatro cualitativos seleccionados por su variación entre los híbridos y su importancia en la selección comercial (borde de la masa de las flores internas liguladas, forma de la flor, tendencia a formar pétalos libres y color principal del lado interior de la flor ligulada). Todo el análisis estadístico se hizo con el programa InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) en las nueve variables cuantitativas (Cuadro 2). El índice promedio entre valores extremos (menor/ mayor) de las nueve variables fue de 0.6, lo que indicó un rango de variación de casi el doble del valor del híbrido de menor registro hasta el de mayor en cada variable. Las variables con mayor grado de variabilidad relativa de acuerdo a su coeficiente de variación fueron AH, DI, DC, LP, AF y AI. Resultados similares con variación significativa en largo, ancho y área de hoja, así como longitud de pedúnculo en gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) han sido reportados para valoración de cultivo en maceta (Das, *et al.*, 2012).

Cuadro 2. Medias en centímetros de nueve caracteres cuantitativos observados en 24 híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

F ₁	LH	AH	LP	DC	DI	AI	LF	AF	DD
RAF	42.7a**	14.7bc	56.4ab	11.2ab	3.59bc	2.0cd	3.6de	1.6ef	2.7cd
VAL	43.1a	17.9d	63.0cd	12.0cd	3.62bc	1.7bc	5.2gh	1.3cd	3.5h
MEL	43.8a	13.5a	55.4ab	11.9bc	3.26ab	2.4je	4.5f	1.3cd	1.8b
ANE	44.2ab	13.0a	48.2a**	12.0cd	3.19ab	1.5ab	4.6f	0.6a*	3.5h
NAN	44.8ab	15.1bc	62.0bc	12.0cd	4.08de	1.5ab	2.6a	1.3cd	3.1f
MAT	45.0ab	12.8a**	65.4d**	9.8ab	3.29ab	1.9cd	3.5cd	1.2c	1.7b
REF	46.6ab	13.7ab	63.1bc	11.4ab	3.44ab	1.7bc	4.9fg	1.3cd	2.8de
NAT	47.2bc	13.3a	54.4ab	10.9ab	2.41a**	2.3de	4.6f	1.3cd	1.8b
TAY	47.4bc	14.3bc	56.8ab	12.0cd	4.19de	1.6bc	5.4h	1.3cd	1.7b
BOR	47.8bc	18.4d**	61.9bc	11.5bc	3.8cd	2.0cd	3.0bc	1.8f**	3.4gh
SOL	47.9bc	14.2ab	57.1ab	11.4bc	4.2de	1.7bc	4.4f	1.4cd	3.5h
IME	47.8bc	14.1ab	56.0ab	11.5bc	4.3de	1.3ab	3.5cd	1.3cd	2.6cd
LIS	48.0bc	16.0bc	60.6bc	12.2cd	3.5ab	2.0cd	3.4cd	1.6f	2.5c
BOB	48.4cd	14.8bc	57.6ab	9.5a**	3.3ab	2.5e**	2.6a	1.3cd	3.5h
MAR	48.5cd	14.6bc	58.0ab	10.7ab	3.5ab	1.8cd	4.6f	1.7k	2.5c
LIL	48.8cd	13.2a	56.3ab	10.5ab	4.4e**	1.6bc	4.5f	1.2c	1.4a*
FER	49.1cd	15.1bc	61.3bc	11.9bc	3.8cd	1.9cd	3.9e	1.5de	2.8e
KAR	49.1cd	15.6bc	58.7bc	12.1cd	4.2de	2.1de	2.7ab	1.6ef	3.5h**
MON	52.5de	17.2cd	62.9bc	11.4bc	3.5ab	1.3a*	4.9fg	1.2c	3.2fg

CAR	52.8de	13.8ab	59.0bc	10.7ab	2.8a**	2.3de	5.2gh	0.8ab	2.5c
MAG	53.2e	17.4cd	64.5cd	11.9bc	3.6bc	1.6bc	3.6de	1.3cd	2.6cd
FAB	53.8e	13.3a	63.2bc	11.3ab	4.1de	2.3de	3.5cd	1.4cd	3.2fg
ANA	55.1e	18.4d	60.2bc	12.4d	3.6bc	2.4de	6.2i**	1.7f	2.5c
MOR	56.1e**	18.0d	62.6bc	12.7d**	4.3gh	1.79bc	2.6a**	0.9b	2.6cd
CV	5.04	14.95	10.1	8.8	11.5	10.67	7.03	10.09	5.05

LH= Longitud de hoja, AH= Ancho de hoja, LP= Longitud de pedúnculo, DC= Diámetro de capítulo, DI= Diámetro de involucre, AI= Altura del involucre, LF= Longitud de la flor ligulada, AF= Ancho de la flor ligulada, DD= Diámetro de Disco, CV= coeficiente de variación; * = $P \leq 0.05$, ** = $P \leq 0.01$; Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.01).

El análisis de correlación entre variables (Cuadro 3), destacó asociaciones significativas entre variables de importancia agronómica, como el diámetro del capítulo, el cual se correlacionó positiva y significativamente con el ancho de la hoja ($r= 0.54$, $P \leq 0.01$) y con la longitud del pedúnculo ($r=47$, $P \leq 0.05$); así como también el largo y ancho de la hoja se correlacionaron positivamente, con efecto directo en la superficie foliar (variable no medida), la cual de acuerdo con Magar *et al.*, (2010) incrementa el rendimiento por planta. Contrariamente, el diámetro y altura del involucre se correlacionaron significativamente ($r= -0.43$, $P \leq 0.05$) y de manera negativa.

Cuadro 3. Matriz de correlación de Pearson con 12 variables cuantitativas de híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

	LH	AH	LP	DC	DI	AI	LF	AF	DD
LH	1.00								
AH	0.40*	1.00							

LP	0.37	0.47*	1.00						
DC	0.19	0.54**	0.10	1.00					
DI	0.17	0.19	0.17	0.34	1.00				
AI	0.14	-0.08	-0.05	-0.21	-0.43*	1.00			
LF	0.02	-0.06	-0.21	0.09	-0.31	-0.01	1.00		
AF	-0.07	0.31	0.23	0.13	0.18	0.23	-0.12	1.00	
DD	0.02	0.36	0.09	0.16	0.14	0.13	-0.29	0.05	1.00

LH= Longitud de hoja, AH= Ancho de hoja, LP= Longitud de pedúnculo, DC= Diámetro de capítulo, DI= Diámetro de involucre, AI= Altura del involucre, LF= Longitud de la flor ligulada, AF= Ancho de la flor ligulada, DD= Diámetro de Disco. * = $P \leq 0.05$, ** = $P \leq 0.01$.

De acuerdo con los resultados anteriores, MOR es el híbrido de mayor potencial comercial al presentar el mayor diámetro de capítulo y entre los mejores para ancho y largo de hoja y longitud de pedúnculo, variables estrechamente asociadas con el área foliar y diámetro del capítulo (Magar *et al.*, 2010). También resultan sobresalientes VAL, LIS, MON, MAG y ANA, los cuales presentan los mayores valores de ancho de hoja, diámetro de capítulo y longitud de pedúnculo; éste último carácter, de acuerdo con Hermans *et al.*, (2006), garantiza una mayor durabilidad después de la cosecha y es uno de los caracteres que los consumidores consideran al adquirir una flor cortada. Sin embargo, otros autores (Hansen, 2006; Shwetha *et al.*, 2014) indican que los tallos florales con pedúnculos superiores a 60 cm sufren la curvatura del mismo, al igual que aquellos cultivares que tienen inflorescencias excesivamente densas y con más peso que favorecen la curvatura del pedúnculo e incluso su rompimiento. En contraste a los híbridos anteriores, ANE fue significativamente inferior para largo de pedúnculo, lo mismo para el carácter ancho de flor ligulada, que lo posicionan como un híbrido potencial para cultivo en maceta (Zheng *et al.*, 2004; Das, *et al.*, 2012).

La gama de colores del capítulo entre híbridos, conferidos por la parte interior de las flores liguladas exteriores, se amplió de seis presentes en los progenitores seleccionados (Rivera-Colín, 2019) a 23 diferentes tonalidades en los híbridos F₁ (Cuadro 1). Mientras que, en tipo de capítulo, cuando los progenitores mostraron solo tipo semidoble, los descendientes F₁ exhibieron indistintamente los tres tipos, sencillo, semidoble y doble (Cuadro 1). Esta diversidad del tipo de capítulo en los híbridos, amplía las alternativas a las demandas del mercado, al incluso ofrecer ejemplares dobles (IME, ANE Y MAR) los cuales son considerados de mayor atracción por los compradores (Das *et al.*, 2012). Referente al color del disco, éste fue indistintamente verde o negro en todos los descendientes, carácter que de acuerdo a Kloos *et al.*, (2005), es controlado por un gen mayor con dominancia para el color negro.

De 42 descriptores cualitativos propuestos por la UPOV (2002), se excluyeron siete, cinco correspondieron a descriptores para capítulos bicolor en las flores liguladas exteriores y que fueron ausentes en progenitores y descendencia F₁ de la presente investigación y otros dos correspondieron a caracteres presentes en progenitores y descendencia F₁, pero sin variación (un solo color con distribución uniforme en las flores liguladas exteriores). De 203 categorías en los 35 descriptores cualitativos, se observaron 132 en los híbridos F₁ (Cuadro 4), que en razón de proporcionalidad (observadas/ registradas), representó el 65 % de la variación total registrada por UPOV (2002).

Cuadro 4. Descriptores cualitativos y sus categorías presentes en diferentes estructuras de la planta de híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

Estructura	Descriptor	Cd	Ce	Moda
Limbo de	Abullonado	5	4	Ausente

la hoja	Pubescencia en el haz	5	4	Media
	Profundidad de las incisiones en el tercio central	3	3	Media
	Color verde del haz	3	3	Media
	Forma del ápice	5	5	Moderadamente agudo
Pedúnculo	Intensidad de la pigmentación antociánica en la base	5	4	Fuerte
	Pigmentación antociánica en la punta	2	2	Ausente
	Brácteas debajo del involucre	2	2	Ausente
Capítulo	Tipo	3	3	Semidoble
	Diámetro de la masa de las flores liguladas interiores comparado con el capítulo (variedades semidobles o dobles únicamente)	3	3	Grande
	Borde de la masa de las flores liguladas interiores	2	2	Irregular
	Posición de la parte distal de las brácteas en relación con las flores liguladas exteriores	2	2	En contacto
	Pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	2	2	Ausente
	Intensidad de la pigmentación antociánica en la parte distal de las brácteas interiores	3	2	Débil
	Nivel del ápice en relación con la punta del involucre	3	3	Mismo nivel
Flor ligulada exterior	Forma	2	2	Abobada estrecha
	Eje longitudinal	5	4	Moderadamente

		curvada hacia		
		abajo		
	Eje longitudinal	3	3	Recto
	Perfil en sección transversal de la parte mediana de la lígula	3	3	Recto
	Forma del ápice	2	2	Redondeada
	Profundidad de las incisiones	5	4	Media
	Flor ligulada exterior: tendencia a formar largos pétalos libres	2	2	Ausente
	Color del lado interno	73	24	Rojo
	Presencia de estrías	2	2	Ausente
	Color principal del lado exterior	9	6	Rosa
Disco del capítulo	Disco oscuro antes de abrirse las florecillas (variedades sencillas o semidobles)	2	2	Ausente y presente
	Variedades sencillas solamente: Color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas del disco de las hileras exteriores:	7	3	Amarillo
	Florecillas de disco de las hileras exteriores: color principal de los lóbulos del perianto (variedades semidobles y dobles únicamente)	8	7	Rojo
	Color principal de los lóbulos del perianto de las florecillas bisexuales	7	5	Rosa
Pistilo	Color principal de la parte distal (estigma)	7	4	Amarillo
Estambre	Color principal de las anteras	7	5	Anaranjado

	Color del extremo de las anteras: en relación con las demás partes	3	3	El mismo
	Rayas longitudinales en las anteras	2	2	Ausencia
Papús	Color del extremo en relación con las demás partes	3	3	El mismo
	Nivel del extremo en relación con las florecillas de disco cerradas	3	2	El mismo nivel
Total	35	203	132	

Cd=Categorías del descriptor; Ce= Categorías encontradas

Análisis de agrupamiento

La matriz de similitud para análisis de agrupamiento presentó una correlación cofenética de 0.843, que de acuerdo con Benemann *et al.*, (2012) representa un alto grado de correspondencia entre las variables analizadas y certeza en los grupos formados. El fenograma con coeficiente de identidad promedio de 0.712 (línea de corte), organizó a los híbridos de acuerdo a su similitud fenotípica en cinco grupos (Figura 1). El primer grupo incluyó a MAT, ANA, NAT, MEL y BOB, cuyo distintivo principal es el capítulo semidoble y disco de color negro (a excepción de ANA, que es verde); el segundo grupo contuvo sólo a los híbridos CAR Y RAF, los cuales no manifestaron un distintivo común en el capítulo; el tercer grupo incluyó a VAL, LIS, REF, NAN, BOR Y MAG, con distintivos de disco en color verde (excepto REF) y de tipo de capítulo sencillo (excepto REF Y VAL); el cuarto grupo que fue el más numeroso concentró a IME, KAR, FAB, MON, FER, ANE Y MOR, los cuales no mostraron un distintivo común en color de la lígula exterior ni en tipo de capítulo ni color del disco. El último grupo (5), incluyó a MAR, SOL, LIL y TAY, caracterizados por tipo de capítulo semidoble, a excepción de MAR, que lo mostro doble.

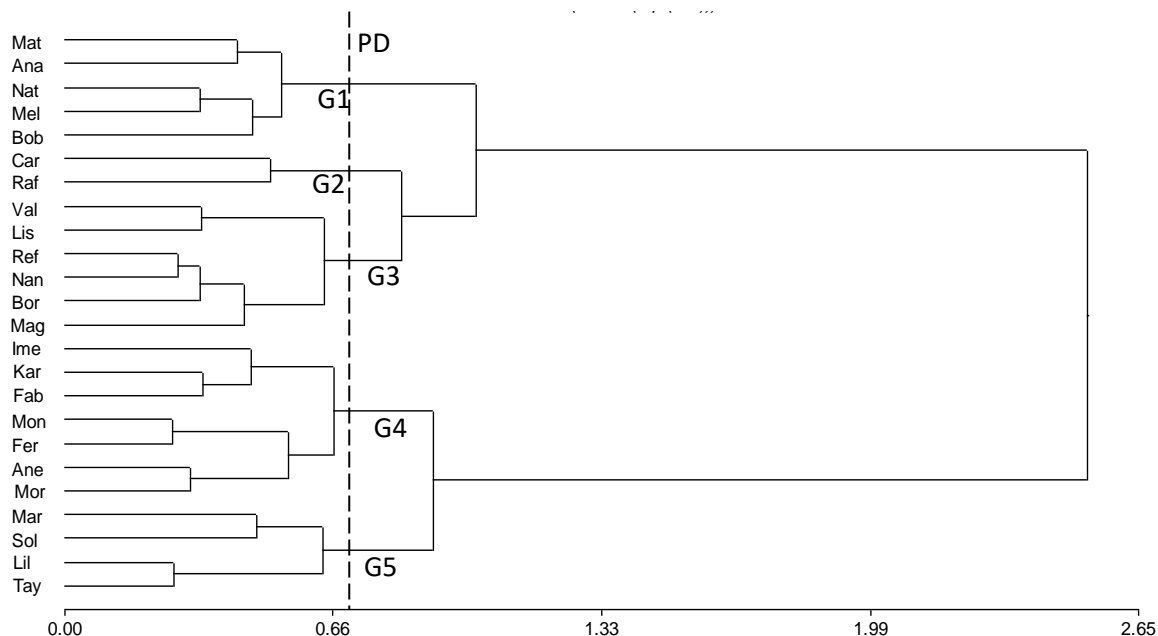


Figura 1. Análisis de agrupamiento de 24 híbridos F_1 de *Gerbera hybrida* con distancia promedio de disimilaridad (PD) de 0.712, calculados por el método de mínima varianza de Ward y distancia Gower. G= grupos (1, 2, 3, 4, 5).

El grupo cuatro con un valor de 0.66 fue el más distante, seguido estrechamente del grupo tres, ambos fueron los más numerosos. Contrariamente, el grupo con menor disimilitud fue el dos con una distancia aproximada de 0.5, aunque de forma individual, sus integrantes (CAR Y RAF) fueron los más distantes. De manera opuesta, REF, NAN, MON FER, LIL y TAY fueron los híbridos de menor disimilitud, con los valores más próximos a cero. Un estudio similar pero con diferentes cultivares y especies silvestres del género *Gerbera* (Benemann *et al.*, 2013), reportan disimilitudes de 0.0 a 0.5, lo cual sugiere una menor variación fenotípica respecto a los de la presente investigación, cuyos valores oscilaron de 0.5 a 0.66, aun cuando todos los individuos fueron de descendencia F_1 de cultivares comerciales sin ejemplares silvestres los cuales pudieran manifestar mayor divergencia genética de acuerdo con este análisis de agrupamiento multivariado.

Análisis de Componentes principales

Los tres primeros componentes principales (CP) explicaron el 66 % de la varianza total observada (Cuadro 5), donde al segundo componente la varianza acumulada fue de más del 50 %. En el CP1 las variables con mayor aportación de varianza fueron “tendencia a formar pétalos libres” y “borde de la masa de las flores liguladas interiores” (Cuadro 6); mientras que, para el CP2 fueron “diámetro del involucro” y “color principal del lado exterior de la flor ligulada exterior”; y para el CP3, las variables de mayor aporte fueron “largo del pedúnculo” y “tendencia a formar pétalos libres” (Cuadro 6). Los resultados indican que las variables asociadas a los descriptores del capítulo floral en los tres primeros componentes principales son las que mayor aporte hacen a la variación entre los híbridos evaluados.

Cuadro 5. Componentes principales de ocho variables morfológicas en 24 híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

Componente Principal	Valores propios (λ_p)	Proporción de la varianza total explicada (%)	
		Absoluta	Acumulada
		1	2.91
2	1.32	17	53
3	1.05	13	66
4	0.71	9	75
5	0.63	8	83
6	0.58	7	90
7	0.46	6	96
8	0.33	4	100

Cuadro 6. Variables con mayor aporte en la varianza de los cuatro primeros componentes principales en híbridos F₁ de *Gerbera hybrida*.

Caracteres	Componentes principales			
	1	2	3	4
Borde de la masa de las flores liguladas interiores	0.45	-0.17	-0.23	0.06
Forma de la flor	-0.39	-0.04	-0.03	0.68
Tendencia a forma pétalos libres	0.47	0.13	-0.27	0.04
Color principal del lado exterior (flor)	-0.33	0.54	-0.04	0.11
Largo de la hoja	0.39	-0.23	0.04	0.38
Largo de pedúnculo	0.12	-0.08	0.91	-0.09
Diámetro de capítulo	0.31	0.39	0.22	0.56
Diámetro de involucro	0.24	0.67	0.03	-0.25

Análisis discriminante

El análisis discriminante clasificó a los 24 híbridos en tres grupos (Figura 2), diferenciados principalmente por las variables largo y ancho de hoja y longitud del pedúnculo (Cuadro 2), las cuales afectan el tamaño de planta (Magar *et al.*, 2010). El grupo que incluye MEL, ANE y MAT, representa a híbridos de menor porte con valores bajos en largo y ancho de hoja y longitud del pedúnculo, de capítulos dobles y semidobles y de colores rojo oscuro a rosa (Cuadro 1). Otro grupo comprende a los híbridos TAY, MAG, RAF, BOR, REF, LIS, NAN, BOB, NAT, VAL, LIL, la mayoría de los cuales son de porte medio de acuerdo con los valores de largo y ancho de hoja y pedúnculo floral (Cuadro 2); éstos híbridos incluyeron colores desde blanco hasta rojo anaranjado, con tipo de disco simple y semidoble (Cuadro 1). El último grupo incluyó a los híbridos FAB, MOR, IME, SOL, FER, KAR, ANA, MON, KAR, MAR, los cuales representan a aquellos con plantas de mayor tamaño y de capítulos semidobles a dobles y de colores desde rosa

hasta rojo claro. De acuerdo con lo anterior, las variables cualitativas del capítulo floral estuvieron menos asociadas a la clasificación del análisis discriminante.

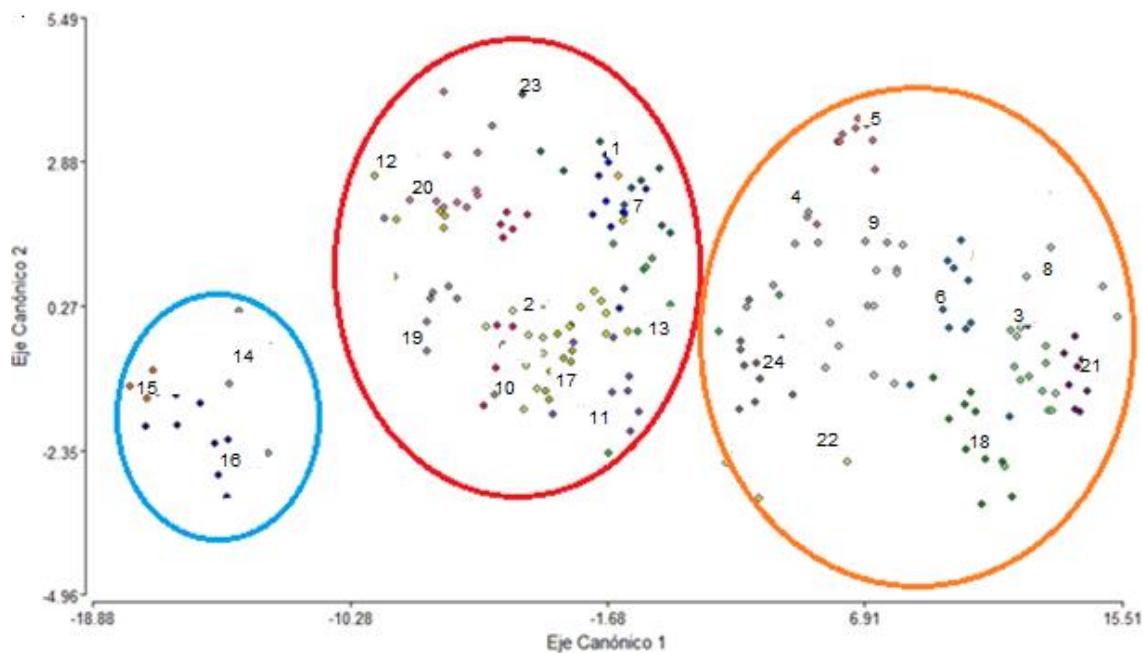


Figura 2. Análisis discriminante de 24 híbridos de *Gerbera híbrida* de acuerdo a ocho variables morfológicas. Híbridos: 1= TAY, 2= MAG, 3= MOR, 4= FAB, 5= IME, 6= SOL, 7= RAF, 8= FER, 9=KAR, 10= BOR, 11=LIS, 12=NAN, 13=BOB, 14=MEL, 15= ANE, 16= MAT, 17= VAL, 18= ANA, 19= NAT, 20= REF, 21= MON, 22= CAR, 23= LIL, 24= MAR.

CONCLUSIONES

Los híbridos exhibieron el 65 % de la variación total de los descriptores de la UPOV para esta especie, con una amplia variación respecto a sus progenitores en el color interno de la lígula exterior, así como presencia de los tres tipos de capítulo (sencillo, semidoble y doble) y sus dos colores en disco (negro y verde). Las variables cuantitativas exhibieron el doble de variación promedio entre sus valores extremos. El diámetro del capítulo, largo y ancho de hoja y longitud del pedúnculo se correlacionaron positivamente, que en análisis discriminante influyeron en la

agrupación de los híbridos. Los híbridos en fenograma se agruparon en cinco categorías con distancias de 0.3 a 0.66 que indicaron variación genética entre los híbridos. Los tres primeros componentes explicaron el 66 % de la varianza total, con variables de mayor aporte asociadas al capítulo floral. Los diferentes análisis permitieron identificar híbridos con alto potencial comercial, así como sus propósitos de uso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado para los estudios de Doctorado de Azucena Rivera Colín.

BIBLIOGRAFÍA

- Benemann D. P., L. N. Machado, L. W. P. Arge, V. J. Bianchi, A. C. Oliveira, L. C. Maia, and J. A. Peters (2012)** Identification, characterization and validation of SSR markers from the gerbera EST database. *Plant Omics Journal* 5(2):159-166, <https://www.researchgate.net/publication/287298720> Estimation of genetic variability of a Gerbera Brazilian collection based on morphological traits and EST-SSR markers
- Benemann D. P., A. L. W. Pacheco, B. W. Silva, V. J. Bianchi, M. I. Segeren and J. A. Peters (2013)** Genetic divergence among *Gerbera* spp. genotypes based on morphological Traits. *Journal of Agricultural Science* 5(5):35-45, <https://doi.org/10.5539/jas.v5n5p35>.
- Benin G. (2003)** Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.33, p.657-662, <https://doi.org/0.1590/S0103-84782003000400011>
- Bhatia R., K. P. Singh, T. Jhang and T. R. Sharma (2010)** Evaluation of the genetic fidelity of in vitro-propagated gerbera (*Gerbera jamesonii* Bolus) using DNA-based markers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 104(1):131-135, <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9806-5> .
- Bortolini F. (2006)** Caracterização morfológica e agrônômica e divergência genética em germoplasma de trevo-branco. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35(4):1601-1610, <https://doi.org/10.1590/S1516-35982006000600005> .
- Cruz C. D. and A. J. Regazzi (1994)** Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV. 390 p.

- Das C., F. H. Shabby, S. U. Habiba, M. S. Islam and A. F. M. Jamal U (2012)** Growth and Yield Performance of Exotic Potted Gerbera Cultivars (*Gerbera jamesonii* L.) *Bangladesh Research Publications Journal* 7(1):16-20, <http://www.bdresearchpublications.com/admin/journal/upload/09308/09308.pdf>.
- Di Rienzo J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada y C. W. Robledo (2016)** InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Hansen H. V. (2006)** Comments on the Gerbera-complex (Asteraceae: Mutisieae). *SIDA Contributions to Botany* 22: 539-543, [jstor.org/stable/41968606](http://www.jstor.org/stable/41968606) .
- Hermans C., J. P. Hammond, P. J. White and N. Verbruggen (2006)** How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science* 11:610-617, <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.10.007> .
- Kloos W. E., C. G. George and L. K. Sorge (2005)** Dark disk color in the flower of *Gerbera hybrida* is determined by a dominant Gene, Dc. *HortScience* 40(7):1992-1994. DOI: 10.21273/HORTSCI.40.7.1992.
- Magar S. D., S. D. Warade, N. A. Nalge and C. A. Nimbalkar (2010)** Correlation and path analysis studies in *Gerbera* (*Gerbera jamesonii*). *International Journal of Plant Sciences*, 5(2):553-555, http://www.researchjournal.co.in/upload/assignments/5_553-555.pdf .
- Meletti L. M. M., L. C. Bernacci, M. D. Soares-Scott, J. A. Filho and A. L. M. Martins (2003)** Variabilidade genética em caracteres morfológicos, agronômicos e citogenéticos de populações de maracujazeiro-doce (*pasiflora alata* Curtis). *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal 25(2), <https://doi.org/10.1590/S0100-29452003000200023> .
- Prajapati P., A. Singh, N. L. Patel, D. Singh and V. Srivastav (2014)** Evaluation of genetic diversity in different genotypes of *Gerbera jamesonii* Bolus using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Academic Journals* 13(10):1117-1122, <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13347> .
- Rivera-Colín A., J. Mejía-Carranza, L. M. Vázquez-García, E. Urbina-Sánchez y M. G. Ramírez-Gerardo (2019)** Aptitud combinatoria y heterosis en variedades de gerbera (*Gerbera x hybrida*) *Revista Fitotecnia Mexicana* 42(2):155-162, <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/42-2/8a.pdf>.
- Rusinowski Z. and O. Domeradzka (2012)** Evaluation of the Utility of the Random Amplified Polymorphic DNA Method and of the Semi-Specific PCR to Assess the Genetic Diversification of the *Gerbera jamesonii* Bolus Lines. *The Scientific World Journal*, 2012 5 pages, <https://doi.org/10.1100/2012/450920> .
- Shwetha K. B., G. K. Seetharamu, H. Ansar, and S. Anil Kumar (2014)** Assessment of *Gerbera* (*Gerbera jamesonii* Bolus ex.Hooker F.) cultivars under different growing conditions. *Madras Agriculture Journal*, 101(10-12):390-395, <http://www.ijour.net/ijor.aspx?target=ijor:joh&volume=16&issue=1and2&article=009> .

- SIAP, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2018)** Anuario estadístico de la producción agrícola. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Ciudad de México. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> (Septiembre 2020).
- Soster M. T. B., S. M. Scheffer-Basso and M Dall'Agnol (2004)** Morphophysiological characterization on the birdsfoot trefoil genotypes (*Lotus corniculatus* L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa 33(6) <https://doi.org/10.1590/S1516-35982004000700003>.
- Steiner A. A. (1984)** The Universal Nutrient Solution. Sixth International Congress on Soilless Culture, Wageningen, 633-650. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XE8581917>.
- UPOV, Unión Internacional Para la Protección de las Obtenciones Vegetales (2002)** Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la Estabilidad, Gerbera (Cass.) Unión Internacional para la Protección de las obtenciones vegetales. Ginebra. TG/77/9.
- UPOV, Unión Internacional Para la Protección de las Obtenciones Vegetales (2017)** TC/38/14.
- UPOV, Unión Internacional Para la Protección de las Obtenciones Vegetales. (2018)** Nombres de los colores de la carta de colores RHS, https://www.upov.int/meetings/en/doc_details.jsp?meeting_id=48107&doc_id=416979 (Agosto 2020).
- Zheng Y., T. Graham, S. Richard and M. Dixon (2004)** Potted Gerbera Production in a Subirrigation System Using Low-concentration Nutrient Solution. *HortScience* 39(6): 1283-1286, <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.6.1283>.