

VARIACIÓN MORFOLÓGICA DE LA HOJA DEL CHIRIMOYO

J. Andrés-Agustín¹; R. Nieto-Ángel²; A. F. Barrientos-Priego²; M. T. Martínez-Damián²;
F. González-Andrés³; S. D. Segura-Ledesma²; J. G. Cruz-Castillo⁴; C. Gallegos-Vázquez⁵

¹CRUCO-Universidad Autónoma Chapingo. Av. Periférico Independencia Pte. Núm.1000. Morelia, Michoacán. C. P. 58000. MÉXICO.
Correo-e: jandres5@hotmail.com (¹Autor responsable).

²Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO.

³Departamento de Ingeniería Agraria, Universidad de León. León. ESPAÑA.

⁴CRUCO-Universidad Autónoma Chapingo. Huatusco, Veracruz. MÉXICO.

⁵CRUCEN-Universidad Autónoma Chapingo. El Orito, Zacatecas. MÉXICO.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo caracterizar, desde el punto de vista morfométrico, a la hoja de nueve selecciones y ocho cultivares del chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.), y a las diferencias existentes en características de hoja. Se obtuvieron muestras de nueve hojas por accesión, que fueron digitalizadas y se realizaron las mediciones morfométricas con un analizador de imágenes. Para el análisis de los resultados se utilizaron, además de la correlación, el análisis de componentes principales y de agrupamiento. Los caracteres morfométricos de hoja más discriminantes fueron: el área foliar y el ángulo de la quinta vena (primer componente principal); índice de redondez y la relación eje radial/eje longitudinal (segundo componente principal); longitud del pecíolo y número de venas (tercer componente principal). Estos tres primeros componentes acumularon el 80 % de la variación total. De los caracteres señalados, el índice de redondez, la longitud de pecíolo y la relación eje radial/eje longitudinal no presentaron ningún tipo de correlación entre ellos ni con los anteriores. A partir del análisis se logró la separación de los cultivares y selecciones en seis grupos bien definidos, lo que indica que existe variabilidad morfométrica en la hoja de la especie, y que esta puede ser útil para diferenciar germoplasma, y en consecuencia para elaborar descriptores.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: *Annona cherimola* Mill., caracterización, taxonomía numérica, morfología foliar.

MORPHOLOGICAL VARIATION OF CHERIMOYA LEAVES

ABSTRACT

The objective of the present study was to characterize, from a morphometrical point of view, the leaves of nine selections and eight cultivars of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) and the differences existing in leaf characteristics. Nine-leaf samples were obtained per accession, they were digitalized and morphometric measurements were made with an image analyzer. Aside from correlation, principal components and cluster analyses were used to analyze the data. Leaf morphometric characters providing most discrimination were: leaf area and angle of the fifth vein (first principal component); index of roundness and the radius axis/length axes ratio (second principal component); petiole length and number of veins (third principal component). These three first components accumulated 80 % of the total variation. Of the characters indicated, index of roundness, petiole length, and radius axis/length axis ratio did not show any type of correlation among them nor the other previous ones mentioned. From the analysis, it was possible to separate the cultivars and selections into six well defined groups, this suggested the existence of morphometric variability for the leaves of this species, and that this variability may be useful in differentiating germplasm, and, as a consequence, in the elaboration of descriptors.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Annona cherimola* Mill., characterization, numerical taxonomy, leaf morphology.

INTRODUCCIÓN

El chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.) es una especie que tiene su centro de origen en América (De Candolle, citado por Popenoe, 1920; Safford, 1914), y aunque éste no se conoce con precisión, la mayor diversidad genética corresponde al sur de México, Centroamérica y norte de Sudamérica. En México está distribuido en las regiones

subtropicales en el sistema de huertos de traspatio y alrededor de 50 ha en huertos comerciales, cuya producción se destina principalmente al mercado regional y muy poca a la exportación; la industria no se ha desarrollado por la falta de cultivares apropiados y de tecnología de manejo que permita obtener calidad y buenos rendimientos (Andrés-Agustín, 1997).

El chirimoyo es un árbol de 4 a 9 m de altura, erguido o con sus ramas extendidas, de porte globoso y denso, con copa redondeada. El tronco es cilíndrico, de corteza gruesa y lisa, o ligeramente veteada, de color verde grisáceo. Las ramas emergen de manera irregular, son muy densas y tienen tendencia a inclinarse. Los entrenudos son largos, de hasta 20 cm en árboles jóvenes (Popenoe, 1920; Schroeder, 1997; Gardiazabal y Rosenberg, 1993). Las hojas del chirimoyo tienen un comportamiento caduco, de disposición alterna en la rama, simples (una sola lámina foliar), longitud que varía de 10 a 30 cm, de borde sin divisiones, de forma ovada a elíptica u ovada lanceolada, obtuso acuminadas en el ápice, y circulares en la base. Su color es verde oscuro a verde brillante, siendo la cara superior de un verde más oscuro que la cara inferior, de textura ligeramente pubescente en el haz y aterciopelado en el envés (Schroeder, 1997; Gardiazabal y Rosenberg, 1993). El pecíolo de la hoja es hueco en la zona de inserción con el tallo, ocultando y protegiendo las yemas que darán origen a la próxima brotación, que puede ser de flor o brote vegetativo (Ibáñez-Albiñana, 1979). La longitud del pecíolo varía de 6.0 a 12.5 mm y ligeramente pubescente (Morton, 1987).

La caracterización vegetal consiste en establecer todos los caracteres posibles de un vegetal, cuyos objetivos pueden ser la identificación de una especie o cultivar, sistemática, análisis de la diversidad genética. Para la identificación de un vegetal cuanto menos caracteres se utilicen en la caracterización es mejor, porque de esta manera el proceso será más sencillo y rápido, aunque las características que se utilicen deben ser lo más evidentes posibles (rasgos morfológicos) y además únicas del vegetal para evitar equívocos (González-Andrés, 2001). Tradicionalmente los distintos cultivares en frutales se han venido identificando por sus características fenotípicas y, generalmente se priorizan, aquellas que interesan más, desde el punto de vista agronómico y las que las experiencias indican que son más estables, haciendo referencia al porte y vigor; morfología de ramas, flores, hojas, frutos y semillas; época de floración y maduración; calidad del fruto; resistencia/sensibilidad a plagas y enfermedades. La definición de una metodología adecuada de identificación es importante en la mejora genética, para los organismos oficiales en el registro de nuevos cultivares, para el obtentor en la plena identificación y protección y para el fruticultor en la certeza del cultivar que desea utilizar (Royo-Díaz *et al.* 1994). Bookstein (1982) consideró a la morfometría como la fusión de la geometría de órganos vegetales con la biología, cuyos métodos deben, explícitamente, tomar conocimiento de dos fuentes de información totalmente distintas -la geométrica (locación) y la biológica (homología). Por otro lado, González-Andrés (2001) señaló que la caracterización morfológica de un vegetal puede estar basada en caracteres cualitativos o cuantitativos, dentro de los cuantitativos, los que consisten en medidas reciben el nombre de morfométricos. Este último concepto de morfometría es el que se utiliza en el presente estudio.

En el chirimoyo, la caracterización de cultivares se ha basado, principalmente, en caracteres morfológicos de interés agronómico del fruto (Irazazabal, 1985; Farré-Massip y Hermoso-González, 1986; Scheldeman *et al.*, 1999) y no se ha evaluado la utilidad de los caracteres cuantitativos (morfométricos) de la hoja de esta especie para caracterizar e identificar cultivares, cuya metodología ha sido probada con hojas de otras especies de frutales, tales como *Vitis vinifera* (Montero *et al.*, 1999; Carrión *et al.*, 2003) y para esclarecer las relaciones taxonómicas entre especies del género *Mammea* (Annonaceae) (Chatrou, 1996). Actualmente con los programas de análisis de imagen, se pueden realizar una serie de mediciones morfométricas de forma rápida, precisa y fácil, cuyos datos obtenidos pueden ser analizados estadísticamente, según sus propósitos. La hoja simple y de borde entero en el chirimoyo facilita más estas tareas. Por lo anterior el objetivo de la presente investigación fue caracterizar mediante variables cuantitativas y morfométricas, basados en las medidas de forma y tamaño de la hoja, algunas selecciones y cultivares del chirimoyo y validar la utilidad de la morfometría foliar para estudiar la diversidad fenotípica del chirimoyo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y condiciones de cultivo

La mayor parte de las hojas utilizadas en el estudio se obtuvieron de árboles establecidos en el Banco de Germoplasma de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S. C. (Cuadro 1), localizado en Coatepec Harinas, Estado de México (18° 46' 38" N, 99° 46' 38" O, 2,240 m de altitud). La temperatura media anual de esta población es de 16 °C, y la precipitación media anual de 1,100 mm. Otras accesiones se colectaron en plantaciones de productores de Jujacato, Carapan y Tingambato (Michoacán, México), cuyas coordenadas geográficas se ubican entre 19° 26' a 19° 51' N, 101° 49' a 102° 22' O, 1,900 a 2,198 m. La precipitación varía de 1,300 a 1,800 mm anuales, en tanto que la temperatura media anual es de 19.9 °C (Andrés-Agustín, 1997).

Muestreo de hojas, caracteres evaluados y análisis de datos

Para la caracterización morfométrica se siguió el siguiente procedimiento: 1) definición de las OTU ("Operational Taxonomic Unit", en español Unidad Taxonómica Operativa), que correspondieron a las hojas de 17 individuos estudiados; 2) muestreo, 3) elección de los caracteres (Figura 1 y Cuadro 2); 4) toma de datos correspondientes a cada carácter en las OTU; 5) análisis de datos mediante correlaciones y componentes principales. El muestreo de las hojas con pecíolo se hizo en el mes de noviembre (2002) de árboles de tres años de injertados; el número de hojas por cultivar fue de nueve, utilizando aquellas más maduras ubicadas en la posición

CUADRO 1. Selecciones y cultivares de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.) que formaron parte del estudio de caracterización morfométrica.

Cultivar o Selección (S) ²	Ubicación de la Parcela	País Donde se Registró	Principales Características del Fruto	Referencia
'Campá'	CICTAMEX ³	España	Fruto con piel umbonada y peso promedio de 235 g	Pascual <i>et al.</i> (1993)
S-266	CICTAMEX	México	Fruto con piel umbonada y peso de fruto de 823 g	Nicolás <i>et al.</i> (1996)
S-256	CICTAMEX	México	Fruto con piel lisa y peso promedio de 648 g	Nicolás <i>et al.</i> (1996)
'Burtóns'	CICTAMEX	Nueva Zelanda	Fruto con piel umbonada con peso promedio de 664.40 g	Schroeder (1997)
S-9651	CICTAMEX	México	Fruto con piel umbonada y peso promedio de 508 g	Andrés-Agustín (1997)
'White'	CICTAMEX	EUA	Fruto con piel entre impresa y tuberculada. Peso promedio de 672 g	Ellstrand y Lee (1987)
S-260	CICTAMEX	México	Fruto con piel mamilada con peso promedio 634 g	Nicolás <i>et al.</i> (1996)
S-196	CICTAMEX	México	Fruto de piel mamilada con peso de 614 g	Nicolás <i>et al.</i> (1996)
'Cortés II 31'	Jujacato	México	Fruto con piel mamilada y peso promedio de 799.53 g	Andrés-Agustín (1997)
S-Selene	Tingambato	México	Fruto con piel de tipo impreso con peso promedio de 807 g	Andrés-Agustín (1997).
S-Carapan	Carapan	México	Fruto con piel impresa y peso promedio de 700 g	Andrés-Agustín (1997)
'Fino de Jete'	CICTAMEX	España	Fruto con piel impresa y peso promedio de 250 g	Pascual <i>et al.</i> (1993)
'Bronceada'	CICTAMEX	Chile	Fruto con piel impresa-tuberculada. Peso entre 600-1300 g	Gardiazabal y Rosenberg (1993).
'Cumbe'	CICTAMEX	Perú	Fruto con piel impresa	No publicado
'Bays'	CICTAMEX	EUA	Fruto con piel impresa	Rahman <i>et al.</i> (1998).
'Concha Lisa'	CICTAMEX	Chile	Fruto con piel impresa	Gardiazabal y Rosenberg (1993).
'Chiuna 3'	CICTAMEX	Chile	Fruto con piel impresa	No publicado

²Selección de genotipo criollo.

³Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX. Coatepec Harinas, Edo.de México.

8ª o 9ª posición en la rama de crecimiento del año 2002. Los datos correspondientes a cada carácter de este órgano de los diferentes cultivares o selecciones, se separó el peciolo del limbo y se digitalizaron por separado ambas estructuras en un "escáner", y con el Programa Image Tool Ver. 2.1 (Wilcox *et al.*, 2002) se midieron los caracteres evaluados (Cuadro 2 y Figura 1).

CUADRO 2. Caracteres morfométricos básicos evaluados en hoja de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.).

Carácter	Abreviación	Tipo de medición
Área del limbo (cm ²)	AL	Automática
Perímetro del limbo (cm)	P	Automática
Índice de redondez del limbo [(4 π área)/perímetro ²]	IR	Automática
Longitud del peciolo (cm)	LP	Manual
Ángulo de la quinta vena de la base al ápice (°)	AV	Manual
Ángulo apical (°)	AA	Manual
Eje longitudinal del limbo (cm)	EL	Automática
Eje radial del limbo (cm)	ER	Automática
Número de venas secundarias del lado derecho (envés)	NNSD	Manual
Número de venas secundarias del lado izquierdo (envés)	NNSI	Manual

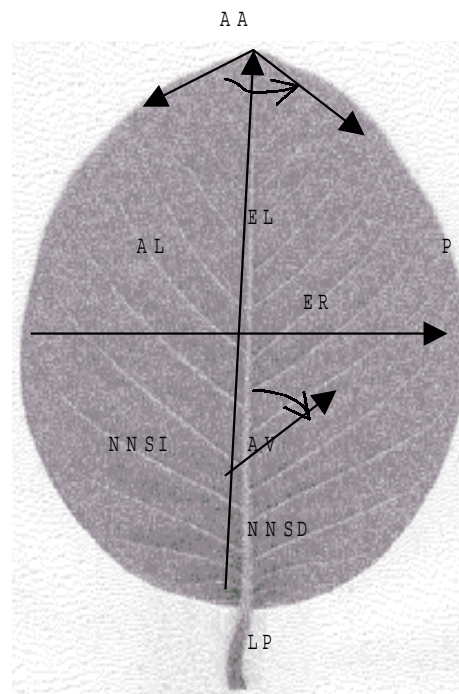


FIGURA 1. Hoja típica de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.) con la descripción de los caracteres evaluados. AL: área del limbo; P: perímetro; IR: índice de redondez; LP: longitud del peciolo; AV: ángulo de la quinta vena; AA: ángulo apical; EL: eje longitudinal; ER: eje radial; NNSD: número de venas secundarias del lado derecho; NNSI: número de venas secundarias del lado izquierdo.

Con las evaluaciones anteriores se obtuvo la primera matriz básica de datos (MBD) basados en los promedios, de la que se obtuvo un análisis de correlación de Pearson entre caracteres, y se cuantificaron aquellos caracteres altamente correlacionados ($P \leq 0.01$). Se obtuvo una nueva MBD, que se sometió a análisis de componentes principales siguiendo el procedimiento: estandarización de datos para reducir los efectos de diferentes escalas de medición, restando a cada valor el promedio de cada carácter y dividiendo el resultado por la desviación estándar del mismo; cálculo de una matriz de similitud y disimilitud entre OTU basada en el coeficiente de distancia taxonómica media que es la recomendada para los caracteres cuantitativos (González-Andrés, 2001), la respectiva proyección de las OTU en un diagrama bidimensional; finalmente se realizó el agrupación de las OTU mediante el método UPGMA ("Unweighted pair-group method using arithmetic averages"; Media aritmética no ponderada). Todos los análisis estadísticos de componentes principales y de agrupamiento se llevaron a cabo con el programa NSTYS-pc ver. 2.1 (Rohlf, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de correlación

Con el análisis de correlación de los 10 caracteres morfométricos evaluados de la hoja del chirimoyo, se encontró que el área del limbo (AL), el perímetro de la lámina (P), la longitud del pecíolo (LP) y el eje longitudinal (EL), fueron las variables que tuvieron mayores correlaciones con un nivel altamente significativo ($P \leq 0.01$), mostrando su dependencia, nada deseable para ser un buen descriptor al detectar o describir el mismo tipo de información (Cuadro 3). Estos resultados coinciden con los obtenidos en hojas de vid (*Vitis vinifera* cv. Grenache) por Manivel y Weaver (1974), donde la longitud y anchura de la hoja y la longitud del pecíolo tuvieron alta correlación con el área foliar.

Con la finalidad de identificar los caracteres altamente correlacionados y obtener variables que tengan más influencia en la diferenciación de genotipos, se decidió eliminar en el análisis las variables siguientes: perímetro

CUADRO 3. Coeficiente de correlación de Pearson entre los 10 caracteres inicialmente considerados en el estudio de hoja de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.).

Carácter	C a r a c t é r e s								
	AL	P	IR	LP	AV	AA	EL	ER	NNSD
P	0.968 0.0001 **								
ID	-0.031 0.701 ^{NS}	-0.229 0.004**							
LP	0.358 0.0001**	0.349 0.0001**	0.109 0.177 ^{NS}						
AV	-0.367 0.0001**	-0.352 0.0001**	-0.009 0.906 ^{NS}	-0.283 0.0001**					
AA	0.059 0.464 ^{NS}	-0.033 0.680 ^{NS}	0.461 0.0001**	0.106 0.190 ^{NS}	0.063 0.436 ^{NS}				
EL	0.960 0.0001**	0.965 0.0001**	-0.103 0.204 ^{NS}	0.387 0.0001**	-0.434 0.0001**	-0.088 0.274 ^{NS}			
ER	0.333 0.0001**	0.325 0.0001**	0.049 0.543 ^{NS}	0.190 0.018 ^{NS}	-0.207 0.009**	0.182 0.024*	0.312 0.0001**		
NNSD	0.370 0.0001**	0.383 0.0001**	-0.076 0.344 ^{NS}	-0.004 0.953 ^{NS}	-0.203 0.011*	-0.029 0.715 ^{NS}	0.422 0.0001**	0.115 0.155 ^{NS}	
NNSI	0.376 0.0001**	0.381 0.0001**	-0.057 0.479 ^{NS}	0.019 0.811 ^{NS}	-0.185 0.0218*	0.023 0.769 ^{NS}	0.385 0.0001**	0.188 0.019*	0.677 0.379 ^{NS}

^{NS}, *; **: no significativo y significativo a una $P \leq 0.05$ y 0.01 .

AL: área del limbo; P: perímetro; IR: índice de redondez; LP: longitud del pecíolo; AV: ángulo de la quinta vena; AA: ángulo apical; EL: eje longitudinal; ER: eje radial; NNSD: número de venas secundarias en el lado derecho de la hoja; NNSI: número de venas secundarias en el lado izquierdo de la hoja.

(P) y número de venas secundarias del lado izquierdo (NVI), ángulo apical (AA) y eje radial (ER), en tanto que las variables eje radial (ER) y eje longitudinal (EL) se relacionaron en ER/EL, utilizando solo seis variables en el análisis. Para reducir el número de caracteres, se tomó el criterio de seleccionar aquellos que aportaran más variabilidad, fáciles de medir y que aportaran un dato con un sentido biológico. Con estas nuevas variables se construyó una nueva matriz básica de datos (Cuadro 4).

CUADRO 4. Matriz básica de datos morfométricos seleccionados de la hoja del chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.), obtenida a partir del análisis de correlación.

Accesiones	AL (cm ²)	IR	LP (cm)	AV	ER/EL	NNSD
'Campas'	128.19	0.76	1.77	67.60	0.5913	13
S – 266	115.41	0.78	1.51	66.60	0.7000	13
S – 256	103.46	0.74	1.76	68.97	0.6877	13
'Burtons'	153.11	0.68	2.13	55.86	0.5772	13
S – 9651	117.64	0.71	2.06	59.13	0.6419	13
'White'	191.83	0.68	1.66	64.27	0.6575	14
S – 260	88.10	0.73	1.38	63.88	0.6159	15
S – 196	104.80	0.70	1.49	66.53	0.6638	14
S-Cortés II 31	148.96	0.74	1.91	65.12	0.5945	14
S-Selene	174.87	0.77	2.53	62.12	0.5935	15
S-Carapan	154.17	0.78	1.98	54.50	0.5974	14
'Fino de Jete'	161.02	0.80	2.04	64.22	1.0929	15
'Bronceada'	211.21	0.73	1.39	59.86	0.5806	16
'Cumbe'	172.55	0.72	1.52	56.82	0.5688	15
'Bays'	340.97	0.73	2.13	51.24	0.6025	16
'Concha Lisa'	246.94	0.77	1.99	55.29	0.6396	14
'Chiuna 3'	253.63	0.73	2.01	63.77	0.6682	14

AL: área del limbo; IR: índice de redondez; LP: longitud del peciolo; AV: ángulo de la quinta vena; ER/EL: relación eje radial/eje longitudinal; NNSD: número de venas secundarias en el lado derecho de la hoja.

A partir de esta matriz MBD, se realizó otro análisis de correlación entre caracteres (Cuadro 5); en este caso, los caracteres altamente correlacionados fueron el área del limbo (AL) con el ángulo de la quinta vena (AV) pero se creyó conveniente dejar esta última variable como descriptor por aportar un valor diferente al de los otras; el resto de los caracteres ya no presentan correlación. En consecuencia el conjunto de caracteres seleccionados es amplio para una hoja sencilla como es la del chirimoyo, y presentan un buen nivel de independencia.

Análisis de componentes principales

Los Eigen valores indicaron que el primer componente principal, aporta el 37.19 % de la variabilidad total para las individuos analizados, el segundo componente principal un 25.94 %, y el tercero, un 16.86 %. Esto significa que la combinación lineal de las variables originales representadas por los tres primeros componentes incluye el 80 % de la

variación total del conjunto de datos, mientras que si sólo se toman en consideración los componentes 1 y 2, se logra reunir el 63.13 % de la totalidad de la variabilidad existente. Por tanto, el 80 % de la variabilidad total de los tres componentes principales es suficiente para explicar la variabilidad de los individuos a través de los seis caracteres de la hoja evaluadas (Cuadro 6).

CUADRO 5. Correlación de Pearson entre los caracteres de hoja de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.), después de eliminar variables correlacionadas y generar otra en forma de relación.

Carácter	AL	IR	LP	AV	ER/EL
IR	-0.0023				
	0.9928 ^{NS}				
LP	0.3638	0.2259			
	0.1511 ^{NS}	0.3831 ^{NS}			
AV	-0.6181	0.0856	-0.3495		
	0.0082 ^{**}	0.7437 ^{NS}	0.1691 ^{NS}		
ER/EL	-0.095	0.4403	0.0828	0.2992	
	0.7143 ^{NS}	0.0769 ^{NS}	0.7519 ^{NS}	0.2432 ^{NS}	
NNSD	0.5444	0.0977	-0.046	-0.3938	0.0391
	0.0238 [*]	0.7091 ^{NS}	0.8607 ^{NS}	0.1178 ^{NS}	0.8813 ^{NS}

^{NS, *, **}: no significativo y significativo a una $P \leq 0.05$ y 0.001 .

AL: área del limbo; IR: índice de redondez; LP: longitud del peciolo; AV: ángulo de la quinta vena; ER/EL: relación eje radial/ eje longitudinal; NNSD: número de venas en el lado derecho de la hoja.

CUADRO 6. Eigen valores, porcentaje absoluto y acumulado de la varianza para los componentes principales en el estudio de hoja de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.).

Componente Principal	Valor propio (Eigen valores)	Porcentaje de Varianza (%)	Varianza Acumulada (%)
1	2.2316	37.19	37.19
2	1.5565	25.94	63.13
3	1.0119	16.86	80.00
4	0.2557	9.21	89.21
5	0.3413	5.68	94.90
6	0.3058	5.09	100.00

De acuerdo a los Eigen vectores la variable que mayor aporte tuvo en el primer componente principal fue el área foliar (AL; 0.88) y en segundo lugar el ángulo de la quinta vena (AV; -0.85). El segundo componente principal, se forma principalmente por el índice de redondez (IR; 0.83), seguido por la relación eje radial/eje longitudinal de la lámina (ER/EL; 0.80); ambos caracteres indican la forma de la hoja. El tercer componente principal está compuesto principalmente por la variable longitud de peciolo (LP; -0.69), seguido del número de venas secundarias del lado derecho (NNSD; 0.66). De acuerdo con estos resultados, las hojas de las selecciones y cultivares de chirimoyo analizadas, se diferencian principalmente por el área foliar,

índice de redondez y la longitud de pecíolo, que puede indicar que estas variables son las que aportan la mayor variabilidad de este órgano y esta especie. El área foliar mide el tamaño de hoja, el índice de redondez, la forma, en tanto que la longitud de pecíolo mide también el tamaño ya que correlaciona positivamente con el área foliar. Con estos tres caracteres, la hoja del chirimoyo puede ser caracterizada para fines de identidad de selecciones y cultivares. El análisis de componentes principales, por tanto, cumple el objetivo de seleccionar los caracteres que mejor describen la variabilidad morfológica de la hoja y por ello los mejores descriptores para este órgano vegetal (Cuadro 7).

CUADRO 7. Eigen vectores de los primeros tres componentes principales en el estudio de hoja de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.). En negritas eigen vectores con mayor valor (absoluto).

Variable	Componente Principal			
	1	2	3	4
AF	0.8824	0.0628	0.0715	0.1391
IR	-0.0063	0.8368	0.0083	-0.5422
LP	0.4772	0.4205	-0.6975	0.1810
AV	-0.8571	0.1542	0.1336	0.1278
ER/EL	-0.2202	0.8026	0.2536	0.4361
NNSD	0.6649	0.0873	0.6619	-0.0104

AL: área del limbo; IR: índice de redondez; LP: longitud del pecíolo; AV: ángulo de la quinta vena; AA: ángulo apical del limbo; ER/EL: relación eje radial/eje longitudinal; NNSD: número de venas en el lóbulo derecho de la hoja.

El diagrama bidimensional representa la proyección de los cultivares sobre los componentes principales 1 y 2 (Figura 2). Acorde con el análisis de componentes principales en el plano se pueden reunir seis grupos. Destacan en la proyección el cv. Bays que se separa por el primer componente con las variables de área del limbo y el ángulo de la quinta vena (máxima área foliar y el menor ángulo). En el segundo componente destaca el cv. Fino de Jete que se separa del resto por las variables, índice de redondez y la relación eje radial/eje longitudinal de la lámina (factores de forma, la hoja más redonda). Las demás accesiones se ubican en cuatro grupos en el centro de la proyección, ubicando a los grupos por medio de los cuadrantes, lo que responde a la proyección de los dos primeros componentes principales, lo que indica la disimilitud en la morfología foliar dentro de los grupos proyectados de selecciones y cultivares (Figura 2).

Análisis de agrupamiento

En general la agrupación (Figura 3) coincidió con los grupos proyectados por los componentes principales 1 y 2 obtenidos en el diagrama bidimensional (Figura 2).

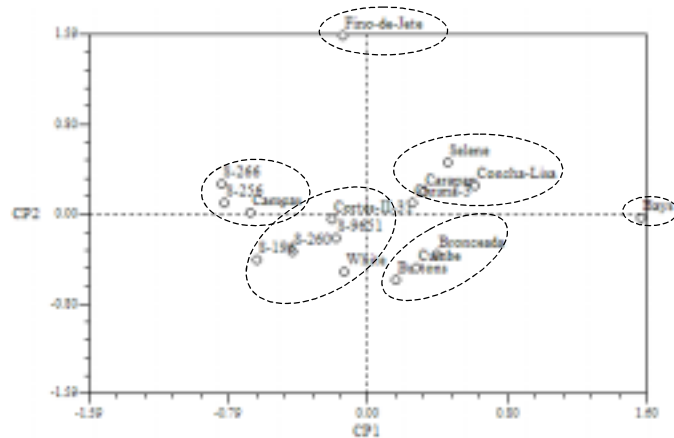


FIGURA 2. Diagrama bidimensional para datos de hoja, que muestra la proyección de las selecciones y cultivares de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.) sobre los dos primeros Componentes Principales: CP1: componente principal 1 donde área foliar y ángulo de la quinta vena tienen una mayor contribución; CP2: componente principal 2 donde el índice de redondez y la relación eje radial/eje longitudinal tienen una mayor contribución.

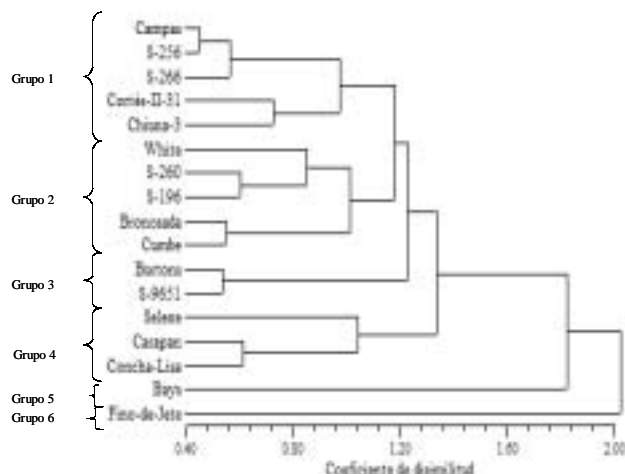


FIGURA 3. Dendrograma obtenido del análisis de agrupamiento con el método UPGMA para los caracteres morfométricos de hoja, de 17 selecciones y cultivares de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.).

Después de la obtención de los grupos, se concentraron los datos promedio de las variables evaluadas por cada grupo formado en el dendrograma; esto permite definir las principales homologías y diferencias entre caracteres de cada grupo que en algunos de ellos se trata de un solo cultivar como es el caso de 'Bays' (Grupo 5) y 'Fino de Jete' (Grupo 6 y Cuadro 5).

Con el dendrograma (Figura 3) y los datos promedio de cada grupo (Cuadro 5) se observó que el grupo uno se ubica en el nivel de disimilitud de 0.96 de los que se encuentran el cv. Campas y las selecciones 256, 266, Cortés II-31 y 'Chiuna 3', que se caracterizan por tener el mayor ángulo de la quinta vena (AV). El grupo dos se une a la distancia de 1.02, formado por los cvs. White, Bronceada y Cumbe, y las selecciones 260 y 196, mismos

que se caracterizan por tener la menor longitud de pecíolo (LP). El grupo 3 se encuentra a una distancia de 1.22, formado por el cv. Burtons y la selección 96-51 y su principal característica es la de tener el menor área del limbo (AL), índice de redondez (IR) y el menor número de venas secundarias (NNSD), lo que indica que se trata de la hoja más pequeña entre todos los grupos. El grupo 4 se ubica en una distancia de disimilitud de 1.34 y se encuentra integrado por las selecciones Selene y Carapan y el cv. Concha Lisa, caracterizándose principalmente por la mayor longitud de pecíolo. El grupo 5 se une a la distancia de 1.82 y solamente estuvo formado por el cv. Bays, el cual se caracteriza fundamentalmente por tener el mayor área del limbo (AL), número de venas (NNSD), contrariamente por el menor ángulo de la quinta vena (AV) y la menor relación del eje radial/eje longitudinal (ER/EL). El grupo 6 se encuentra a una distancia de 2.03 y se integra solamente por el cv. Fino de Jete, el cual presenta los valores más altos de índice de redondez (IR) y la relación eje radial/eje longitudinal (ER/EL), ambos caracteres indican hoja redonda.

CUADRO 5. Valores promedios de caracteres morfométricos de hoja por grupo de OTU de chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.), generado del análisis de agrupamiento y corroborado por el dendrograma.

Grupo	AL	IR	LP	AV	ER/EL	NNSD
1	149.93	0.75	1.79	66.41	0.65	13.27
2	153.70	0.71	1.49	62.27	0.62	14.80
3	135.38	0.69	2.10	57.49	0.61	13.00
4	191.99	0.77	2.17	57.30	0.61	14.33
5	340.97	0.73	2.13	51.24	0.60	16.00
6	161.02	0.80	2.04	64.22	1.09	15.00

AL: área del limbo; IR: índice de redondez; LP: longitud del pecíolo; AV: ángulo de la quinta vena; AA: ángulo apical del limbo; ER/EL: relación eje radial/eje longitudinal; NNSD: número de venas secundarias en el lado derecho de la hoja.

Los grupos formados de las OTU como resultado del análisis, muestra el nivel de disimilitud con base en los coeficientes de distancia taxonómica media (DIST de NTSYS), agrupando a los individuos similares con base en los caracteres morfométricos o cuantitativos de la hoja, cuya explicación biológica es la divergencia genética en interacción con el efecto ambiental, que se manifiesta sobre la morfología de la hoja.

Los resultados obtenidos en la morfometría coinciden con los obtenidos por Alavez-López (1997) en la región de Coatepec Harinas, Edo. de México, quien al caracterizar genotipos provenientes de semilla validó el uso del área foliar y longitud de la hoja, entre otros caracteres hortícolas del chirimoyo, para diferenciar genotipos derivados de semilla. Así mismo, Montero *et al.* (1999) concluyeron que la caracterización e identificación de cultivares de *Vitis vinifera* L. es posible con evaluaciones morfométricas de hoja,

específicamente con la relación longitud máxima/anchura máxima, índice de redondez del limbo y la superficie foliar, aunque señaló que para una caracterización total se debe completar el proceso con determinaciones cuantitativas, así como con estudios isoenzimáticos. Los mismos autores señalaron las ventajas del método de análisis de imagen frente a otras técnicas, lo que en este estudio también se corrobora, por permitir incrementar la cantidad de datos procesados, reduce el error experimental, reduce el grado de subjetividad, requiere poco tiempo, se conserva el archivo de imágenes y se puede posponer el análisis de las hojas una vez digitalizadas a una fecha posterior. Carrión *et al.* (2003) descartaron el efecto de manejo sobre la morfometría de la hoja de vid y explicó que la fuente de la variabilidad, evaluada mediante componentes principales, es debida a los caracteres de área, longitud y anchura de la hoja y la relación de las estas dos últimas, así como la longitud de la nervadura, longitud del diente de la hoja. Señalaron también que la fuente de variación puede deberse a factores ambientales y genéticos, lo que se puede comprobar por estudios de marcadores moleculares.

Al analizar la conveniencia de utilizar caracteres de la hoja para los descriptores de chirimoyo, es preciso considerar que la variabilidad genética en este cultivo es muy alta, la cual ha sido estudiada principalmente por isoenzimas para fines de identidad de cultivares (Ellstrand y Lee, 1987; Pascual *et al.*, 1993) y por AFLP (Rahman *et al.*, 1998), cuya diversidad genética puede ser producto de la evolución de la especie, la domesticación y el mejoramiento genético (Van, 1995), más específicamente por su naturaleza hermafrodita y dicogamia protogínica y la propagación por semilla (George, 1984).

Aunque los marcadores moleculares son importantes, los caracteres morfológicos han sido y son de gran interés, y hoy por hoy son los únicos reconocidos por el Reglamento Técnico de Control y Certificación de Plantas de Vivero (Royo-Díaz *et al.*, 1994). La Guía Técnica para la Descripción Varietal del chirimoyo, elaborada recientemente por el Servicio Nacional para Inspección y Certificación de Semillas (SNICS), reconoce como descriptores de hoja a la mayoría de las variables cuantitativas evaluadas: forma, tamaño y color de la lámina foliar, longitud y grosor del pecíolo y la ondulación del margen de la lámina foliar. Con los resultados obtenidos en el presente estudio se corrobora la utilidad de la mayoría de los mencionados caracteres cuantitativos para fines de diferenciación e identificación de cultivares del chirimoyo, estableciéndose la importancia de cada una de ellas.

CONCLUSIONES

Los caracteres morfométricos que más aportaron en la caracterización de hoja de las diferentes selecciones y cultivares de chirimoyo, fueron los siguientes: área del limbo, índice de redondez, longitud del pecíolo, ángulo de la quinta vena, relación eje longitudinal/eje radial y número de venas secundarias (lado derecho o izquierdo del envés).

Con el análisis de componentes principales se corrobora que son los mismos caracteres morfométricos de la hoja que contribuyeron en la diferenciación de las selecciones y cultivares, el área del limbo y ángulo de la quinta vena (primer componente principal), índice de redondez y la relación eje radial/eje longitudinal (segundo componente), longitud del pecíolo y número de venas secundarias (tercer componente), lo que indica que existe variabilidad morfológica en la hoja de la especie, útil para diferenciar cultivares, y en consecuencia para elaborar descriptores.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los apoyos en becas recibidos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Centro de Investigación y Desarrollo del Estado de Michoacán (CIDEM), a la Dirección General de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma Chapingo por el apoyo financiero para el desarrollo de la presente investigación.

LITERATURA CITADA

- ALAVEZ-LÓPEZ, M. J.; CRUZ-CASTILLO, J. G.; MARROQUÍN-ANDRADE, L. M.; RUBÍ-ARRIAGA, M. 2000. Caracterización hortícola de árboles de chirimoyo *in situ* Revista Chapingo Serie Horticultura 6(2): 179-193.
- ANDRÉS AGUSTÍN, J. 1997. El cultivo del chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.) en el estado de Michoacán, México. Proc. Amer. Soc. Trop. Hort. 41: 152-161.
- BOOKSTEIN, F. L. 1982. Foundations of morphometrics. Ann. Rev. Ecol. Sys. 13: 451-70.
- CARRIÓN, M. E.; MONTERO, F. J.; BOTELLA, O.; COPETE, M. L. 2003. Identificación del material vegetal vitícola bajo distintos sistemas de cultivo en Castilla-La Mancha. Actas de Horticultura Núm. 39. X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas. Pontevedra, España. pp. 447-449.
- CHATROU, L. W. 1996. Studies in Annonaceae XXVIII. Macrophenological variation of recent invaders in Northern Central América: The case of *Malmea* (Annonaceae), pp. 85-101. In: Changing Genera: Systematic Studies in Neotropical and West African Annonaceae. CHATROU, L. W. (ed.). Utrecht University, Heidelbergglaan, Utrech. The Netherlands.
- ELLSTRAND, N. C.; LEE, J. M. 1987. Cultivar identification of chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) using isozyme markers. Scientia Horticulturae 32: 25-31.
- FARRÉ-MASSIP, J. M.; HERMOSO-GONZÁLEZ, J. M. 1986. El chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.) criterios para una identificación de cultivares. Fruticultura Profesional 3: 2-4.
- GARDIAZABAL, I. F.; ROSENBERG, M. G. 1993. El Cultivo del Chirimoyo. Ediciones Universitarias de Valparaíso. Universidad Católica de Valparaíso. Valparaíso, Chile. pp. 29-53.
- GEORGE, A. P. 1984. Annonaceae, pp. 35-41. In: Tropical Tree Fruits for Australia. PAGE, P.E. (ed.). Department of Primary Industries. Queensland, Australia.
- GONZÁLES-ANDRÉS, F. 2001. La caracterización morfológica, pp. 199-217. In: Conservación y Caracterización de Recursos Fitogenéticos. GONZÁLES-ANDRÉS, F.; PITA-VILLAMIL, M. J. (eds.). I.N.E.A. Valladolid, España.
- IBAR-ALBIÑANA, L. 1979. El chirimoyo, pp. 121-144. In: Aguacate, Chirimoyo, Mango, Papaya. Editorial AEDOS. Barcelona, España.
- IRAZAZABAL, P. 1985. Descripción pomológica de una colección de cultivares de chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). Estación Experimental "La Mayora". Algarrobo (Costa), Málaga, España. 61 p.
- MANIVEL, L.; WEAVER, R. J. 1974. Biometric correlations between leaf area and length measurements of 'Grenache' grape leaves. HortScience 9: 27-28.
- MONTERO, F. J.; DE JUAN, J. A.; CUESTA, A. 1999. Contribución al estudio morfométrico y morfológico de la hoja de *Vitis vinifera* L., Memoria del VIII Congreso Nacional de las Ciencias Hortícolas. Murcia, España. pp. 44-49.
- MORTON, J. F. 1987. Fruits of Warm Climates. Media Incorporated, Greensboro, N. C., USA. pp. 65-90.
- NICOLÁS-CRUZ, M.; RUBÍ-ARRIAGA, M.; CRUZ-CASTILLO, J. G. 1996. Exploración y colección de fenotipos sobresalientes de chirimoya. Memoria Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S. C. Coatepec Harinas, México. pp. 59-66.
- PASCUAL, L.; PERFECTTI, F.; GUTIÉRREZ, M.; VARGAS, A. M. 1993. Characterizing isozymes of spanish chirimoya cultivars. HortScience 28(8): 845-847
- POPENOE, W. 1920. The native home of the chirimoya. Journal of Heredity 12(7): 336-339.
- RAHMAN, S. M. M.; SHIMADA, T.; YAMAMOTO, T.; YONEMOTO, J. Y.; YOSHIDA, M. 1998. Genetic diversity of chirimoya cultivars revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. Breeding Science 48: 5-10.
- RHOLF, F.J. 2000. NTSYSpc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Version 2.1. Exeter Software, New York, USA.
- ROYO-DÍAZ, J. B.; MIRANDA-ORELLA, S.; CACHORRO, A.; GONZÁLES-LA TORRE, J. 1994. Identificación varietal en árboles frutales. Métodos aplicables. Fruticultura Profesional 65: 30-37.
- SAFFORD, W. E. 1914. Classification of the genus *Annona*, with descriptions of new and imperfectly known species. Contributions U. S. National Herbarium 18: 1-68.
- SCHELDEMAN, X.; UREÑA V.; VAN DAMME, P. 1999. Colección y caracterización de chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) en la Provincia de Loja, Sur de Ecuador. Acta Horticulturae 497: 153-172.
- SCHROEDER, C. A. 1997. Botany, pp. 2-10. In: Chirimoya Handbook. California Chirimoya Association. Department of Botany. University of California. Los Angeles, CA., USA.
- VAN, H. J. L. 1995. Hierarchical approaches to the analysis of genetic diversity in crop plants, pp. 23-34. In: Core Collections in Plant Genetic Resources. HODGKIN, T.; BROWN, A.H.D. VAN HINTUM, TH. J. L.; MORALES, E. A. V. (eds.). International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). Published by John Wiley & Sons. Baffins Lane, Chichester. UK.
- WILCOX, C. D.; DOVE, S. B.; McDAVID, W. D.; GREER, D. B. 2002. UTHSCSA. Image Tool Ver. 2.0. University of Texas Health Science Center. San Antonio, Texas, USA. 56 p.