



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

Departamento de Fitotecnia

Maestría en Ciencias en Biotecnología Agrícola

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR
DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DEL ESTADO
DE GUERRERO, MÉXICO**

T E S I S

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN
BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA**

P R E S E N T A:

NOÉ ALARCÓN CRUZ



**DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES**

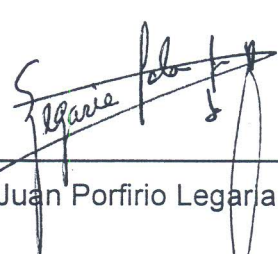
CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, JUNIO DEL 2009.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DEL ESTADO DE GUERRERO, MÉXICO

Tesis realizada por el C. **NOÉ ALARCÓN CRUZ**, bajo la dirección del
Comité Asesor indicado; aprobado por el mismo y aceptada como requisito
parcial para obtener el grado de:

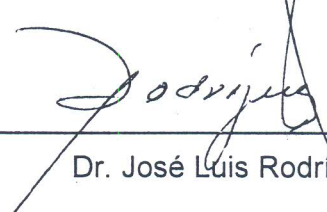
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

DIRECTOR:



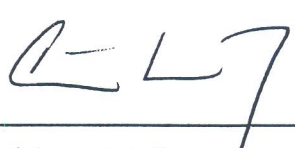
Dr. Juan Porfirio Legaria Solano

ASESOR:



Dr. José Luis Rodríguez de la O.

ASESOR:



Dr. César del Carmen Luna Morales

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por la oportunidad para realizar mis estudios de posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por otorgarme la beca para realizar los estudios de Maestría en Ciencias en Biotecnología Agrícola.

Al Departamento de Fitotecnia por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de investigación.

Al Dr. Juan Porfirio Legaria Solano por dirigir el trabajo de tesis, por todo su apoyo y por los conocimientos aportados.

Al Dr. José Luis Rodríguez de la O por las asesorías y observaciones, por el tiempo dedicado y sus aportaciones para la elaboración de la presente tesis.

Al Dr. César del Carmen Luna Morales por orientarme en el trabajo de tesis. Por las observaciones realizadas y por el tiempo dedicado.

A toda las personas que contribuyeron en la investigación.

DEDICATORIA

Como un pequeño tributo dedico esta tesis a quienes me han dado gran parte de su vida y esfuerzo al cuidarme cuando niño y a quienes no me alcanzaría la vida entera para pagarles todo lo que han hecho por mí, los quiero mucho padres Francisco Alarcón Peláez y Simona Cruz Peláez.

A quienes son parte de mi vida y con quienes he compartido momentos maravillosos e imborrables desde niño, mis hermanos: Mauricio, Romeo, Santiago, Rocío, Ma. Magdalena y Efraín.

A todas las personas que he conocido a lo largo de mi vida y que me han ayudado a crecer como ser humano, quizás algún día nuestros destinos nos permitan poder reunirnos.

Con todo mi afecto

Noé Alarcón Cruz

DATOS BIOGRÁFICOS

Noé Alarcón Cruz nació en el Km. 30 municipio de Acapulco, Guerrero, México. Realizó sus estudios básicos en la Escuela “Juan N Álvarez” en el Km. 30 y sus estudios de secundaria en la escuela Federal ‘Cuauhtémoc’ en la misma localidad. Sus estudios de Educación Media Superior los realizó en la Preparatoria # 2 perteneciente a la Universidad Autónoma de Guerrero; los estudios de nivel superior los realizó en la Universidad Autónoma de Guerrero, ubicada en la Ciudad de Chilpancingo de los Bravo, capital del Estado de Guerrero. Se graduó como Químico Biólogo Parasitólogo y como Biólogo, en la Facultad de Ciencias Químico Biológicas, ubicada en la Ciudad de Chilpancingo, Guerrero. Sus trabajos de investigación han estado relacionados con el aislamiento e identificación de bacterias del género *Actinomicetales* de interés agronómico en la ciudad de Tixtla Gro., México; así como el estudio del potencial productivo de especies vegetales en la región ‘Tierra Caliente’ de Guerrero.

En el año 2006, fue seleccionado por el programa de Maestría en Ciencias en Biotecnología Agrícola para realizar sus estudios de Maestría en la Universidad Autónoma Chapingo y en enero del 2007 ingresó como estudiante de tiempo completo.

INDICE

	Pag.
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo general.....	4
1.2. Objetivos específicos.....	4
1.3. Hipótesis.....	5
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1. Taxonomía.....	6
2.2. Descripción de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	7
2.3. Nombres comunes.....	9
2.4. Requerimientos climáticos y edáficos.....	12
2.5. Polinización.....	14
2.6. Análisis de pigmentos.....	15
2.7. Análisis bromatológico.....	15
2.8. Citotaxonomía.....	17
2.9. Domesticación y distribución.....	19
2.10. Uso actual y uso potencial.....	21
2.11. Desarrollo del cultivo en México.....	24
2.12. Marcadores moleculares.....	26
2.12.1. Descripción de la metodología RAPDs para determinar marcadores moleculares.....	31
2.12.2. Técnicas para generar marcadores moleculares.....	34

	Pag.
2.12.3. Interpretación de las huellas de ADN para análisis filogenéticos.....	35
2.12.4. Antecedentes del uso de marcadores moleculares y morfológicos en el cultivo de jamaica.....	35
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1. Metodología de la colecta.....	41
3.2. Caracterización morfológica.....	45
3.2.1. Diseño de investigación y variables evaluadas	45
3.2.2. Análisis estadísticos de marcadores morfológicos.....	50
3.3. Caracterización molecular.....	51
3.3.1. Análisis estadístico de marcadores moleculares.....	54
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
4.1. Resultados de la caracterización morfológica.....	56
4.1.1 Análisis de variables cuantitativas en marcadores morfológicos.....	59
4.1.2 Análisis de variables cualitativas en marcadores morfológicos.....	75
4.2. Resultados de la caracterización molecular.....	80
4.2.1. Análisis de iniciadores y construcción de dendrogramas.....	80
4.2.2. Análisis de correspondencia en la matriz de ADN.....	87
4.3. Análisis de poblaciones.....	91
5. CONCLUSIÓN.....	99
6. BIBLIOGRAFÍA.....	101
7. ANEXOS.....	110

INDICE DE CUADROS

	Pag.
Cuadro 1. Variedades de interés agronómico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> según: Baster (1920), Crane (1949) y Martín (1984)	10
Cuadro 2. Nombres comunes a nivel mundial aplicados para <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. según varios autores.....	11
Cuadro 3. Principales nombres y usos de la jamaica en los países del primer mundo.....	12
Cuadro 4 Contenido bromatológico de las diferentes partes comestibles de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (contenido nutricional /100 g de parte vegetal)...	16
Cuadro 5. Posibles centros de origen para <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., según varios autores.....	20
Cuadro 6. Principales marcadores utilizados para la identificación de especies vegetales en la última década.....	27
Cuadro 7. Datos de pasaporte.....	43
Cuadro 8. Características morfológicas consideradas en la caracterización morfológica de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.).....	47
Cuadro 9. Mezcla de reacción de la PCR para la obtención de los patrones RAPDs de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.).....	53
Cuadro 10. Iniciadores seleccionados en la caracterización molecular.....	54
Cuadro 11. Variables cuantitativas seleccionadas según la instrucción Forward en SAS.....	60
Cuadro 12. Medias y desviaciones estándar de las variables seleccionadas para variables cuantitativas.....	61

	Pag.
Cuadro 13. Matriz de correlación para las variables cuantitativas seleccionadas.....	62
Cuadro 14. Procedimiento cluster análisis de conglomerado de la varianza minima de WARD correspondientes a las variables morfológicas cuantitativas seleccionadas.....	68
Cuadro 15. Porcentaje de las variables canónicas que explica la variabilidad entre colectas de jamaica.....	69
Cuadro 16. Análisis discriminante canónico y estructura canónica entre colectas.....	73
Cuadro 17. Variables cualitativas empleadas en el análisis de correspondencia.....	75
Cuadro 18. Análisis de correspondencia de las 10 variables cualitativas de datos morfológicos de jamaica.....	76
Cuadro 19. Variables morfológicas cualitativas que más aportan al ordenamiento de colectas de jamaica.....	76
Cuadro 20. Iniciadores utilizados para generar los fragmentos de RAPD's para 44 colectas de jamaica, con datos del total de bandas amplificadas y analizadas.....	80
Cuadro 21. Matriz de similitud de 44 colectas de jamaica del Estado de Guerrero, generada a partir de datos moleculares utilizando el coeficiente de Jaccard y el método UPGMA.....	85
Cuadro 22. Valores de identidad genética (por arriba de la diagonal) y distancia genética (por abajo de la diagonal) de Nei (1972) para 9 poblaciones de jamaica.....	91
Cuadro 23. Variabilidad genética entre y dentro de poblaciones de jamaica (<i>Hibiscus sabdarifa</i> L), con base a los patrones RAPD's.....	94

INDICE DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Ubicación de zonas de colecta de jamaica en el Estado de Guerrero.	42
Figura 2. Zonas de medición en la planta de jamaica para la cobertura foliar.....	46
Figura 3. Características de la hoja que se evaluaron para el análisis morfológico.....	49
Figura 4. Variabilidad morfológica de la hoja detectada entre las colectas de jamaica.....	56
Figura 5. Variabilidad morfológica y de color en tallo, hoja, flor y fruto de 44 colectas de jamaica.....	57
Figura 6. Variabilidad fenotípica de frutos a) enteros y b) seccionados.	58
Figura 7. Dendrograma de relaciones entre las 47 colectas de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) utilizando distancias R^2 -semi parcial y el método de agrupamiento UPGMA para variables cuantitativas.....	65
Figura 8. Representación gráfica de formación de grupos (Análisis Cúbico de Agrupamientos).....	67
Figura 9. Ubicación espacial de los cuatro grupos de colectas de jamaica con sus variables discriminantes 1y 2 (VD1 y VD2).....	74
Figura 10. Dimensiones 1 y 2 para variables cualitativas en la caracterización morfológica de jamaica.....	78
Figura 11. Dimensiones 1 y 3 para variables cualitativas en la caracterización morfológica de jamaica.....	79

	Pag.
Figura 12. Patrones de bandeo tipo RAPD's obtenidos luego de probar 20 iniciadores de Operon.....	80
Figuras 13. Patrones de bandeo RAPD's obtenidos utilizando los iniciadores OPA 01, OPA 03, OPA 09 y OPA 18 para 44 colectas de jamaica (<i>H. sabdariffa</i> L.).....	82
Figura 14. Dendrograma construido con datos de marcadores RAPDs de 44 colectas de jamaica luego de hacer 1000 remuestreos.....	83
Figura 15. Dimensiones 1 y 2 de los iniciadores utilizados en la separación de grupos de accesiones de jamaica.....	87
Figura 16. Ordenamiento de las colectas en las dimensiones 1 y 2 utilizando los datos moleculares en un análisis de correspondencia con el programa NTSYS.....	88
Figura 17. Ordenamiento de las colectas en las dimensiones 1, 2 y 3 utilizando los datos moleculares en un análisis de correspondencia con el programa NTSYS.....	89
Figura 18. Ordenamiento de colectas a partir de marcadores RAPDs en un análisis escalado multidimensional.....	90
Figura 19. Dendrograma de relaciones genéticas entre 9 poblaciones de jamaica. Para su construcción se utilizó el coeficiente de identidad de Nei (1972) y el método UPGMA.....	93

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DEL
ESTADO DE GUERRERO, MÉXICO**

**MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)
FROM THE STATE OF GUERRERO, MEXICO.**

Noe Alarcón Cruz¹; Dr. Juan Portirio Legaria Solano²

RESÚMEN

El presente estudio se realizó en las instalaciones de la Universidad Autónoma Chapingo durante el periodo de 2007 - 2008 y tuvo como objetivo caracterizar morfológica y molecularmente a 47 colectas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) que representaron a poblaciones del Estado de Guerrero. En la caracterización morfológica se evaluaron 50 variables, mismas que se separaron en 40 cuantitativas y 10 cualitativas. De las cuantitativas se seleccionaron 25 variables y de las cualitativas cinco con alta variabilidad ($p \leq 0.04$). En la caracterización molecular se utilizaron 12 iniciadores de las series A y B de Operon a fin de obtener patrones de bandeo tipo RAPDs. Tanto para caracterizar con datos morfológicos como con RAPDs para el análisis de los resultados se utilizaron además de correlaciones, el análisis de correspondencia y de agrupamiento. Los caracteres morfológicos cuantitativos que más aportaron a la diferenciación de los genotipos de jamaica fueron: longitud en la base del lóbulo principal de la hoja, longitud promedio del fruto, perímetro promedio del fruto, longitud vertical de la hoja, ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja, croma (C) de la flor y color de hoja cuantificado con colorímetro (L). Los caracteres cualitativos que influenciaron la diferenciación de los grupos de jamaica estuvieron asociados con color visual de la hoja, precocidad, color aparente del tallo, color de brácteas y ausencia o presencia de glándulas melíferas. Los RAPD's que más contribuyeron a la caracterización molecular fueron los generados con los iniciadores OPA010, OPA017, OPA18 y OPA020. A partir del análisis de los RAPD se obtuvo la formación de cinco grupos de colectas. El análisis de poblaciones de jamaica indicó que la población Arcelia presentó el mayor polimorfismo (62.50 %) y la menos polimórfica fue Chilpancingo con valor de 13.54 %. Las poblaciones de jamaica en el Estado de Guerrero se encuentran medianamente diferenciadas ($G_{ST} = 0.42$) debido a que existe un porcentaje importante de flujo genético ($N_m = 0.67$).

Palabras clave: Malvaceae, RAPDs, recursos fitogenéticos.

ABSTRACT

This study was conducted at the facilities of the Autonomous University of Chapingo in the period 2007 - 2008 and aimed at characterizing morphologically and molecularly to 47 collections of jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) populations representing the State of Guerrero. In the morphological characterization were evaluated 50 variables, which were separated on 40 quantitative and 10 qualitative. Of the 25 variables were selected quantitative and qualitative five high variability ($p \leq 0.04$). At the molecular characterization using 12 primers of series A and B operon to obtain banding patterns of type RAPDs. Both to characterize with morphological data with RAPDs for the analysis of the results were used in addition to correlations, the correspondence analysis and clustering. Quantitative morphological characters that most contributed to the differentiation of the genotypes of jamaica were long at the base of the main lobe of the leaf, average fruit length, average fruit perimeter, vertical length of the blade, the angle of the left lobe sheet, chroma (C) of the flower and leaf color quantified with colorimeter (L). Qualitative characters that influenced to the determination of groups of Jamaica were associated with visual color of the leaf, earliness, stem color appearance, color of bracts and the presence or absence of glands melliferous. The RAPD which contributed most to the molecular characterization were generated with primers OPA010, OPA017, OPA020 and OPA18. From the RAPD analysis was the formation of five groups of collections. The analysis indicated that populations of jamaica Arcelia people had the highest polymorphism (62.50%) and the least polymorphic was Chilpancingo with a value of 13.54%. Jamaica populations in the state of Guerrero are moderately differentiated ($G_{ST} = 0.42$) because there is a significant percentage of gene flow ($N_m = 0.67$).

Keywords: Malvaceae, RAPDs, plant genetic resources.

1. INTRODUCCIÓN

Los recursos fitogenéticos son la clave para la seguridad alimentaria y el desarrollo agrícola sostenible. Sin embargo, la diversidad de las plantas en la tierra se encuentra gravemente amenazada. Las especies de plantas desaparecerán con la destrucción de sus hábitats. En el campo, los agricultores abandonan las variedades tradicionales y las sustituyen por las variedades mejoradas (Anónimo, 1994). La agricultura moderna utiliza las nuevas variedades más homogéneas y de alto potencial de rendimiento, lo que conlleva a una reducción de la diversidad genética (Guarino *et al.*, 1995). La colecta de la diversidad de ecotipos locales se convierte en un requisito previo para garantizar la seguridad alimentaria. La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), pertenece a la familia Malvaceae y es un cultivo anual nativo de África tropical. Actualmente, el cultivo es extensamente cosechado en la India, Sudán, Egipto, Senegal y Tailandia por sus agradables cálices de color rojo los cuales son usados para hacer mermeladas, gelatinas y refrescos (Balami, 1998; Al – Wandawi *et al.*, 1984). La jamaica es una de las principales plantas medicinales, la cual tiene muchas aplicaciones en la medicina popular en diferentes países del mundo; en China es usada para el tratamiento de la hipertensión, daño al hígado y fiebre. Estudios recientes demostraron que los compuestos de

extracción acuosa de los sépalos, pueden ser utilizados como un tratamiento eficaz contra la leucemia (Tseng, 2000).

Por otra parte, extractos de sépalos y semillas de jamaica en agua y aceite presentan una alta capacidad antioxidante, los cuales pueden proteger a las células contra los daños ocasionados por los radicales libres (Pin-Der and Gow - Ching, 1997). Recientemente, el aceite extraído de semillas de la planta ha demostrado tener un efecto inhibitorio sobre algunas bacterias y hongos *in vitro*. Además, el extracto que procede de los sépalos en el cultivo de jamaica puede tener un efecto considerable sobre la reducción de la presión arterial (Haji Faraji *et al.*, 1999). En Egipto, *Hibiscus sabdariffa* L., es importante porque tiene uso farmacéutico, alimenticio e industrial (cosméticos) (Omer *et al.*, 1997). Como resultado de la importancia de *Hibiscus sabdariffa* L., a nivel internacional, el área de cultivo se está incrementando en México de manera gradual con fines de utilización y exportación. En el 2004 Guerrero produjo 2,500 ton y en 2008 incremento su producción a 3,768 ton; aumentando los porcentajes de producción nacional del 66.2 % al 80 % en el años 2008 (Anónimo, 2006, 2008). Por todo lo anterior y dada la importancia del cultivo, muchos investigadores están buscando las condiciones para obtener los mejores componentes del rendimiento. Generalmente, el éxito de muchos programas de mejoramiento de cultivos depende en gran medida de la magnitud de la variabilidad genética del cultivo, así como a las características asociadas como incremento de vida de anaquel y a los efectos directos e indirectos de productividad y rendimiento. Por tanto, se consideró útil realizar

este estudio sobre caracterización morfológica y molecular en *Hibiscus sabdariffa* L., debido a que se buscó evaluar la variación para un número de caracteres morfológicos y moleculares en 47 colectas de jamaica, a través del estudio de parámetros genéticos, mismos que contribuyen al rendimiento de las plantas. Por lo tanto dicha caracterización ayudaría en los programas de mejoramiento genético para la selección de progenitores y la obtención de materiales segregantes (Kiran *et al.*, 2004).

1.1. Objetivo general

Conocer la variabilidad morfológica y molecular existente en 47 colectas de jamaica *Hibiscus sabdariffa* L., del Estado de Guerrero, dada la importancia que ocupa el cultivo en la producción nacional y estatal; así como determinar las relaciones de parentesco entre ellas, mediante el empleo de marcadores morfológicos y moleculares tipo RAPDs.

1.2. Objetivos específicos

Caracterizar morfológicamente 47 colectas de jamaica procedentes del Estado de Guerrero, con la finalidad de detectar relaciones genéticas entre las mismas.

Determinar la variabilidad genética mediante marcadores RAPDs y establecer agrupamientos, entre materiales de jamaica, originarias del Estado de Guerrero, México.

1.3 Hipótesis

Ho: Bajo las condiciones climáticas y geográficas de algunas regiones del Estado de Guerrero, no es posible detectar variabilidad genética en los materiales de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.).

Ha: Bajo las condiciones climáticas y geográficas de algunas regiones del Estado de Guerrero, es posible detectar variabilidad genética en los materiales de jamaica.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Taxonomía

Ubicación taxonómica:

La posición de la jamaica según Cronquist (1981) es:

División: Magnoliophyta

Clase : Magnoliopsida

Subclase: Dillenilidae

Orden: Malvales

Familia: Malvaceae

Género: Hibiscus

Sección: Furcaria

Especie: *Hibiscus sabdariffa* L.

El primer registro sobre *Hibiscus sabdariffa* se encuentra en Stirpium Historia, escrito por el botánico M. de Liobel en 1576, quien menciona la palabra *Sabdariffa* (Sabdarifam) probablemente debido a su color (Wester, 1911). Según Marafioti (1970) y Fryxell (1988), el nombre *Hibiscus* fue dado por Linneo y proviene del griego "Ibiscus" que significa malva de los pantanos y de "ibis" que hace referencia a un tipo de ave de los pantanos.

Fryxell (1988) hace referencia al autor G. Don, quien indica que el nombre *Sabdariffa* fue dado por los turcos a *Hibiscus sabdariffa*. Posteriormente, Hooker y Jackson (1985), indican que *Sabdariffa* es un nombre prelinneano.

2.2. Descripción de *Hibiscus sabdariffa*

Es una planta hermafrodita, anual o bianual, herbácea o subarborescente de 0.5 a 3.0 m de altura; tiene tallos robustos y con frecuencia es leñosa en su base, de color morado, rojo brillante, verde o una combinación de verde con rojo. Presenta hojas simples, alternadas, decíduas, ovadas o lanceoladas-oblongas, no divididas o divididas entre 3 a 5 lóbulos; ápice truncado a curvado, con márgenes dentados serrados, de color verde y en ocasiones rojo en ambos lados, envés con una glándula característica en su base; pecíolos largos; estípulas decíduas. Tiene flores solitarias, axilares; perfectas, zigomorfas; epicáliz con más de 10 brácteas pequeñas, delgadas, fusionadas en la base con el tubo del cáliz; cáliz con cinco lóbulos profundos, forma regular, de 1.2 a 4.0 cm de largo; adquiriendo características como muy carnosa después de la antéesis, nervadura central marcada, glándula característica en la base de cada lóbulo. Pubescencia fina en el interior de los lóbulos; el epicáliz y el cáliz puede ser de un rojo brillante, verde o casi blanco, dependiendo de la variedad; pedicelo corto; corola con los pétalos adheridos al tubo estaminal recto; pétalos de color amarillo pálido, con el centro rojo oscuro cuando el tallo es rojo y un centro amarillo para la forma del tallo verde, ovados, carnosos en su base; la columna estaminal está formada por 5 grupos de estambres unidos casi desde su base, de color morado; estilo delgado, con un estigma de 5 lóbulos, rodeado

por los estambres, excediendo al androceo; ovario súpero con placentación axial. Frutos capsulares ovoides, obtusos, ligeramente pilosos con numerosas semillas, dehiscencia loculicidal, abriéndose en cinco partes cuando maduran. Hay de tres a cuatro semillas reniformes en cada celda (Ochse *et al.*, 1976; Bailey, 1977; Martín, 1984; Fryxell, 1988).

Actualmente se reconocen dos variedades botánicas (Purseglove, 1982):

1. Variedad *sabdariffa*. Arbusto ramificado con tallos rojos, verdes o combinados y los cálices comestibles inflados, de color rojo o amarillo.
2. Variedad *altissima*. Planta no ramificada, con cálices fibrosos no comestibles, que crece para producir fibra.

Crane (1949) menciona que si bien las variedades que producen cáliz y fibra se conocen desde tiempo atrás, la producción de variedades mejoradas es relativamente reciente. Se menciona que la primera variedad que se aisló fue la 'Victor' en 1907; la variedad 'Rico' se nombró en 1912 y las variedades 'Archer' y 'Temprano' se descubrieron en 1914. Dempsey (1975) y Purseglove (1982) coinciden en que el desarrollo más fuerte de ésta especie se dió en tiempos relativamente recientes en los diferentes países del Hemisferio Occidental. Martín (1984), en su descripción de las variedades, menciona que no están muy extendidas a nivel mundial, es decir, su distribución es a nivel de ciertas regiones de algunos países. En este caso podemos considerar a estas variedades más bien como cultivares.

Diversos autores han descrito de manera general los cultivares que se han desarrollado de ambas variedades botánicas. El Cuadro 1 resume la

información para cada uno de los cultivares, siendo ésta muy heterogénea e incompleta. Wilson (1974) define a ésta especie como altamente polimórfica, con una gran variación interpoblacional, debido a que hay una serie de formas intermedias que varían en crecimiento, forma de hoja, pubescencia, coloración, características de madurez y tamaño de la semilla.

2.3. Nombres comunes

Hibiscus sabdariffa recibe actualmente más de 40 nombres comunes, provenientes de diferentes lugares del mundo (Cuadro 2).

En el boletín de la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) sobre terminología de plantas y productos vegetales (FAO, 1983), se clasifica a los nombres de ésta especie de acuerdo a su país de origen y a la parte de la planta que es utilizada (Cuadro 3).

Como se observa, el uso de nombres propios como 'Guinea', 'Jamaica', 'Chino', 'Sian' y 'Florida', refleja los lugares donde ha sido cultivada; ésto es útil como elemento de apoyo para explicar los sitios de introducción y migración de la especie.

Cuadro 1. Variedades de interés agronómico de *Hibiscus sabdariffa* según: Baster (1920), Crane (1949) y Martín (1984).

Cultivar	Uso	Habito	Color de tallo	Hoja	Color de cáliz	Color de corola	Polen	Estigma
Altísima	Fibra	Alta, no ramificada	Rojo	Verde con venas rojas	Rojo	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Altísima	Fibra	Alta, no ramificada	Verde	Verde	Verde	Verde	Desconocido	Desconocido
Altísima	Fibra	Alta, no ramificada	Verde con rojo	Verde	Verde	Verde	Desconocido	Desconocido
Altísima	Fibra	Alta, no ramificada	Verde	Verde con venas rojas	Rojo	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Altísima	Fibra	Alta, no ramificada	Rojo o verde rojizo	Verde con venas rojas	Fibroso, con espinas cortas	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Bhagalpuritensis	Fibra	Poca ramificación	Verde con rojo	Verde	Verde con manchas rojas	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Intermedia	Fibra y fruto	Poca ramificación	Verde con rojo	Verde con venas rojas	Verde amarillenta	Amarilla	Desconocido	Desconocido
Albus	Fibra y fruto	Poca ramificación	Verde	Verde	Verde amarillenta	Amarilla	Desconocido	Desconocido
Ruber	Fibra y fruto	Poca ramificación	Rojo intenso	Roja con verde difuso	Rojo con verde en vena media	Rosa naranja profundo	Desconocido	Desconocido
Archer	Fruto	Poca ramificación	Verde	Verde	Verde	Pequeña	Desconocido	Desconocido
Archer	Fruto	Poca ramificación	Verde o blanquecina	Verde	Verde azulado	Verde	Amarilla	Verde
Temprano	Fruto	Poca ramificación	Rojo brillante	Verde con venas rojas	Verde brillante	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Temprano	Fruto	Precoz, poco productiva	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Rico	Fruto	Poca ramificado	Rojo oscuro	Verde con venas rojas	Rojo oscuro	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Rico	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Rojo y grande	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Rico	Desconocido	Alta productividad	Rojo oscuro	3-5 lóbulos	Rojo oscuro con espinas carnosas	Rojo oscuro	Amarillo	Desconocido
Victor	Fruto	Baja productividad	Rojizo y ramificada	Verde	Rojizo	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Victor	Desconocido	Muy productiva	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Victor	Desconocido	Muy robusta	Desconocido	Espinas delgadas	Rojo oscuro	Café	Desconocido	Desconocido
El Fanse	Desconocido	3 variedades similares	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido
Green	Desconocido	Grandes	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido

Fuente: Rendón A., B. 1992

Cuadro 2. Nombres comunes a nivel mundial aplicados para *Hibiscus sabdariffa* L. según varios autores.

Nombre común	Lugar	Autor y año
Karkadé	Italia	Rovesti (1936)
Flor de jamaica	México	Díaz (1976)
Acedera colorada	-	F.A.O. (1983)
Acedera roja de guinea	-	Bachstsz (1949)
		Colmeiro (1871)
Curura de guinea	Brasil	Dempsey (1975)
Agrio de guinea	-	Cook y Collins (1903)
		F.A.O. (1983)
		Patiño (1975)
Alaluya	-	Patiño (1975)
Florida Cranberry	Miami Florida, Estados Unidos	Dempsey (1975)
Alaluya roja de guinea	Cuba	Cook y Collins (1903)
	Cuba	Roig y Mesa (1988)
Azedinha	Brasil	Dempsey (1975)
Cabitutu	Panamá y Colombia	Duke (1975)
Cañamo de rosella	-	F.A.O. (1983)
Eibisch	-	F.A.O. (1983)
India rosella hemp.	India	Crane (1949)
Indica sorrel	-	Bois (1927)
Jamaica	-	Díaz (1976)
Jamaica sorrel	-	Adams (1972)
Karkade	India y África tropical	Bachstsz (1949)
		Rovesti (1936)
Kasi gogu	Andhra Pradesh, India	Dempsey (1975)
Kempu	India	Crane (1949)
Kenaf	India	Dempsey (1975)
Lalambari	India	Crane (1949)
Mesta	India	Crane (1949)
Mollow	India	F.A.O. (1983)
Oseille de guinea	-	F.A.O. (1983)
Oseille rouge	India	Dempsey (1975)
Patwa	Tailandia	Crane (1949)
Quinbombo chino	Cuba	Roig y Mesa (1988)
Red roselle	India	Dempsey (1975)
Red rorrel	India	Adams (1972)
Rosa jamaica	-	Fryxell (1988)
Roselee	-	Palmer (1868)
Rosella	India, Filipinas	Crane (1949)
	India, Indonesia, Australia	Dempsey (1975)
Paw keo	India	Dempsey (1975)
Pusa	India	Crane (1949)
Pusa Hemp	India	Dempsey (1975)
Quiabo -roseo	Brasil	Dempsey (1975)
Rosellafaser	India	F.A.O. (1983)
Rosellahanf	India	F.A.O. (1983)
Rosella fiber	India	Crane (1949)
Rosella hemp	India	Crane (1949)
		Cook y Collins (1903)

Cuadro 2. Continuación.

Roselle	Egipto	Adams (1972) Clydesdale (1979) Sardana (1984)
Roter	India	F.A.O. (1983)
Rouselle	India	Crane (1949)
Rozelle	-	Palmer (1868)
Sauerampfel	-	F.A.O. (1983)
Serenet	Cuba	Patiño (1975)
Sereni	Cuba	Roig y Mesa (1988)
Sereni textil	Cuba	Roig y Mesa (1988)
Voam bombozaha	Madagascar	Dempsey (1975)
Siam jute	Tailandia	Dempsey (1975)
Thorny mallow	India	Crane (1949)
Thorny	India	F.A.O. (1983)
Viña		Cook y Collins (1903)
Chiraguata	Venezuela	Chavez (1985)

- = Lugar desconocido.

Fuente: Rendón, 1992; Morton, 1997).

Cuadro 3. Principales nombres y usos de la jamaica en los países del primer mundo.

Idioma	Nombre de la planta	Nombre referente a otros productos
Inglés	Roselle, Rosella, Thorny, Mallow, Red	Roselle hemp (Tallo) Rosella hemp (Tallo)
Español	Rosella, jamaica, acedera colorada, agrio de Guinea	Roselle (Cáliz) Cañamo de rosella (Tallo)
Francés	Oseille de Guinée, Oseille rouge.	Roselle (Cáliz)
Alemán	Guinea, eibisch, roter	Rosellahanf

2.4. Requerimientos climáticos y edáficos

El porcentaje de humedad para la jamaica se encuentra en un rango entre 70 a 80 % durante el periodo de crecimiento y una temperatura media de 25 – 30 °C.

La altitud a la que se encuentra cultivada es entre 0 y 900 m.s.n.m (Bois, 1927).

Puede crecer a altitudes mayores pero con condiciones adecuadas de suelo. Se menciona que los climas muy fríos o húmedos retardan su crecimiento y tienen efectos en la calidad de la fibra (Wilson, 1945; Dempsey, 1975). Martín (1984) estableció una serie de criterios ecológicos para el desarrollo de ésta especie

basados en rangos de temperatura (moderada a caliente), altitud (baja a moderada) y precipitación (baja a moderada).

Algunos estudios en la India (Sardana *et al.*, 1984) se han realizado con la idea de seleccionar variedades que se adapten a áreas en zonas altas y con fuertes fluctuaciones de lluvia.

El tipo de suelo donde se desarrolla es variable ya que, algunos autores como Wilson (1945), Ochse *et al.* (1976) y Martín (1984), mencionan características de suelos con fertilidad moderada, permeables y con buen drenaje; mientras que Dempsey (1975) indica que tiene capacidad para crecer en suelos pobres, con alta acidéz (pH = 4.5) ó moderadamente alcalinos. Esto le aporta ventajas respecto al crecimiento de otros cultivos como Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) o yute (*Corchorus olitorius* L). El único requerimiento es que el suelo sea arenoso, de textura clara y bien drenado para evitar la acumulación de agua.

En lo referente a la respuesta fotoperiódica, Ochse *et al.* (1976) indican que presenta un marcado fotoperiodo. Se ha visto que a longitudes de iluminación diaria menores a 11 horas, las plantas producen botones en 4 semanas, frutos grandes en 10 semanas y semillas maduras a las 14 semanas, después de sembrarse. Cuando reciben mayor tiempo de iluminación diaria, alcanzan una longitud menor y no producen botones (Crane, 1949). Dempsey (1975) da una explicación sencilla al respecto, al indicar que un lote de semillas de una variedad sembrada el mismo día florece al mismo tiempo y que si, por el contrario, el mismo lote se reparte en intervalos de siembra regulares (los primeros días de cada mes) habrá diferencias en el tiempo de floración. Un

estudio realizado en Cuba con una especie muy cercana a la jamaica, *H. cannabinus*, muestra claramente este fenómeno (Walker *et al.*, 1960).

2.5. Polinización

El conocimiento de la tasa de cruce de una especie de cultivo en un ambiente es importante al elegir un procedimiento de reproducción para el mejoramiento del cultivo, conservación del germoplasma y producción de semillas comerciales (Howard y Howard, 1911). *Hibiscus sabdariffa* L. se considera una especie autopolinizable (Dempsey, 1975; Ochse *et al.*, 1976). Sin embargo, en algunos estudios realizados en los años cincuenta por Houten (1950) y Sanyal y Dutta (1954), citados por Dempsey (1975), se indica que los porcentajes de fecundación cruzada se encuentran entre 0.241 % a 0.400 %. Maiti y Mukerjee (1985) obtuvieron un rango porcentual de 0.030 % a 0.150 % de fecundación cruzada al evaluar diferentes variedades. Vaidya (2000) estima que la polinización cruzada natural oscila entre $0.200 \% \pm 0.09 \%$ a $0.680 \% \pm 0.340 \%$. En general, los porcentajes son bajos y los autores sugieren que son 3 las razones:

- 1.- Las flores abren por un periodo corto.
- 2.- Los estigmas están totalmente cubiertos con polen cuando la columna estaminal se abre.
- 3.- Los estigmas no sobresalen.

Free (1970) menciona que si bien la jamaica normalmente se autopoliniza, cierta polinización cruzada puede resultar por visita de insectos y colibríes. Martín (1984) la cataloga más bien como una especie de polinización cruzada

aunque no establece sus criterios. Las consecuencias de la autofecundación han sido analizadas por varios autores (Hutchinson, 1965; Proctor y Yeo, 1979; Grant, 1981; Futuyma, 1986) y deben considerarse en el caso de esta especie para futuras investigaciones.

2.6. Análisis de pigmentos

En lo que concierne a la pigmentación roja del cáliz se sabe que el pigmento más importante es la antocianina. Du y Francis (1974) dan un pequeño esbozo histórico del descubrimiento de éste pigmento. Ellos aislaron e identificaron los tipos de antocianinas, tomando como muestra de análisis un cultivar de la Isla de Jamaica. Encontraron 1.5 g de antocianina/100 g de peso seco. Asimismo, detectaron 6 bandas de antocianinas, de éstas, la 1, 5 y 6 se consideraron pigmentos traza y se encuentran a muy baja concentración.

La descripción se basó, por lo tanto, en las bandas 2, 3 y 4. La banda 2 se identificó como cianidina –3- sambubiosido. La banda 3, representó el pigmento más importante de la antocianina, se denominó también cianidina –3- sambubiósido. Finalmente, la banda de pigmentación 4 se separó en dos partes, una de ellas correspondiendo a delfinidina-3-glucósido y la otra, que es a su vez la más abundante de todas las antocianinas y la causante del color rojo violáceo, se identificó como delfinidina-3-sambubiósido.

2.7. Análisis bromatológico

Martín (1984) estableció una tabla con el valor nutricional de 100 g de parte comestible (cálices, semillas y hoja), con los resultados expuestos en el cuadro

4. Como se observa, la parte que presenta los valores más altos en proteínas, azúcares y grasas es la semilla. Comparando los valores de nutrimentos de las diferentes estructuras con las cantidades dietéticas establecidas para adultos sanos (Feldman, 1990), se encontró que las hojas son una fuente adecuada de vitamina A. El resto de los componentes nutricionales presentan valores bajos. En el caso del cáliz, se reportan cantidades bajas de vitamina C, sin embargo se considera un producto vegetal importante como antiescorbútico (Rovestí, 1936). Hay evidencias que indican que durante los siglos pasados, muchos de los cultivos introducidos representaron una fuente importante de esta vitamina para el cuerpo humano, para resistir largos viajes de navegación y las guerras (Carpenter, 1986). Según indica Chevalier (1937), para fines medicinales, gran parte del valor que le dieron a esta planta fue por su alto contenido de ácido cítrico (el cual lo equipararon con el del limón) y por su papel antiescorbútico.

Cuadro 4 Contenido bromatológico de las diferentes partes comestibles de *Hibiscus sabdariffa* L. (contenido nutricional /100 g de parte vegetal) (Fuente: Martín, 1984. Handbook of Tropical Food Crops).

Nutriente	Cáliz	Semilla	Hoja	Cantidad dietética para adultos sanos
Proteínas (g)	2.0	28.9	3.5	44 -56
Vitamina A (UI)	-	-	1000.0	800-1000
Grasas (g)	0.1	21.4	0.3	*
Carbohidratos (g)	10.2	25.5	8.7	*
Tiamina (mg)	0.05	0.1	0.2	1.0 -1.5
Riboflavina (mg)	0.07	0.15	0.5	1.2 -1.7
Niacina (mg)	0.06	1.5	1.4	20.0
Vitamina C (mg)	17.0	-	2.3	60.0
Calcio (mg)	150.0	350.0	240.0	800.04
Hierro (mg)	3.0	-	5.0	10 -18

2.8. Citotaxonomía

Hibiscus sabdariffa se ubica dentro de la Sección Furcaria del Género *Hibiscus* en la Familia Malvaceae. (Menzel y Wilson, 1963) la determinaron como una especie tetraploide; posteriormente Menzel *et al.* (1983), determinaron el origen africano de ésta Sección ya que 9 de las 10 especies son diploides ($2n = 18$) (*H. Asper* Hook F; *H. hiemianus* Exell y *menonca*, *H. mastersianus*, *H. mechowii* O. Hoffm.; *H. escanensis* Horchr. y *H. surattensis* L. son africanas; la otra es *H. diversifolius*). Las especies tetraploides de esta sección son *H. acetosella* Eelw., *H. meeusei* Exell, *H. rostellatus* Guill. y Perr., y *H. sabdariffa*. Para reforzar lo anterior Vavilov (1928), desarrolló su teoría de los centros de origen o centros de genes indicando que varias regiones del mundo poseen concentraciones de variación de plantas cultivadas asegurando que estas regiones se identifican como centro de origen de la especie de interés.

Dado que el mayor número de parientes silvestres cercanos a la jamaica se encuentran en África, es factible asegurar que su centro de origen es africano.

Debido a que *H. sabdariffa* L. es una especie alotetraploide ($2n = 36$) que ocurre únicamente en estado de domesticación, se han investigado afinidades con las especies diploides para determinar el ancestro silvestre. A partir de cruces de varias especies diploides con *H. sabdariffa* se encontró que un genoma de esta especie es homólogo con el de *H. mastersianus* o con el de *H. mechowii*. Ésta última especie es la que presenta mayor similitud morfológica, lo que sugiere afinidades entre ambas (Wilson, 1974).

Otros estudios citotaxonómicos se han enfocado a evaluar híbridos obtenidos a partir *H. sabdariffa* y *H. cannabinus*, que resistan los ataques de nemátodos (Wilson y Menzel, 1967; Wilson y Adamson, 1970).

Los estudios genéticos se han enfocado a estudiar las formas de herencia de características como: patrones de pigmentación del tallo, epicáliz, cáliz, corola y anteras (Chakravarty y Basu, 1972). Para el tallo y el epicáliz se encontró que una serie alelomórfica múltiple es la responsable de la intensidad y distribución de las antocianinas, la cual se representó como CR – CL – C- C; la intensidad mayor y más amplia está dada por CR. Las posibles combinaciones resultantes son:

ccrr = Totalmente verde;

ccRR= Totalmente rojo;

CCrr = Verde pigmentado;

CLCLrr = Verde con rojo claro;

CLCLrr = Intermedio;

CRCRrr = Rojo;

Se concluye que los alelos c y r son los que controlan el complejo de pigmentación de estas dos estructuras.

El color del cáliz y la corola después de la antesis (desvanecimiento) están pleiotrópicamente controlados, ya que invariablemente los cálices rojos o rosas aparecían con las corolas rosadas y las corolas amarillas se asociaban con cáliz verde. En este caso los genes C y R juegan un papel importante al igual

que *c*; *r* no juega ningún papel significativo y se asume un factor adicional llamado *f*.

Finalmente, el color de la antera también está controlado principalmente por el gen *c* y al parecer *r* no juega papel determinante.

2.9. Domesticación y distribución

El lugar de origen de *Hibiscus sabdariffa* ha sido un tanto confuso, sin embargo la mayoría de los autores coinciden en ubicarlo en África (Cuadro 5). Esta idea ha sido respaldada por los estudios citotaxonómicos realizados con esta especie, mencionados en la sección anterior. La idea de que es nativa de la India o incluso de América Central se debe a que estas áreas han tenido mucho desarrollo agrícola, incluso creándose nuevas variedades. Flores (1989), reporta que la jamaica fue introducida a México en la época colonial y desde entonces se ha cultivando en las regiones cálidas y semicálidas de nuestro país, sobre todo en los estados de Guerrero, Michoacán y Colima, entre otros.

El Salvador es uno de los países que más ha dado impulso a este cultivo (Verdoorn, 1945), particularmente para la obtención de fibra; sin embargo el centro de origen está más o menos definido, no así su dispersión inicial.

(Wilson y Menzel, 1969) proponen que el oeste de Sudán fue uno de los principales centros de domesticación, hace aproximadamente 4000 años a.C. A partir de colectas realizadas en Uganda encontraron un ejemplar de *H*.

Cuadro 5. Posibles centros de origen para *Hibiscus sabdariffa* L., según varios autores.

Lugar de origen	Autor
Oeste de África	Martín (1984) Murdock (1959) Purseglove (1982) Wilson y Menzel (1964)
África Tropical	Adamson (1983) Dempsey (1975) Fryxell (1988) León (1987) Wilson (1974) Rovesti (1936) Harlan (1975)
Sabana Africana	
India y Malaya	Bachstetz (1949)
India	Bois (1927) Patiño (1975)
Viejo Mundo	Adams (1972) Williams (1928)
América Central	Chevalier (1937)

Fuente: Morton (1997)

mechowii bajo forma silvestre y en cultivo; con base en los estudios que se habían realizado con diferentes especies silvestres y al encontrar mucha semejanza morfológica entre *H. mechowii* y *H. sabdariffa*, los mismos autores sugieren que *H. mechowii* es la forma primitiva de *H. sabdariffa* y ellos determinan a Angola como centro de origen. De ahí ocurrió una migración a través de la sabana al este de África y luego al noroeste hacia Sudán, su centro de domesticación. Si su domesticación ocurrió hace 4000 años a. c., entonces correspondería a una de las especies más tempranamente domesticadas al desarrollarse la agricultura en el Río Níger superior y el oeste de Sudán (Murdock, 1959). Al parecer la gente de Sudán originalmente utilizó las hojas, plántulas, semillas y cálices carnosos. Este último uso fue el que se difundió al nuevo mundo (Wilson y Menzel, 1964; Demsey, 1975).

2.10. Uso actual y uso potencial

A partir del conocimiento de que la jamaica es una especie africana, es importante entonces determinar cuáles son los usos que actualmente le da la gente en ese continente. Murdock (1959) realizó un estudio completo de África, a partir del cual dividió al continente en varias provincias y las analizó en sus aspectos social, político y cultural. Dentro de este estudio obtuvo información sobre las especies vegetales que utilizaba la gente de cada región, así como el uso que le daban. Se encontró que las provincias donde era aprovechada la jamaica, principalmente como condimento e indulgente, son: Gente del este negritico, Tierras altas de Camerún, Twi y Senegambia.

Otro autor que estudió de manera detallada las formas de uso y las áreas de cultivo de varias especies vegetales alimenticias de África, incluyendo la jamaica, es Schnell (1957). Este autor registró la presencia de la jamaica en los jardines de las casas, acompañada con muchas otras especies, como planta semicultivada y la ubicó como una especie ampliamente difundida en los países de la sabana africana (las sabanas de Sudán y Guinea). Al igual que Murdock (1959), el autor la registró dentro del grupo de plantas utilizadas como condimento o alimento de acompañamiento para las ensaladas, utilizándose el follaje fresco y los cálices frescos o secos. Flores (1989), reportó que fuera de África, en los países asiáticos como India, Ceilán, Java, China, Vietnam, Birmania, Tailandia, Indonesia y Malasia, *Hibiscus sabdariffa* L. es un cultivo importante a gran escala, principalmente para la producción de fibra. Minton y Adamson (1979) indicaron que la fibra de jamaica es una fuente potencial de pulpa de papel en el suroeste de Estados Unidos. Campese (1937) señala que

la fibra de jamaica bien preparada y tejida podría sustituir al algodón en la elaboración de ropa de cama y manteles, además de mencionar que es dos veces más resistente que el yute, utilizándose en lazos y redes para pescar. Cheng *et al.*, (2002), reporta que la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), de la variedad 'Altísima', es económicamente importante en la región Asia - Pacífico por su fibra suave y sus usos están enfocados a la elaboración de sogas, sacos, lonas y alfombras. Recientemente, se han desarrollado las aplicaciones de esta fibra para el uso de filtración de líquidos y biorremediación para la absorción de aceites o petróleo.

En América Latina los reportes provienen principalmente de México, El Salvador y Honduras. México es el único país donde se cultiva la jamaica para obtener cálices; los otros países han desarrollado el cultivo de variedades para fibra.

Es posible agrupar los usos de la jamaica en función de la parte de la planta que se utiliza. Los reportes indican que el cáliz es la parte que más se aprovecha. Monsour (1975), informa que los cálices son utilizados para la elaboración de bebidas no alcohólicas y es el tallo la parte que representa un uso actual y potencial por su posibilidad de producir materia para papel.

En cuanto a los usos medicinales de la jamaica Rovesti (1936), detectó diez beneficios terapéuticos, uno relacionado con cuestiones renales y del aparato circulatorio y otros en cuestiones digestivas. Se considera que ésta especie debe ser revalorada en la fitoterapia. Bachstet (1949) menciona otros usos terapéuticos, principalmente como tónico, para controlar las fiebres y las

avitaminosis. Cook y Collins (1903), indican también usos de la semilla principalmente por sus propiedades demulcentes, diuréticas y tónicas; así mismo, los cálices se utilizan para personas con fiebre y para convalecientes.

En general, se observa que el cáliz rojo es la parte de la planta más aprovechada principalmente por los productos procesados que se pueden obtener a partir de él. Monsour (1975), informa que los cálices son utilizados como fuentes de pigmentos rojos para alimentos y cosméticos. Sin embargo, el uso que se les dá depende de los aspectos culturales y sociales de la población que la usa. Un ejemplo específico se encuentra en México en donde se usa como bebida refrescante, para las gelatinas y en las infusiones. La elaboración de mermeladas, conservas y ensaladas de cálices consideradas muy raras. Es importante sin embargo, conocer esta diversidad de patrones de uso ya que esto determina en gran medida las características que se seleccionarán en las poblaciones que se han de cultivar.

El aprovechamiento de la semilla debe considerarse tal vez no para obtener aceite comestible pero sí como alimento complementario para aves o ganado vacuno. Este uso se le ha dado en el Caribe al menos en México se han hecho observaciones cualitativas y se cree que son beneficiosas (Chávez, 1985). Dunstan (1909), cita que la semilla tiene un alto contenido de fibra y aceites. Los nativos de las provincias norteañas de Nigeria utilizan la semilla molida como alimento. Chávez (1985), refiere que en estudios realizados en Venezuela reportan que la semilla de jamaica contiene 20 % de proteína, por lo que es factible considerarla para alimento humano.

2.11. Desarrollo del cultivo en México

Los reportes sobre el desarrollo del cultivo en México son muy recientes. Algunos autores como Gandara (1939) y Marín (1940) mencionan la posibilidad de explotar al cultivo. Sin embargo, fue a partir de 1975 cuando la Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (Anónimo, 1975; 1976) reportan la cantidad de hectáreas cosechadas y la producción obtenida únicamente en el Estado de Guerrero. Para los años posteriores, hasta 1985 se incluyen en los reportes las producciones obtenidas en los Estados de Oaxaca, Puebla, Colima, Michoacán y Nayarit.

En 1978 se menciona que la variedad que se cultiva en México es la 'Criolla' (Anónimo, 1978). El Estado de Guerrero es el principal productor de jamaica (Anónimo, 2008), así como el más constante; el resto de los estados manifiestan fuertes fluctuaciones de un año a otro y en ocasiones han dejado de producirla.

A nivel nacional, durante el 2001, se sembró un total de 18,402.50 ha de jamaica, de las cuales se cosecharon 18,028.50 ha. Con una producción obtenida de 4,108.07 toneladas de flor de jamaica con un rendimiento promedio de 0.228 Tons/ha. En dichos años, se identificaron 15 estados productores destacando en primero lugar Guerrero con un 62 % de la producción nacional, seguido por los estados de Oaxaca y Nayarit con una producción de 21.3 y 4.0 % de la producción reflejando un 91.5% del total producido, el resto correspondió a los estados de Campeche, Colima, Jalisco, Michoacán, Morelos,

Puebla Quintana Roo, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán (Anónimo 2001).

En el 2004 Guerrero incremento su producción nacional al 80 % en comparación con los estados de Oaxaca, Nayarit, Colima y otros con producciones a nivel nacional de 13, 4, 2 y 1 % respectivamente. Con respecto al volumen de producción anual en ese mismo año fue de 2500 ton., con un valor de producción de 75 Mdp. El Precio promedio de la jamaica a nivel nacional en el 2000 fue de 45 pesos por kilogramo y posteriormente en el 2004 se precio promedio descendió a 25 peso. Según los avances de la cosecha del ciclo primavera-verano del 2008, el cultivo de jamaica a nivel estatal ascendió a 3, 768 Ton. (Anónimo, 2008).

Respecto a los datos de exportación, desde 1958 se tienen registrados ininterrumpidamente la venta de productos a países como Alemania Federal, Estados Unidos, Francia, India, Uruguay, Guatemala, Reino Unido, Colombia y Panamá, siendo los compradores más importantes los dos primeros, con sus respectivas oscilaciones de un año a otro (Anónimos, 1981-1984). Sin embargo es importante mencionar que no se encontró información estadística sobre los volúmenes de *Hibiscus sabdariffa* L.. secos.

2.12. Marcadores moleculares

En la última década, el uso de marcadores de ADN para el estudio de la diversidad genética de los cultivos ya es rutinario y está revolucionando la Biología, incrementando el desarrollo de técnicas de más precisión, rapidez y bajo costo para evaluar la variación genética (Karp *et al.*, 1997). Ésto se ve reflejado en la enorme variedad de técnicas diferentes que están emergiendo para su análisis (Whitkus *et al.*, 1994). Estas técnicas pueden diferir de manera importante con respecto a características tales como la abundancia genómica necesaria, nivel de polimorfismo detectado, *locus* específico, reproducibilidad, requerimientos técnicos e inversión financiera. Es importante mencionar que ningún marcador es superior a todos para un amplio rango de aplicaciones. El marcador más apropiado dependerá de la aplicación específica, el nivel de polimorfismo, la presencia de suficientes facilidades técnicas y de conocimiento, necesidades de tiempo y limitaciones financieras. Las principales tecnologías de marcadores que se están aplicando durante la última década se indican en el Cuadro 6.

En los organismos vivos existe una amplia variedad de formas morfológicas que los distinguen entre sí. Esta variabilidad o polimorfismo genético, ocurre en forma natural dentro y entre diferentes poblaciones de organismos. Cualquier diferencia genética detectable en los individuos sirve como una etiqueta o

Cuadro 6. Principales marcadores bioquímicos y moleculares utilizados para la identificación de especies vegetales en la última década.

Marcadores	Aloenzimas (Tansley and Orton, 1983; Kephart, 1990; May, 1992).
bioquímicos	
Marcadores	Técnica basada en la no-PCR ²
moleculares basados	Longitudes Polimórficas de Fragmentos de Restricción (RFLP). (RFLP, Botstein <i>et al.</i> , 1980; Neale and Williams, 1991)
en ADN citoplásmico	Minisatélites o Repeticiones en Tandem de Número Variable (VNTR) (VNRT Jeffreys <i>et al.</i> , 1985 a,b)
(cloroplastos (cpDNA),	
mitocondrial (mtADN)	
o ADN nuclear.	
	Basado en la técnica de PCR
Marcadores	ADN secuenciado
moleculares basados	Multicopias de ADN, regiones de espacios internos de genes transcritos en el ribosoma nuclear (ITS) (Takaiwa <i>et al.</i> , 1985; Dillon <i>et al.</i> , 2001).
en ADN citoplásmico	Copia simple de ADN, incluyendo intrones y exones (Sanger <i>et al.</i> , 1977; Clegg, 1993a).
(Cloroplastos,(cpDNA),	Sitios de Secuencias Etiquetadas (STS)
mitocondrial (mtADN)	Microsatélites, Secuencias Repetidas Simples, (SSR), Repeticiones Cortas en Tandem (STR), Microsatélite de Secuencia Etiquetada (STMS) o Polimorfismo de Longitud de Secuencia Simple (SSLP). (Hearne <i>et al.</i> , 1992; Morgante and Olivieri, 1993; Queller <i>et al.</i> , 1993; Jarne and Lagoda, 1996).
o ADN nuclear.	
	Polimorfismo de Longitud de Secuencia Amplificada (ASLP) (Maughan <i>et al.</i> , 1995).
	Caracterizado de Secuencias de Regiones Amplificadas (SCAR) (Paran and Michelmore, 1993).
	Secuencia Polimórficas Adheridas y Amplificadas (CAPS) (Akopyanz <i>et al.</i> , 1992; Konieczny and Ausubel 1993).
	Polimorfismo de Conformación de Cadena Simple (SSCP) (Hayashi, 1992).
	DGGE (Riedel <i>et al.</i> , 1990).TGGE (Riesner <i>et al.</i> , 1989).
	Análisis heteroduplex (HDA) (Perez <i>et al.</i> , 1999)
	DHPLC (Hauser <i>et al.</i> , 1998).
	Polimorfismo Amplificado de ADN por Primer Arbitrario (MAAP) (Caetano Anolles, 1996).
	ADN polimórfico amplificado al azar, RAPD (Williams <i>et al.</i> , 1990).
	Minisatelites Amplificación de ADN (identificación de individuos) DAF, (Caetano – Anolles <i>et al.</i> 1991).
	AP-PCR (Welsh and McClelland, 1990).
	Secuencias Repetidas Intersimples (ISSR), (Zietkiewicz <i>et al.</i> , 1994).
	Reacción Amplificada de Primer Simple (SPAR) (Staub <i>et al.</i> , 1996).
	ADN de Minisatélite de Amplificación Directa (DAMD) (Heath <i>et al.</i> , 1993).
	Polimorfismo en la Longitud de Fragmento Amplificado (AFLP) (Vos <i>et al.</i> , 1995).
	Loci Polimórfico de Microsatélite Amplificado Selectivamente (SAMPL), (Witsenboer <i>et al.</i> , 1997).

FUENTE: Spooner *et al.*, 2005.

marcador genético que se convertirá en un rasgo característico propio de cada individuo o de cierto grupo de individuos (Mendoza – Herrera y Simpson, 1996).

Se conocen dos clases de marcadores genéticos, siendo éstos los morfológicos y los moleculares (Tanksley, 1983). Sin embargo, antes de los moleculares una segunda generación de marcadores son los bioquímicos, estos pueden ser representados por los metabolitos secundarios, proteínas estructurales, isoenzimas o enzimas (Mendoza- Herrera y Simpson, 1996). Las isoenzimas son moléculas de proteínas cargadas diferencialmente y que pueden separarse utilizando procedimientos de electroforesis, mediante geles de almidón y la tinción histoquímica de las proteínas. En términos generales se dice que las isoenzimas son formas moleculares múltiples de proteínas dentro de un organismo que catalizan una misma reacción y que el efecto de una modificación alélica puede ser detectado con certeza, debido a un cambio de movilidad electroforética (Staub *et al.*, 1996).

Las características principales de las isoenzimas incluyen la simplicidad, cantidad mínima de material en estudio, bajo costo y una cobertura del genoma de 10 – 20 *loci* por especie, ausencia de epistasis y presencia de influencias ambientales, este aspecto es de vital importancia ya que éstas proteínas pueden ser afectadas cualitativa y cuantitativamente en su nivel de expresión por factores ambientales; por lo tanto, para eficientar la técnica deben ser identificados los estados de desarrollo de las plantas en las cuales la proteína sea estable (Becerra y Paredes, 2000).

Los marcadores con isoenzimas se caracterizan por presentar expresión alélica de tipo codominante, lo que permite hacer comparaciones entre especies, poblaciones de una misma especie y detectar la presencia de híbridos e introgresión de genes (Paredes y Gepts, 1995).

La caracterización de las colectas se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos y/o agronómicos. No obstante, el uso de marcadores morfológicos tienen muchas limitantes, pues su expresión puede estar sujeta a factores ambientales o fenológicos. Con frecuencia estos marcadores pueden ser evaluados a nivel de toda la planta y cuando ésta llega a su estado adulto. Para los investigadores tomar los datos de las plantas hasta estado adulto significa una espera que se refleja en retraso. Por otro lado, actualmente se han desarrollado métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares que superan, en la gran mayoría de los casos las limitantes de los métodos tradicionales (Azofeita – Delgado, 2006).

Las limitaciones de los marcadores morfológicos y bioquímicos han sido superadas con la nueva generación de marcadores moleculares basados en las variaciones del ADN, ya que presentan la característica de no ser afectados por el ambiente y dependen directamente de las propiedades del ADN, las cuales no cambian aunque las plantas estén sujetas a condiciones ambientales cambiantes (Mendoza – Herrera y Simpson, 1996).

Los avances actuales en la Biología Molecular permiten visualizar diferencias tangibles entre las secuencias homólogas del ADN de los organismos. Estas diferencias resultan de cambios o arreglos entre las bases que forman este tipo de moléculas tales como: translocaciones, inversiones, inserciones o deleciones

en regiones homólogas. Por lo tanto estos marcadores detectan variaciones directas a nivel del ADN y tienen ventajas como el hecho de ser dominantes o codominantes, desarrollándose de manera estable, de carecer de efectos pleiotrópicos y sobre todo de no estar sujetos al ambiente (Valadez y Kahl, 2000).

Para obtener marcadores del ADN, se usan diferentes métodos que se pueden agrupar de manera convencional en tres categorías. La primera se basa en la técnica conocida como hibridación (Southern). Esta técnica tiene el propósito de explorar las variaciones en la longitud de los fragmentos de ADN ocasionados por la restricción del genoma con alguna endonucleasa particular. En esta categoría se incluye a los RFLP y a los VNTR (Valadez y Kahl, 2000).

La segunda categoría agrupa a las metodologías basadas en la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (Polymerase Chain Reaction). Esta tecnología utiliza secuencias de oligonucleótidos que inician la síntesis *in vitro* de fragmentos de ADN de longitudes variables. Estas secuencias pueden ser aleatorias, semialeatorias o específicas. Para esta tecnología se pueden citar como ejemplo las tecnologías: RAPD, AP-PCR, DAF y AFLP (Valadez y Kahl, 2000).

La tercera categoría involucra metodologías que combinan la PCR o sus productos de ADN más la hibridación tipo Southern. Por ejemplo la técnica de RAHM o llamada también RAMPO, que requiere de la síntesis previa de ADN con cualquiera de las metodologías de la PCR y la posterior hibridación con

alguna sonda que detecte microsatélites, optimizando la tipificación del ensayo pues con el resultado de la PCR se detecta un patrón de fragmentos llamados de primera generación, pero al hibridar las huellas con la sonda radioactiva detecta microsatélites y se revela otro patrón llamado de segunda generación (Valadez y Kahl, 2000).

2.12.1. Descripción de la metodología RAPDs para determinar marcadores moleculares

La técnica RAPDs (Polimorfismo en el ADN amplificado al azar), ha sido la más utilizada en la construcción de mapas y el análisis de semejanzas de los genotipos (Karp *et al.*, 1997). Los marcadores RAPDs son generados por la amplificación mediante PCR usando iniciadores sintéticos, generalmente de 10 pb de longitud de secuencia aleatoria. Estos oligonucleótidos sirven como 'primer' (iniciadores) que trabajan hacia delante o hacia atrás y son capaces de amplificar fragmentos de 1–10 sitios genómicos de manera simultánea. Los fragmentos amplificados tienen un tamaño en un rango de 0.5 – 5 kb. En sí, los oligonucleótidos o iniciadores son de secuencia arbitraria. El iniciador se usa como punto de partida para que la ADN polimerasa termoestable (Taq), forme la segunda cadena tomando como molde la cadena de ADN genómico, en presencia de una mezcla de desoxirribonucleósidos trifosfato (dNTP), para sintetizar y extender las secuencias genómicas a partir del extremo OH-3' de los iniciadores. La realización del proceso se lleva a cabo mediante un conjunto de productos de ADN amplificados, que representan blancos de secuencias flanqueadas por los iniciadores orientados de forma opuesta y alineados en

sitios complementarios. Williams *et al.* (1990), indican que éste proceso se realiza en un termociclador con un programa de varios ciclos por tiempo y temperaturas específicas, divididos en tres etapas básicas que incluyen: 1) desnaturalización térmica del ADN, este proceso consiste en la separación de las dos cadenas de ADN a una temperatura de 90 a 95 °C; 2) alineamiento de los oligonucleótidos (iniciadores) al ADN molde, lo cual ocurre a temperaturas entre 36 a 60 °C y; 3) extensión del iniciador por una ADN polimerasa en presencia de dNTPs. Los fragmentos de ADN se amplifican exponencialmente de 25 a 45 ciclos a temperatura de 72 °C.

Los productos amplificados pueden separarse mediante electroforesis en geles de agarosa o de poliacrilamida y visualizarse mediante la tinción con bromuro de etidio o plata, una vez teñido se puede observar la presencia o ausencia de bandas de tamaño particular; éste polimorfismo es debido principalmente a la variación en los sitios de unión por parte del iniciador, pero también se pueden generar por diferencias en las longitudes de amplificación de la secuencia entre los iniciadores ('primers') unidos a los sitios del ADN. La principal ventaja de los RAPDs es que son rápidos y fáciles de examinar (Schierwaters and Ender, 1993).

La PCR requiere cantidades bajas de ADN, usualmente entre 5 – 50 ng por reacción, además de que los 'primers' al azar están disponibles comercialmente, sin dejar de tomar en cuenta que los RAPDs están distribuidos al azar a través del genoma.

Entre las desventajas principales tenemos la reproducibilidad baja en diferentes laboratorios y en diferentes termocicladores (Schierwater and Ender, 1993). Reportes recientes indican que los problemas surgen por las impurezas presentes en la preparación del ADN y pueden ser resueltos cuidando la calidad del ADN a utilizar como molde, así también tomar en cuenta las etapas que se involucran en la amplificación del ADN (Micheli *et al.*, 1994). Los análisis RAPDs generalmente requieren ADN de alto peso molecular y son necesarias muchas precauciones para evitar la contaminación de las muestras, por que los 'primers' al azar que son usados son capaces de amplificar fragmentos de ADN en una variedad de organismos.

La aplicación de los RAPDs puede tener muchos propósitos o alcances como por ejemplo: para estudios a nivel individual (identificación genética), estudios de diversidad genética de cultivares, así como estudios de especies relacionadas entre sí y su relación con sus ancestros silvestres, sin dejar de tomar en cuenta que también puede ser aplicado a estudios de mapeo de genes o simplemente ayudar a convertir a este marcador a otro tipo de marcadores (Williams *et al.*, 1990; Hadrys *et al.*, 1992).

Los RAPDs son marcadores heredados en forma mendeliana y por lo tanto son dominantes (Williams *et al.*, 1990), con polimorfismo entre individuos definidos. Por lo cual no permiten distinguir entre individuos hetero y homocigotos. Estos marcadores pueden ser utilizados para localizar genes o secuencias genéticas asociadas con características de interés agronómico. Actualmente, se considera que los RAPD sirven para encontrar nuevos marcadores que se encuentren

ligados con un *locus* específico. Debido a la disponibilidad de iniciadores al azar para buscar ligamiento es simplemente cuestión de ensayar o tamizar muchos *loci* (Burr, 1994).

Con el desarrollo de la metodología de RAPDs se han producido otros marcadores basados en la PCR como son los SCAR y ASAP (Staub *et al.*, 1996). La utilidad de los marcadores RAPDs puede incrementarse secuenciando el término y longitud del iniciador llamadas SCARs. Los SCARs son más reproducibles que los RAPDs; es importante mencionar que los SCARs son usualmente marcadores dominantes y algunos teóricamente pueden ser convertidos a marcadores co-dominantes por digestión con endonucleasas (Staub *et al.*, 1996). Los ASAPs son una modificación reciente a la tecnología de la PCR, ya que involucra la extracción alcalina del ADN con la subsecuente amplificación del ADN en microplatos, utilizando iniciadores asociados con alélos específicos que generan un solo fragmento de ADN sencillo a temperaturas apropiadas de alineamiento similares a SCARs (Staub *et al.*, 1996).

2.12.2. Técnicas para generar marcadores moleculares

La utilidad de los marcadores genéticos depende de la técnica para detectarlos y para eso es necesario disponer de progenitores que presenten genotipos extremos para la característica de interés. Adicionalmente a lo anterior, para la detección de marcadores con características cualitativas, se utilizan poblaciones segregantes y si las características son cuantitativas es recomendable utilizar líneas endogámicas (Powell, 1992).

2.12.3. Interpretación de las huellas de ADN para análisis filogenéticos

Un patrón de huellas obtenido a partir de una muestra de ADN es raramente informativo de manera individual; sin embargo, cuando se utilizan diferentes muestras pueden ser comparados unos con otros dentro de una línea del gel, asignándoles una posición particular, esto se realiza utilizando un marcador de peso molecular conocido. A partir de éste, diferentes líneas son analizadas de manera simultánea basándose en la propiedad que tiene las bandas en cuanto a su tamaño y peso, debido a que ésta propiedad permite analizar la migración de las bandas en las posiciones iguales si éstas presentan igual tamaño. La precisión y exactitud depende de los parámetros metodológicos, calidad del ADN, condiciones electroforéticas, la calidad de los reactivos utilizados así como de los equipos (Valadéz y Kahl, 1997).

Otros factores importantes en la interpretación de las huellas de ADN consiste en evitar los errores al momento de analizar las bandas y éstos generalmente son: eliminar las bandas que sean difíciles de interpretar por causas de falta de definición con respecto a los comparadores, evitar que los criterios de inclusión en un grupo de bandas sean erróneo, por ejemplo el espesor de la banda o diferente posición de migración en el gel (Valadéz y Kahl, 1997).

2.12.4. Antecedentes del uso de marcadores moleculares y morfológicos en el cultivo de jamaica

Takayama *et al.* (2006), aislaron y caracterizaron microsatélites en *Hibiscus tiliaceus* L., y en especies del *Hibiscus* relacionadas; el estudio describió seis sitios de microsatélites. Los iniciadores produjeron una clara amplificación

polimórfica de los moldes y en los niveles de variabilidad entre los alelos tres y nueve. Seis marcadores fueron amplificados en otras cuatro especies de *Hibiscus*, incrementándose significativamente la utilidad de estos marcadores en la identificación de la especie.

Suvakanta *et al.* (2006) documentó la Identificación y variación genética entre dos especies *Hibiscus* y 16 variedades de *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae) usando marcadores RAPDs. La identificación de las especies o cultivares se realizó utilizando caracteres morfológicos como hábitos de crecimiento, morfología floral, colores de flores, así como otros caracteres de la planta. La selección de 'primers' se realizó usando el ADN de la variedad 'Prolific', el número de 'primers' utilizados fueron diez y la similitud genética fue evaluada sobre la base de ausencia o presencia de bandas. El análisis de agrupamientos indicó que las 16 variedades y las dos especies formaron dos grupos. El grupo principal consistió de tres variedades y un segundo 'cluster' (grupo) integró dos especies y trece variedades. La distancia genética fue muy cerrada dentro de las variedades y también entre las especies. Así que los marcadores RAPDs tienen un potencial para la identificación de especies, variedades y en la caracterización de la variación genética dentro de las variedades. Ello es útil para los programas de reproducción de *Hibiscus* debido a que aporta información para la conservación biológica de las especies.

Ibrahim y Hussein (2006), realizaron un estudio de la variabilidad en 16 genotipos de jamaica durante las temporadas del 2003 y 2004, evaluando

caracteres como altura de la planta, número de ramas, número de cápsulas, peso de la semilla y peso de sépalos, estudiando parámetros genéticos y generando un coeficiente de variación fenotípica (PVC) y uno genotípico (CVG). La correlación fenotípica y genotípica se estimó con los 5 caracteres estudiados en ambas temporadas. Los resultados demuestran que la estimación de los coeficientes de correlación genotípica, fueron en general superiores a su correspondiente correlación fenotípica entre los caracteres a nivel genético. A nivel fenotípico, el peso seco de los sépalos mostró un alto valor de significancia positivo asociado con el peso de la semilla en ambas temporadas. Otros caracteres mostraron una correlación negativa no significativa con el peso de los sépalos y semillas. A nivel genotípico más características mostraron una correlación positiva alta. En la primera temporada el número de ramas tuvo una alta correlación con el número de cápsulas por planta, el peso seco de las semillas y sépalos. En la segunda temporada, la altura de la planta tuvo una alta correlación significativa con el número de ramas, el mismo resultado se observó entre el número de ramas y el número de cápsulas. También, el peso de las semillas secas tuvo una alta correlación con el peso de los sépalos secos. La correlación fenotípica negativa y sus bajos valores se observaron en la segunda temporada, en el caso del peso de la semilla y sépalos secos con otros caracteres estudiados. Estas relaciones están influenciadas por factores ambientales limitando su productividad. Este estudio concluyó que la altura de la planta, número de ramas y peso seco de los sépalos son características con alta heredabilidad que pueden tomarse a consideración durante la selección para aumentar el rendimiento de jamaica.

Si bien es cierto que la okra (*Abelmoschus esculentus*) no es un pariente muy cercano de la jamaica si pertenece a la misma familia Gilmar *et al.*, (2003) estudiaron la diversidad genética en okra usando marcadores RAPDs. Los marcadores RAPDs fueron utilizados para estimar la diversidad entre 42 accesiones de *Abelmoschus* y una de *Hibiscus*. La similitud genética se basó en el índice de Jaccard de complemento aritmético. Para esta propuesta se usó la técnica del análisis multivariado a través del agrupamiento jerárquico del vecino más próximo y el método de Tocher, para obtener los aglomerados de los genotipos.

Se utilizaron 31 iniciadores al azar para amplificar el ADN a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), de éstos se generaron 103 fragmentos RAPD, los fragmentos polimórficos para los diversos iniciadores fueron 6. Los 43 genotipos se separaron en agrupamientos jerárquicos con base al método del vecino más próximo conforme a las especies botánicas, obteniendo la formación de 6 grupos distintos y la altura de corte se presentó a una distancia de 0.35. De acuerdo a las distancias genéticas se aislaron los grupos en un plano dimensional confirmando que el primer gran grupo de accesiones se unió a *A. esculentus* y a *A. caillei* revelando una semejanza genética elevada. Por otro lado el método de Tocher agrupó el 90 % del germoplasma evaluado, indicando una baja amplitud de la variabilidad de los genotipos en el estudio genético. En el grupo 1 incluyendo a *A. Moschatus* y *A. manihot* unido a las dos especies anteriores. El método optimizado de Tocher permitió que se formaran apenas 4 grupos de genotipos, mostrándose poca

definición en los análisis de agrupamiento jerárquico. El reagrupamiento de la accesión del grupo I del método de Tocher fue por el método jerárquico revelando la existencia de una importante heterogeneidad genética en el germoplasma estudiado. Con esta investigación se constató que los marcadores RAPD son eficientes en el estudio de la diversidad genética de okra. También, se determinó que las técnicas estadísticas utilizadas fueron capaces de establecer clasificaciones de la diversidad genética, mostrando la formación de seis grupos.

Cheng *et al.* (2002) realizaron un estudio comparativo de la diversidad genética en las variedades de Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) basado en el análisis RAPD y de datos agronómicos, con el fin de encontrar un método adecuado para la identificación de las variedades de kenaf, se analizaron 14 variedades de kenaf de uso común en Japón. Los datos de los análisis morfológicos incluyeron 7 caracteres cuantitativos los cuales, mostraron que las variedades incluidas de kenaf podrían ser divididas en tres grandes grupos. Los caracteres, tales como: el diámetro medio del tallo, el peso total del tallo, y los días a floración al 50 %, son altamente responsables de la variación en las variedades de kenaf, pero es difícil identificar las variedades individuales solamente por los caracteres morfo-agronómicos. Por otro lado, la clara separación de las variedades de kenaf se logró sobre la base en los patrones de variación RAPD en los cuales se utilizaron solamente 6 iniciadores del Kit Operon A. Con base en lo anterior, la relación genética de las variedades de kenaf puede ser rastreada a través del análisis de RAPD y las variaciones morfo-agronómicas.

Se concluyó en este estudio que el análisis de RAPD es una herramienta eficaz en la identificación de las variedades de kenaf y la determinación de sus relaciones genéticas, en particular cuando se combina con el análisis de caracteres morfo-agronómicos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 47 materiales de *Hibiscus sabdariffa* L., colectados en regiones tropicales y subtropicales del estado de Guerrero (Figura 1, Cuadro 7), en un rango de altura de 0–1200 m. Los municipios muestreados fueron Tecuanapa, Acapulco, Ometepepec, Tlapa, El Ocotito, Atoyac de Álvarez, Iguala, Chilpancingo y Arcelia (Figura 1 y Cuadro 7). El experimento se estableció en instalaciones de la Universidad Autónoma Chapingo bajo condiciones de invernadero rústico sin calefacción y con cubierta de cristal en el periodo de enero – octubre del 2008. La Universidad se localiza en el Estado de México, entre las coordenadas 19° 29'34.61" LN, 98° 53'06.93" LO, a 2254 msnm. La zona presenta un clima templado subhúmedo. La temperatura media oscila entre 22 y 28 °C. El clima se clasifica como C Wo w b (y) g (García, 1988).

3.1. Metodología de colecta

La fase metodológica del proyecto incluyó la exploración física y ecogeográfica para la identificación de los recursos fitogenéticos de interés de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). La estrategia de exploración consistió en la identificación y muestreo de las plantas, basándose en requerimientos agroecológicos de la especie como son clima, suelo, pendiente y altitud; así como en la lista de localidades descritas como productoras de jamaica en el Estado de Guerrero (Anónimo, 2006).

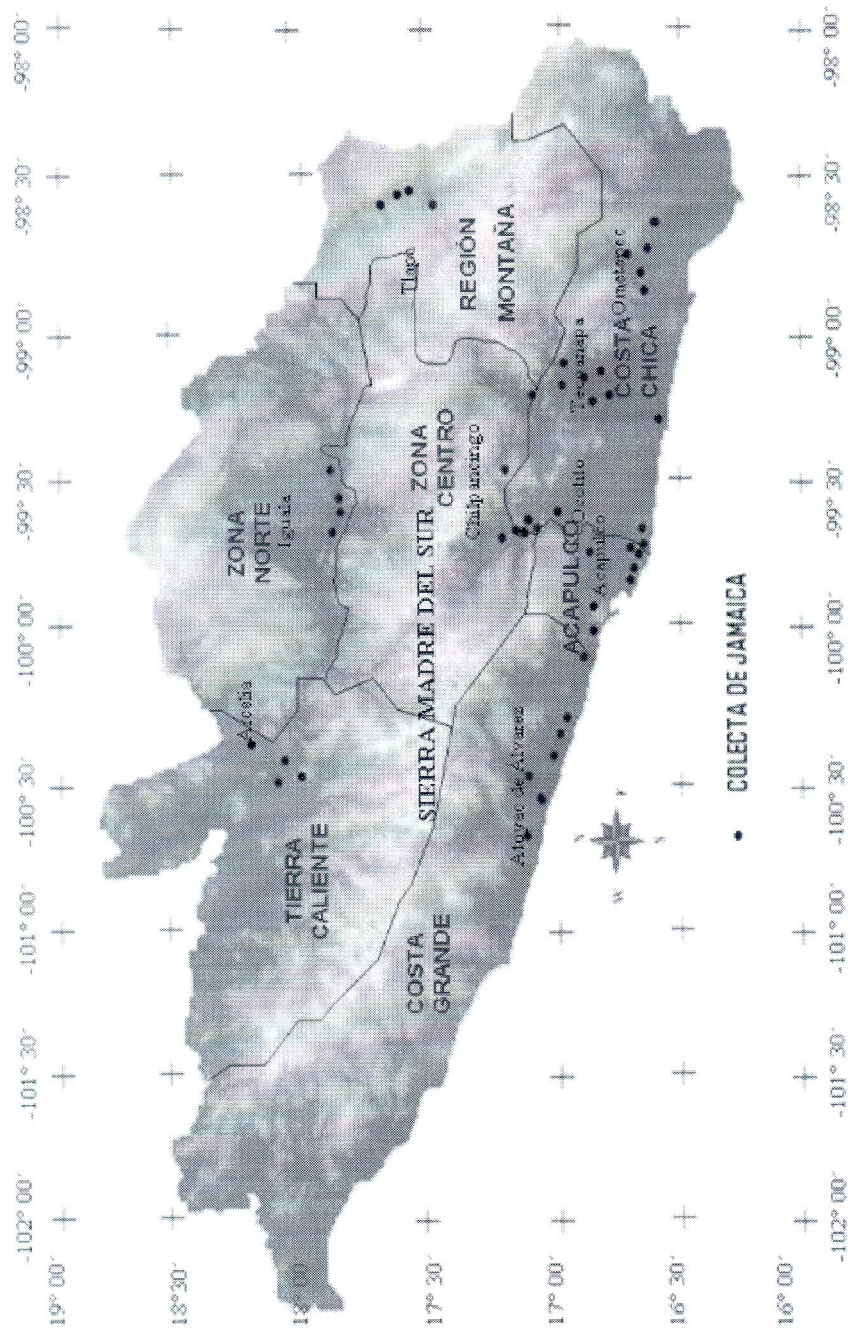


Figura 1. Ubicación de zonas de colecta de jamaica en las regiones económico-políticas del Estado de Guerrero.

Cuadro 7. Datos de pasaporte de colectas de jamaica.

Etiqueta	Municipio	Longitud.	Latitud	Lugar de colecta	Altitud en msnm	Pendiente del terreno (%)	Clima
1C	Tecoanapa	-99° 15'	16° 50'	Parcela	487	10	Aw0
1T	Tecoanapa	-99° 14'	16° 48'	Huerto de mango	490	5	Aw0
3T	Tecoanapa	-99° 15'	16° 47'	Parcela	497	10	Aw0
4T	Tecoanapa	-99° 16'	16° 47'	Parcela	512	20	Aw0
5T	Tecoanapa	-99° 17'	17° 00'	Parcela	516	5	Aw0
C7	Tecoanapa	-99° 18'	17° 02'	Parcela	616	25	Aw0
7T	Tecoanapa	-99° 20'	17° 03'	Parcela	512	5	Aw0
C9	Acapulco	-99° 42'	16° 44'	Playa	10	0	Aw0
9T	Acapulco	-99° 54'	16° 50'	Bocana	22	5	Aw0
10T	Acapulco	-99° 43'	16° 43'	Cerro de piedra	50	5	Aw0
11T	Acapulco	-99° 42'	16° 42'	No conocido	120	5	Aw0
12C	Acapulco	-99° 42'	16° 42'	El bejuco	70	5	Aw0
13T	Acapulco	-99° 40'	16° 50'	El Km. 30	385	5	Aw0
14T	Acapulco	-99° 35'	16° 50'	La sabana	170	5	Aw0
11C	Acapulco	-100° 05'	16° 51'	Valle del río	70	5	Aw0
15C	Ometepec	-98° 37'	16° 40'	Parcela	200	15	Aw0
15T	Ometepec	-98° 36'	16° 40'	Vegetación	215	10	Aw0
16C	Ometepec	-98° 35'	16° 40'	Vegetación	180	10	Aw0
16T	Ometepec	-98° 35'	16° 39'	Patio	150	5	Aw0
19T	Ometepec	-98° 45'	16° 41'	Parcela	250	10	Aw0
20T	Ometepec	-98° 48'	16° 40'	Vegetación	170	15	Aw0
21T	Tlapa	-98° 35'	17° 30'	Vegetación	925	25	Aw0
22T	Tlapa	-98° 35'	17° 29'	Vegetación	897	30	Aw0
23T	Tlapa	-98° 35'	17° 31'	Huerto de mango	1110	15	Aw1
24T	Tlapa	-98° 34'	17° 30'	Lote baldío	914	10	Aw0
C25	Ocotito	-99° 42'	17° 15'	Vegetación	912	10	Aw0
26T	Ocotito	-99° 42'	17° 14'	Parcela	1000	5	Aw1
27C	Ocotito	-99° 41'	17° 14'	Parcela	893	5	Aw0
27T	Ocotito	-99° 42'	17° 16'	Vegetación	914	5	Aw0
28C	Ocotito	-99° 42'	17° 13'	Vegetación	1087	15	Aw1
28T	Ocotito	-99° 41'	17° 15'	Vegetación	1080	10	Aw1
C29	Atoyac	-100° 30'	17° 00'	Casa	112	5	Aw0
29T	Atoyac	-100° 32'	17° 04'	Huerta	70	10	Aw0
30T	Atoyac	-100° 36'	17° 00'	Parcela	100	15	Aw0
31T	Atoyac	-100° 28'	17° 00'	Carretera	25	25	Aw0
32T	Atoyac	-100° 27'	17° 57'	Parcela	39	30	Aw0
20C	Atoyac	-100° 26'	17° 56'	Vegetación	15	15	Aw0
33T	Iguala	-99° 36'	17° 48'	Vegetación	514	5	Aw0
34T	Iguala	-99° 35'	17° 48'	Corral	612	5	Aw0
35T	Iguala	-99° 36'	17° 50'	Vegetación	578	5	Aw0
36T	Iguala	-99° 35'	17° 49'	Parcela	610	15	Aw0
37T	Chilpancingo	-99° 29'	99° 12'	Parcela	1110	10	Aw1
38T	Chilpancingo	-99° 29'	99° 11'	Parcela	1190	5	Aw1
39T	Arcelia	-100° 30'	18° 00'	Terreno baldío	430	10	Aw0
TEX	Arcelia	-100° 30'	17° 59'	Parcela	410	40	Aw0
JC	Arcelia	-100° 29'	17° 59'	Parcela	437	25	Aw0
11C.	Arcelia	-100° 31'	18° 01'	Parcela	512	30	Aw0

Los criterios de selección de las plantas fueron: a) que los especímenes provinieran de plantas y sitios diferentes además de encontrarse en estado productivo y aparentemente sanas, independientemente de que estuvieran asociadas con otra especies de interés agronómico o a la vegetación en el momento de la colecta. Esto fue con la finalidad de obtener semillas viables para su posterior propagación en invernadero; b) el número de plantas a las que se les tomó la muestra presentó una variación de 2 a 15 plantas por accesión, ésto dependió del número de ejemplares encontrados en los sitios de muestreo; c) simultáneamente se tomaron las variables correspondientes a la ubicación geográfica con la ayuda de un GPS Modelo 2000, como pendiente, altitud, asociación con tipo de vegetación o especies de interés agronómico, color del suelo e índice de pedregosidad en el lugar de la muestra, dicha información se encuentra registrada en los datos de pasaporte.

De cada planta se colectó un mínimo de 10 frutos. Para verificar el estado de madurez de los frutos se removi6 una muesca de la superficie externa de la cápsula y se cotejó la coloración de la semilla, considerando una coloración oscura o que dicha cápsula presentara indicios de dehiscencia (aparentemente próxima a abrir). Los frutos cosechados se envolvieron en bolsas de papel y se trasladaron a las instalaciones de la Universidad Autónoma Chapingo para su almacenamiento por un lapso de 3 meses hasta que alcanzaron el punto adecuado de madurez (fuera de la cápsula, limpias y secas).

La caracterización empezó con el establecimiento del semillero, en el cual se utilizó como sustrato el 'cosmo peat'. El número de semillas que se colocaron por compartimiento fueron 2, a una profundidad no mayor de 5 mm en cada

charola; al término del día 4 el proceso de germinación comenzó en la mayoría de las colectas. Las plántulas permanecieron en el semillero por un periodo de 2 meses hasta su transplante en bolsas de plástico negras de 30 x 30 cm utilizando como sustrato una combinación de tezontle, lana de roca, fibra de coco y dos sustratos turbas que reciben los nombres comerciales de 'cosmo peat' y 'promix', asignando 2 plantas por bolsa.

El número total de accesiones fue de 47 y el número de plantas por accesión fue de 20 plantas, dando un total de 940 plantas distribuidas uniformemente en 470 bolsas negras de 30 x 30.

3.2. Caracterización morfológica

3.2.1. Diseño de investigación y variables evaluadas

Para la caracterización morfológica se utilizó un arreglo al azar con 20 repeticiones por accesión. Las variables de respuesta fueron el rendimiento y las características morfológicas de las colectas (Cuadro 8).

Las características estructurales evaluadas de la planta fueron: altura de planta, esta se midió desde la base del tallo hasta el meristemo apical, considerando la planta en su estado adulto y en etapa productiva; la cobertura foliar se midió tomando en cuenta la longitud mayor y menor de las zonas de goteo de cada ejemplar (Figura 2). El diámetro basal se midió considerando la parte más baja del tallo que presentaba contacto directo con el sustrato. El criterio utilizado para medir el color en la parte media, se basó en el hecho de que no todas las colectas presentaban el mismo porte, por lo tanto, una vez que

dichos especímenes se encontraban en su estado adulto, se procedió a tomar datos de altura de la planta y dividirla entre dos para obtener la altura media. Simultáneamente a lo anterior se tomaron datos de número de flores, número de ramas, ausencia o presencia de glándulas, precocidad, color visible de hojas, flores y frutos.

Para evaluar características de las hojas, de cada colecta se seleccionó al azar 5 de ellas fisiológicamente maduras y a diferentes niveles de ubicación en la planta.

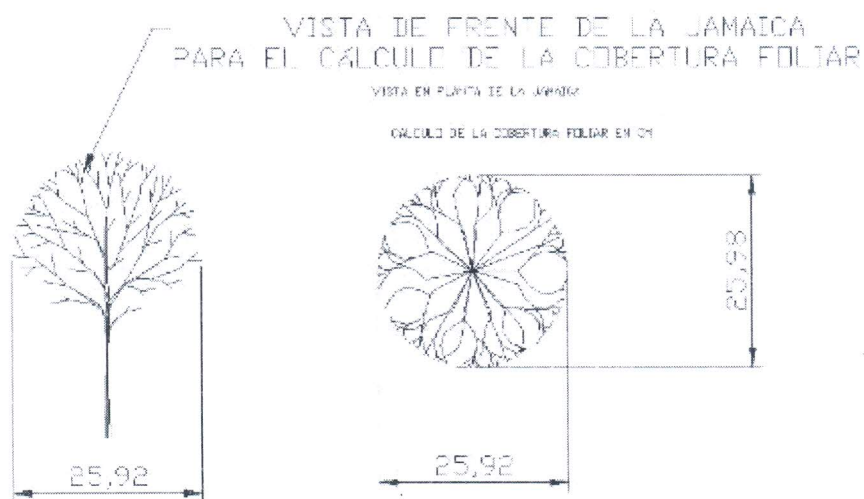


Figura 2. Zonas de medición en la planta de jamaica para la cobertura foliar.

Cuadro 8. Características morfológicas consideradas en la caracterización morfológica de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L).

Variable	Carácter medido	Unidad	Escala
X1	Altura de planta	Centímetros	
X2	Número de ramas	-	
X3	Número de frutos	-	
X4	Número de flores	-	
X5	Cobertura foliar en centímetros largo	Centímetros	
X6	Cobertura foliar en centímetros ancho	Centímetros	
X7	Número de lóbulos en hojas por planta	3-5	
X8	Color visual de la hoja	Arbitrario	1 – 4
X9	Longitud de peciolo	Centímetros	
X10	Color de peciolo	Arbitrario	1 – 3
X11	Diámetro basal del tallo	Centímetros	
X12	Color aparente del tallo	Arbitrario	1 – 9
X13	Número máximo de frutos por axila	Arbitrario	1 – 3
X14	Numero de brácteas	-	
X15	Color de brácteas	Arbitrario	1 – 2
X16	Color de flor	Arbitrario	1 – 3
X17	Precocidad	Arbitrario	1 – 3
X18	Ausencia o presencia de glándulas melíferas	Arbitrario	1 – 2
X19	Color visual del fruto aparente	Arbitrario	1 – 4
X20	Defoliación total a los 6 meses	Arbitrario	1 – 2
X21	Promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L)	0 -100	UC
X22	Promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (a)	-60 - 60	UC
X23	Promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (b)	-60 - 60	UC
X24	Croma C de la hoja	Color	UC
X25	Promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (L)	0 -100	UC
X26	Promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (a)	-60 - 60	UC
X27	Promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (b)	-60 - 60	UC
X28	Croma C de fruto	Color	UC
X29	Color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (L)	0 -100	UC
X30	Color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (a)	-60 - 60	UC
X31	Color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (b)	-60 - 60	UC
X32	Croma C en la base del tallo	Color	UC
X33	Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(L)	0 -100	UC
X34	Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(a)	-60 - 60	UC
X35	Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(b)	-60 - 60	UC
X36	Croma C del tallo en la parte media	Color	UC
X37	Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (L)	0 -100	UC
X38	Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (a)	-60 - 60	UC
X39	Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (b)	-60 - 60	UC
X40	Croma C de la flor	Color	UC
X41	Área de la hoja	Centímetros ²	Área
X42	Perímetro de la hoja	Centímetros	
X43	Longitud vertical de la hoja	Centímetros	
X44	Longitud horizontal de la hoja	Centímetros	
X45	Ángulo del lóbulo derecho de la hoja	Grados	
X46	Ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja	Grados	
X47	Longitud en la base del lóbulo principal de la hoja	Centímetros	
X48	Ángulo en la base del peciolo	Grados	
X49	Perímetro promedio del fruto	Centímetros	
X50	Longitud promedio del fruto	Centímetros	

UC= unidades de color

Para la descripción y medición de las hojas se tomaron en cuenta algunos aspectos considerados por Galet (1979), en su estudio de identificación y descripción de especies del género *Vitis*, que presentan características similares a la hoja de jamaica, además de adicionar propuestas nuevas de variables de medición. Con base a lo anterior, las características que se consideraron fueron:

1. Largo del pecíolo;
2. ancho de la lámina entre los lóbulos en ambos costados del lóbulo principal;
3. Longitud en la base del lóbulo principal;
4. Angulo derecho del lóbulo;
5. Angulo izquierdo del lóbulo;
6. Ángulo de la base del pecíolo;
7. Perímetro de la hoja;
- 8.- Área de la hoja.

Mismas que se esquematizan en la Figura 3.

En cuanto el análisis de la parte reproductiva de la planta, se consideraron los cálices y las semillas debido a que son las principales partes aprovechables. Se tomó el peso del fruto así como datos de longitud y diámetro promedio con la ayuda de un vernier y una balanza granataria. Cabe mencionar que para el muestreo se realizó una selección de 10 frutos en todos los individuos de las 47 colectas. Estos se separaron y se midieron en fresco tomando los datos anteriormente mencionados.

Las características cualitativas evaluadas fueron: a) color visual de la hoja; b) color de pecíolo; c) color aparente del tallo; d) color de brácteas; e) color de flor; f) precocidad; g) ausencia o presencia de glándulas melíferas; h) color visual del

fruto aparente; e i) defoliación total a los 6 meses. Para establecer los valores se realizó una comparación entre todas las colectas y con experiencia del contacto continuo entre los materiales se establecieron escalas para todas las variables fenotípicas cualitativas.

Los caracteres cuantitativos medidos fueron: número de ramas, número de frutos, número de brácteas, lóbulos y los promedios de color de hoja, tallo, flor y fruto, así como mediciones de área foliar, ángulos, alturas, pesos, perímetros y longitudes, según se indican en el Cuadro 8.

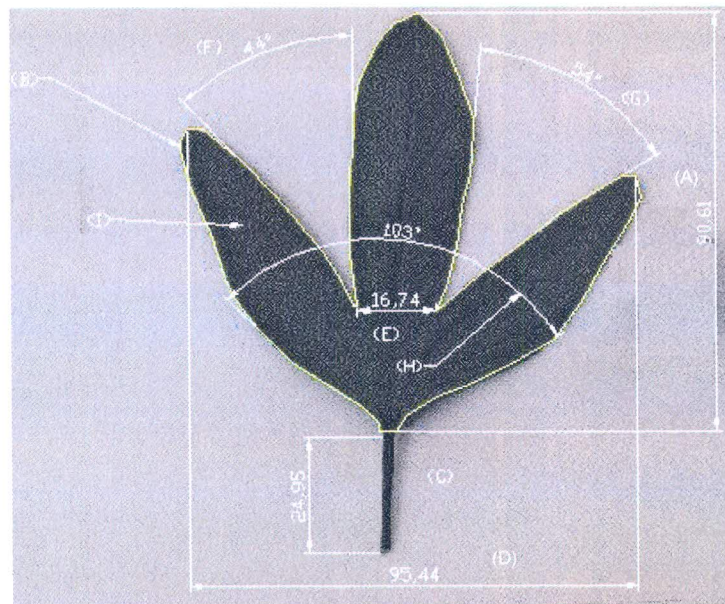


Figura 3. Características de la hoja que se evaluaron para el análisis morfológico: a) longitud del lóbulo principal; b) perímetro; c) longitud del pecíolo; d) longitud horizontal de los lóbulos entre ambos costados del lóbulo principal; e) ancho en la base del lóbulo principal de la hoja; f) ángulo del lóbulo izquierdo; g) ángulo del lóbulo derecho; h) ángulo sobre la base del pecíolo; i) área de la hoja.

3.2.2. Análisis estadísticos de marcadores morfológicos

Con el propósito de analizar estadísticamente los caracteres morfológicos evaluados, se realizó una base de datos en Excel y posteriormente se separaron las variables en cuantitativas y cualitativas siendo 40 y 10 respectivamente. Con las variables morfológicas cuantitativas y cualitativas se procedió a realizar análisis estadísticos independientes con el programa Statistical Analysis System (SAS, 2004) versión 9, utilizando los procedimientos siguientes: para la selección de las variables cuantitativas con alta significancia se utilizó el principio de una regresión progresiva hacia adelante llamado Forward y con las variables seleccionadas y estandarizadas se determinó los grupos usando PROC CLUSTER y PROC TREE del SAS (2004). Con un análisis de conglomerados de la varianza mínima de Ward se determinó el número de grupos de colectas a través de la representación gráfica de un análisis cúbico de agrupamientos y se construyó el dendrograma.

Además, es importante citar que el análisis discriminante permitió seleccionar las características más discriminantes entre cada grupo. La altura de corte en el dendrograma se determinó en base al análisis cúbico de agrupamientos.

Con las variables cualitativas se realizó un segundo análisis, en donde los agrupamientos estuvieron determinados mediante un análisis de correspondencia para detectar relaciones fenotípicas entre las colectas y así mismo inferir qué características determinaron el ordenamiento de las colectas.

3.3. Caracterización molecular

Para obtener los marcadores genético – moleculares se utilizó la metodología siguiente: de cada colecta se tomaron muestras de 5 plantas diferentes (un total de 220 extracciones de ADN). Posteriormente, se realizó una mezcla por colecta, mismas que se usaron para la amplificación.

Las muestras consistieron en tejido foliar joven libre de enfermedades o plagas con la finalidad de evitar contaminación con ADN extraño al material vegetal. El tejido se etiquetó y se colocó en un recipiente de plástico con una cantidad suficiente de hielo para evitar su deshidratación. Posteriormente se trasladó el material a las instalaciones del Laboratorio de Biotecnología Agrícola dependiente de la Universidad Autónoma Chapingo para su inmediato procesamiento.

Para la purificación del ADN se utilizó la metodología siguiente: 0.3 g del tejido vegetal fresco se maceró en nitrógeno líquido sin dejar descongelar; posteriormente se pasó el pulverizado a un microtubo (Eppendorf) de 1.5 ml conteniendo 600 µl de amortiguador de extracción y se mezcló agitando por unos segundos. Se incubó a 65 °C por 10 minutos, con inversión ocasional de los tubos. Después, se adicionaron 200 µl de acetato de potasio a una concentración de 5 molar, agitando por inversión y dejando 30 minutos en hielo. Se centrifugó a 15,000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Posteriormente, se procedió a transferir el sobrenadante a otro microtubo que contenía 700 µl de isopropanol frío. Se mezcló por inversión y se dejó a –20 °C

durante 30 minutos. Luego se procedió a centrifugar por 5 minutos a 10,000 rpm, a temperatura ambiente. El paso siguiente fue la eliminación del sobrenadante dejando sólo el precipitado. Posteriormente se disolvió en 200 µl de solución para diluir.

Para eliminar el ARN se utilizaron 2 µl de ARNasaA, incubando a 37° C por 1 hora. Luego, se adicionaron 20 µl de acetato de sodio a una concentración de 3 M y 200 µl de isopropanol, se mezcló por inversión y se dejó precipitar a -20 °C por 2 horas. Se centrifugó por 5 minutos a 10,000 rpm, a temperatura ambiente. Se eliminó el sobrenadante y se lavó el precipitado con 300 µl de etanol al 70 %, dejando secar la pastilla en el microtubo; posteriormente se procedió a disolver la pastilla en 100 µl de amortiguador TE (Tris – HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8.0) almacenándolo a una temperatura de 4 °C.

La amplificación se llevó a cabo por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en un termociclador, usando una ADN polimerasa termoestable cuyo punto de temperatura óptima se encontraba alrededor de los 72 °C. Los componentes de la reacción utilizados en este estudio se muestran en el Cuadro 9.

Una vez realizada la mezcla de los reactivos anteriormente descritos se procedió a incubar el tubo eppendorf en el termociclador para llevar a cabo la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Cuadro 9. Mezcla de reacción de la PCR para la obtención de los patrones RAPDs de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.).

Componente	Volumen final en μL
Agua bidestilada	4.2
dNTPS (500 μM)	10.0
Amortiguador 10X	2.5
Cloruro de Magnesio (MgCl_2) (50 mM)	1.0
Iniciador (10 pmol/ μL)	3.0
Enzima (Taq ADNpolimerasa, 5 U/ μL)	0.3
AND (10 ng/ μL)	4.0
Volumen total por reacción	25.0

Nota: es importante evitar salpicar los tubos de reacción durante la incubación en el termociclador.

Las condiciones de reacción fueron: un ciclo a 94 °C, 2 min; 38 ciclos a 94 °C, 30 segundos, 40 °C por 30 segundos, 72 °C por 90 segundos ; y al final 72 °C por 2 minutos. Es importante mencionar que los 38 ciclos contaron con los pasos siguientes: desnaturalización, alineamiento y extensión. Una vez completada la reacción, se procedió a realizar la electroforesis en geles preparados con TAE 0.5 X y agarosa a una concentración al 1.2 %. La cantidad de muestra de reacción que se colocó en el gel fue de 10 μL con una gota de colorante de carga (2 μL). Una vez que las muestras se cargaron en el gel, también se cargaron marcadores de peso molecular 1 kb en ambos extremos del gel, con la finalidad de conocer el peso molecular de los fragmentos de ADN amplificado. El corrimiento consistió en la aplicación de corriente eléctrica a 120 V a partir de una fuente de poder, mientras el gel se encontraba sumergido en una solución de TAE 0.5 X en la cámara electroforética. Posteriormente, una vez completado el corrimiento, se procedió a retirar el gel de la cámara con el

propósito de revelar las bandas presentes, con una solución de bromuro de etidio (10 µg)/ µl), por aproximadamente 10 min. Después se enjuagó por 5 minutos con agua destilada con agitación suave, se colocó en un transiluminador de luz ultravioleta para documentar mediante fotografía con rollo blanco y negro y filtro naranja.

La secuencia de los iniciadores utilizados para amplificar el ADN se muestran en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Iniciadores seleccionados en la caracterización molecular.

Iniciador	Secuencia nucleotídica 5' - 3'
OPA01	CAGGCCCTTC
OPA02	TGCCGAGCTG
OPA03	AGTCAGCCAC
OP03	AGTCAGCCAC
OPA04	AATCGGGCTG
OPA09	GGGTAACGCC
OPA10	GTGATCGCAG
OPA17	GACCGCTTGT
OPA18	AGGTGACCGT
OPA19	CAAACGTCGG
OPA20	GTTGCGATCC
OPD10	GGTCTACACC

¹ Operon Technologies INC, Alameda, EEUU.

3.3.1. Análisis estadístico de marcadores moleculares

Para el análisis de RAPDs se consideró el número de bandas totales presentes en los geles y su peso molecular en pares de bases. Una vez realizado esto, se procedió a generar una matriz binaria de datos; para cada iniciador y para cada colecta, se determinó la presencia o ausencia de las bandas cuantificadas, asignando el número cero a la ausencia de banda y un uno a la presencia de banda. Para la evaluación de las bandas se utilizaron dos métodos con la finalidad de corroborar la certeza de los resultados: uno se basó en la observación a simple vista y manualmente utilizando una regla transparente; y

el otro utilizó un sistema computarizado llamado AUTO CAD, 2004 que permite la visualización, así como el establecimiento de reglas que corroboran el método anterior.

La matriz de datos se vació en una hoja de cálculo (EXCEL) para su posterior utilización en el programa NTSYS versión 2.1 (Numerical Taxonomic Analysis System), calculando similitudes genéticas entre todas las muestras. Con este procedimiento se obtuvo una matriz de similitud aplicando el coeficiente de Jaccard.

En cuanto a la construcción de dendrogramas, éstos se elaboraron según el índice de similitud de Jaccard, tomando a cada accesión como una unidad taxonómica operacional (OTU).

Utilizando el programa Freetree versión 0.9.1.50 (Hampl *et al.*, 2001) se realizó 1000 remuestreos para obtener el árbol más robusto. Con los datos RAPD se hizo el análisis de correspondencia utilizando el programa NTSYS.

Adicionalmente a lo anterior se procedió a hacer un análisis de poblaciones con la ayuda del programa Popgene 32 (Yeh *et al.*, 1999) tomando como poblaciones individuales a todas las colectas realizadas en cada municipio. En el análisis se estimaron parámetros como el porcentaje de *loci* polimórficos (p), número de alelos observados por locus (N_a) número efectivo de alelos por locus (N_e), índice de diversidad genética de Nei (H), índice de diversidad genética de Shannon (I), coeficiente de diferenciación genética entre poblaciones (G_{ST}) y número de individuos migrantes (N_m).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados de la caracterización morfológica

Las colectas de jamaica mostraron variabilidad a nivel de hojas, tallos, frutos y flores como se muestra en las Figuras 4, 5, 6.

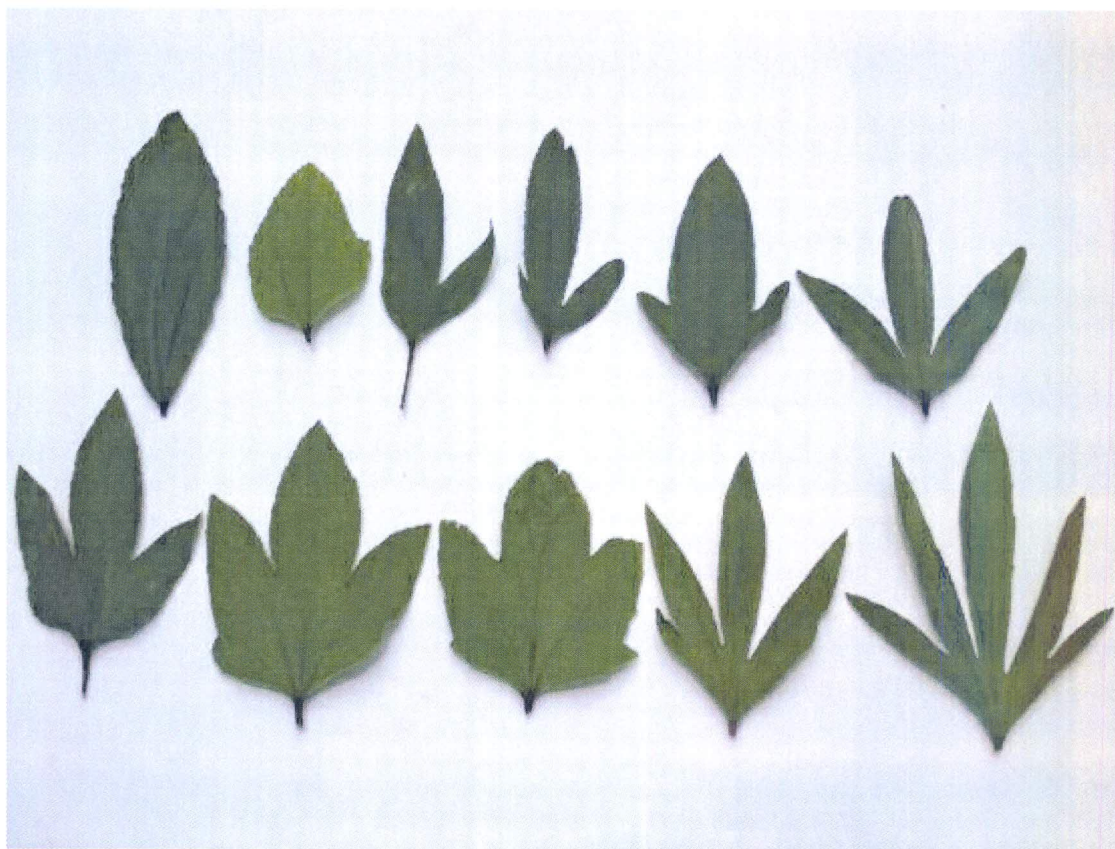


Figura 4. Variabilidad morfológica de la hoja detectada entre las colectas de jamaica.



Figura 5. Variabilidad morfológica y de color en tallo, hoja, flor y fruto de 47 colectas de jamaica.



(a)



b)

Figuras 6. Variabilidad fenotípica de frutos a) enteros y b) seccionados.

Durante la caracterización morfológica se evaluaron 47 colectas de jamaica *Hibiscus sabdariffa* L., las cuales se clasificaron con base en su similitud morfológica. Se analizó un total de 50 variables (Cuadro 8) elaborando una base de datos con el programa Excel, separando las variables en cuantitativas y cualitativas.

4.1.1. Análisis de variables morfológicas cuantitativas

Para el análisis de variables cuantitativas se utilizó el principio de una regresión progresiva hacia adelante llamado Forward con un nivel de significancia de 0.04, obteniendo los resultados que se muestran en el Cuadro 11.

El valor de la probabilidad de F se comparó con el valor de significancia indicado para la entrada de la variable en el modelo. Una vez efectuado el análisis, el programa detectó valores de la F significativos, dando como resultado 25 variables seleccionadas (Cuadro 11). Lo importante de este método es que, si ninguna de las F calculadas es significativa, el proceso se detiene y no se obtiene ninguna selección de variables; el corrimiento de programa se encuentra en el Anexo 1.

Una vez realizada la selección de las variables cuantitativas altamente significativas se realizó un análisis de agrupamiento o cluster para indicar grupos al análisis discriminante.

En el Cuadro 12 se muestran las medias, desviación estándar y coeficiente de variación de las características evaluadas en la cual observamos que los caracteres que presentaron mayor variación fueron el promedio de color de flor (a), longitud promedio del fruto, perímetro promedio del fruto y promedio de

Cuadro 11. Variables cuantitativas seleccionadas según la instrucción Forward en SAS.

Número de Variables	Método de Forward	Carácter medido	Unidad
1	X47	Longitud en la base del lóbulo principal de la hoja	Centímetros
2	X48	Ángulo en la base del peciolo	Grados
3	X50	Longitud promedio del fruto	Centímetros
4	X49	Perímetro promedio del fruto	Centímetros
5	X25	Promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (L)	UC
6	X38	Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (a)	UC
7	X42	Perímetro de la hoja	Centímetros
8	X43	Longitud vertical de la hoja	Centímetros
9	X46	Ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja	Grados
10	X44	Longitud horizontal de la hoja	Centímetros
11	X2	Número de ramas	-
12	X14	Número de brácteas	-
13	X3	Número de frutos	-
14	X33	Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(L)	UC
15	X31	Color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (b)	UC
16	X28	Croma C de fruto	Color
17	X41	Área de la hoja	Centímetros ²
18	X4	Número de flores	-
19	X39	Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (b)	UC
20	X40	Croma C de la flor	Color
21	X21	Promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L)	UC
22	X7	Número de lóbulos en hojas por planta	-
23	X1	Altura de planta	Centímetros
24	X9	Longitud de peciolo	Centímetros
25	X34	Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(a)	UC

UC = Unidades de color

Cuadro 12. Medias y desviaciones estándar de las variables cuantitativas seleccionadas.

Variable	Carácter medido	Media	Desviación estándar	CV (%)
X47	Longitud en la base del lóbulo principal de la hoja	1.86	0.77	41.46
X48	Ángulo en la base del pecíolo	105.63	23.22	21.98
X50	Longitud promedio del fruto	8.23	13.81	167.83
X49	Perímetro promedio del fruto	5.17	7.93	153.36
X25	Promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (L)	28.12	9.17	32.60
X38	Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (a)	5.76	7.54	130.87
X42	Perímetro de la hoja	31.67	6.58	20.79
X43	Longitud vertical de la hoja	7.51	1.41	18.84
X46	Ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja	54.55	14.41	26.41
X44	Longitud horizontal de la hoja	7.86	1.58	20.14
X2	Número de ramas	8.51	3.77	44.32
X14	Numero de brácteas	9.52	0.98	10.24
X3	Número de frutos	14.48	12.48	86.18
X33	Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(L)	40.93	6.88	16.80
X31	Color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (b)	10.29	7.07	68.71
X28	Croma C de fruto	20.47	5.47	26.73
X41	Área de la hoja	25.83	8.61	33.35
X4	Número de flores	0.81	0.65	80.23
X39	Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (b)	12.72	4.76	37.42
X40	Croma C de la flor	12.72	3.05	23.95
X21	Promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L)	41.03	3.21	7.82
X7	Número de lóbulos en hojas por planta	3.86	0.66	17.19
X1	Altura de planta	115.38	20.74	17.97
X9	Longitud de pecíolo	8.06	1.36	16.84
X34	Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(a)	1.03	0.73	70.78

color de flor cuantificado con colorímetro (a), con coeficientes de variación de 167.83, 153.86, y 130.87, respectivamente. Los caracteres con menor variabilidad fueron promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L) (CV = 7.82 %), número de brácteas (CV = 10.24 %) y color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro (L) (CV = 16.80 %).

Cuadro 13. Matriz de correlación para las variables cuantitativas seleccionadas.

	X47	X48	X50	X49	X25	X38	X42	X43	X46	X44	X2	X14	X3	X33	X31	X28	X41	X4	X39	X40	X21	X7	X1	X9	X34
X47	1.00																								
X48	-0.09	1.00																							
X50	0.57	-0.42	1.00																						
X49	0.55	-0.38	0.99	1.00																					
X25	-0.23	-0.17	0.07	0.07	1.00																				
X38	-0.23	0.05	-0.26	-0.26	-0.09	1.00																			
X42	0.00	-0.01	0.44	0.48	0.37	-0.13	1.00																		
X43	0.58	-0.36	0.78	0.79	0.19	-0.28	0.70	1.00																	
X46	0.38	-0.38	0.46	0.41	-0.32	-0.01	-0.23	0.10	1.00																
X44	0.22	0.27	0.14	0.20	0.01	0.00	0.48	0.43	-0.41	1.00															
X2	-0.31	-0.01	-0.08	-0.12	0.37	0.03	0.27	0.05	-0.38	-0.08	1.00														
X14	0.00	0.09	-0.18	-0.18	0.07	0.04	-0.04	-0.06	-0.33	0.13	0.12	1.00													
X3	0.26	0.14	-0.15	-0.13	-0.34	-0.10	-0.27	-0.12	-0.10	-0.04	0.03	0.21	1.00												
X33	-0.20	-0.20	-0.01	-0.01	0.54	-0.53	0.27	0.11	-0.24	0.03	0.30	-0.06	0.00	1.00											
X31	-0.12	-0.36	-0.02	-0.05	0.71	-0.22	0.07	0.07	-0.28	-0.19	0.37	0.13	-0.14	0.54	1.00										
X28	-0.11	-0.18	-0.03	-0.01	0.42	0.10	0.34	0.19	-0.30	0.16	0.23	-0.07	-0.19	0.30	0.27	1.00									
X41	0.67	-0.10	0.64	0.64	0.07	-0.33	0.66	0.90	0.10	0.51	-0.03	-0.02	0.01	0.10	-0.04	0.09	1.00								
X4	0.13	-0.24	0.14	0.12	0.14	-0.42	0.36	0.36	-0.09	0.24	0.42	0.30	0.17	0.47	0.23	0.21	0.34	1.00							
X39	0.25	-0.08	0.29	0.27	-0.08	-0.81	0.27	0.36	0.11	0.05	0.04	-0.14	-0.06	0.39	0.10	-0.12	0.43	0.43	1.00						
X40	-0.03	-0.13	-0.02	-0.06	0.06	0.36	0.09	0.01	0.21	-0.24	0.26	-0.27	-0.43	-0.14	0.06	0.31	-0.06	0.03	0.04	1.00					
X21	-0.19	-0.06	-0.01	-0.03	0.28	-0.32	-0.04	-0.04	-0.08	-0.32	0.14	0.03	0.09	0.32	0.22	0.13	-0.13	0.05	0.00	-0.19	1.00				
X7	0.06	0.09	-0.03	-0.06	0.22	0.02	-0.03	-0.05	0.01	-0.23	0.33	-0.10	0.17	0.01	0.17	0.09	0.05	0.04	-0.16	0.16	0.27	1.00			
X1	-0.17	0.05	-0.02	-0.05	0.23	-0.18	0.26	0.07	-0.43	0.03	0.81	0.13	0.14	0.42	0.46	0.12	0.09	0.36	0.22	0.05	0.18	0.26	1.00		
X9	0.05	0.16	-0.15	-0.15	-0.34	0.35	-0.49	-0.39	0.22	-0.01	-0.51	0.09	0.34	-0.37	-0.43	-0.26	-0.22	-0.52	-0.52	-0.36	-0.03	0.12	-0.40	1.00	
X34	0.02	0.02	0.22	0.21	-0.15	0.51	-0.04	0.02	0.20	-0.07	-0.01	-0.17	-0.16	-0.70	-0.28	-0.03	-0.12	-0.33	-0.41	0.37	0.02	0.28	-0.18	0.16	1.00

X47= Longitud en la base del lóbulo principal de la hoja, X48= Ángulo en la base del peciolo, X50= Longitud promedio del fruto, X49= Perímetro promedio del fruto, X25= Promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (L), X38= Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (a), X42= Perímetro de la hoja, X43= Longitud vertical de la hoja, X46= Ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja, X44= Longitud horizontal de la hoja, X2= Número de ramas, X14= Número de brácteas, X3= Número de frutos, X33= Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro (L), X31= Color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (b), X28= Cromo C de fruto, X41= Área de la hoja, X4= Número de flores, X39= Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (b), X40= Cromo C de la flor, X21= Promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L), X7= Número de lóbulos en hojas por planta, X1= Altura de planta, X9= Longitud de peciolo, X34= Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(a).

En el Cuadro 13 se observa la matriz de correlación entre las variables cuantitativas que presentaron alta significancia y que fueron seleccionadas utilizando el principio de una regresión progresiva hacia adelante con la instrucción Forward. Se observa que existe correlación alta y positiva ($r = 0.99$) entre las variables longitud promedio del fruto (X50) y perímetro promedio del fruto (X49); entre las variables X43 = longitud vertical de la hoja y X50 = longitud promedio del fruto hubo una correlación de 0.78; entre X1= Altura de planta y X2= Número de ramas (0.81); entre X25 = promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (L) y X31 = color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (b) (0.71); y entre X41 = área de la hoja y X43 = longitud vertical de la hoja se dio una $r = 0.90$. Esto puede ser indicativo de que existe información redundante entre las variables y por lo tanto con solo la aplicación de una de ellas se puede explicar la parte de la variabilidad morfológica que aportan las variables. Otros datos importantes del Cuadro 13 indicaron valores de correlación negativa entre las variables X39= promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (b) y X38 = promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (a) ($r = -0.81$); X33 = color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro (L) y X34 = color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(a) presentaron un valor de $r = -0.70$. Siendo esto indicador de que cuando se incrementó el valor de alguna de estas variables su contraparte se vio afectada negativamente. En cuanto al resto de las variables se encontró baja correlación entre las mismas, siendo necesario tomar en cuenta cada una de ellas.

En el dendrograma de la Figura 7 se observa la formación de cuatro grupos y la altura de corte se presenta a 0.100, esta altura de corte esta determinada en función directa con el número de grupos que se obtiene por la representación gráfica del análisis cúbico de agrupamientos.

El grupo I se divide en dos subgrupos. El primer subgrupo está conformado por las colectas 10T, 15C, 19T, 1C, 11C, 16C, 11T, 28C, 12C, 22T, 20C, 27C, 9C, 30T, JC, 1T, 28T, 31T, 20T, 27T, 25C, 26T y 24T. En este subgrupo se encuentran las colectas 11T y 28C separadas a una distancia de 0.001, siendo esta la menor distancia que se observa en el dendrograma.

El segundo subgrupo lo formaron las colectas: 14T, 7C, 15T, 29T, 21T y 23T. Dichos subgrupos se separan a una distancia de 0.075. El grupo II lo conformó solamente la colecta 9T separándose totalmente del grupo uno a una distancia de 0.135.

El grupo III estuvo conformado por las colectas: 13T, 16T, 19C, 36T, 37T, 4T, 5T, 29C, TEX, 3T, 32T, 33T, 34T, 38T, 35T y 39T. Este grupo se encuentra unido al grupo IV a una distancia de 0.130. El cuarto grupo lo constituyó la colecta 7T. Entre las colectas más importantes que se separan totalmente de los grupos principales debido a sus características fenotípicas fueron las colectas 7T y 9T.

La colecta 7T presenta frutos (rojo intenso) y carece de glándulas melíferas, mientras que 9T es muy tardía, tiene frutos de color blanco y tiene glándulas melíferas.

En la Figura 9 se puede observar una tendencia uniforme en los 3 primeros grupos (1, 2, 3); esto, para los puntos más bajos, sin embargo en el cuarto grupo se hace evidente una variación en la tendencia de la grafica con respecto a los demás grupos. Estas diferencias en las tendencias son indicadores de las formaciones de cuatro grupos.

Cabe señalar que también se realizó un análisis para determinar número de grupos por el método de pseudoestadística T^2 sin embargo dicho grafico no define claramente el número correcto de grupos formados como en el caso del método CCC (Figura 8).

De acuerdo con el Cuadro 14 se observa que los primeros cuatro conglomerados explican la variabilidad morfológica de los materiales de jamaica en un 62.0 %. Obsérvese que para la formación de conglomerados, después 11 hay pocas aportaciones a la explicación de la variabilidad; por lo tanto, no seria congruente utilizar las 25 conglomerados de valor significativo.

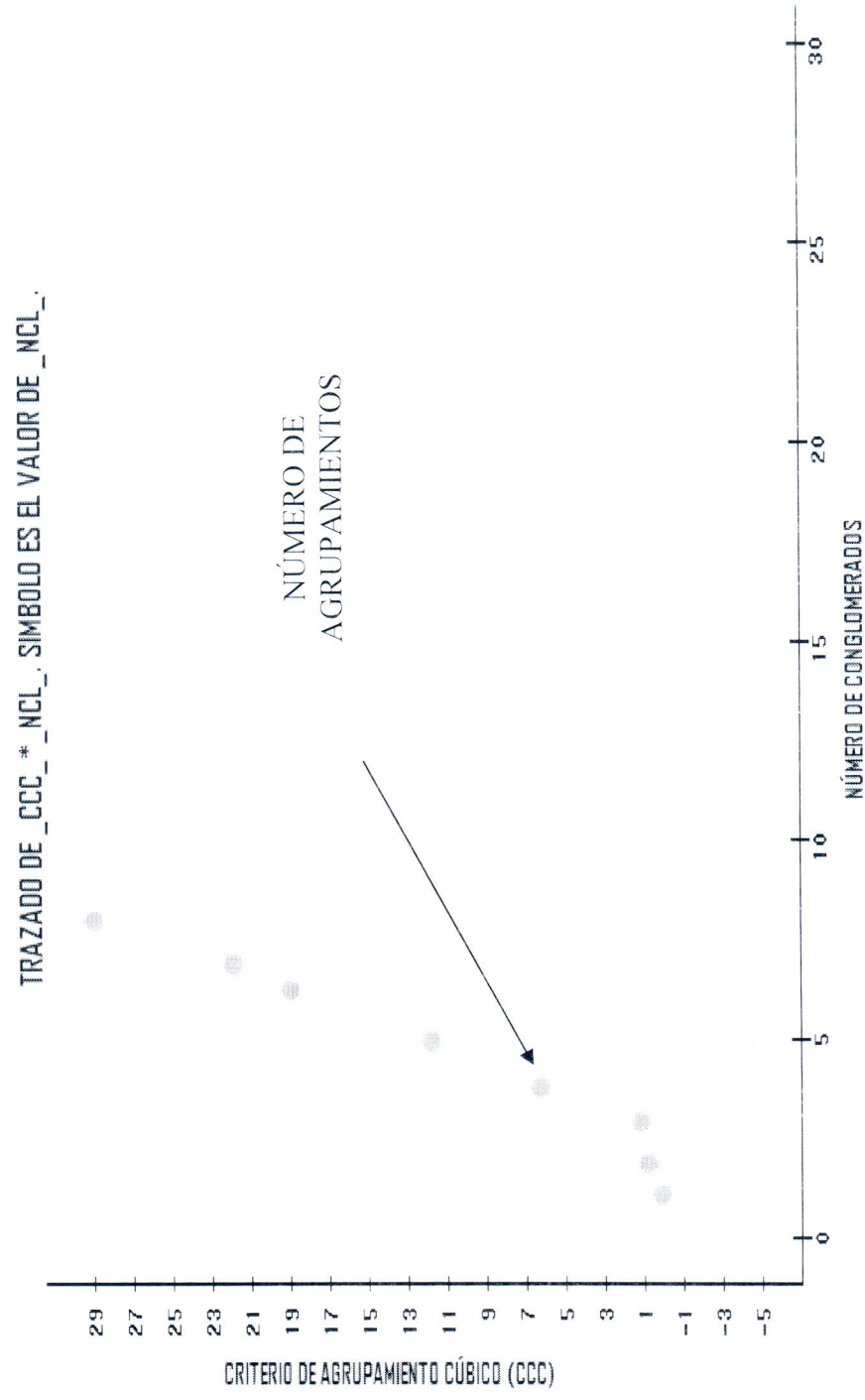


Figura 8. Representación gráfica de formación de grupos (Análisis Cúbico de Agrupamientos).

Cuadro 14. Procedimiento Cluster, análisis del conglomerado de la varianza mínima de WARD correspondientes a las variables morfológicas cuantitativas seleccionadas.

Conglomerados	Valor propio	Diferencia	Proporción	Proporción acumulada
1	5.74	0.93	0.23	0.23
2	4.81	1.94	0.19	0.42
3	2.87	0.73	0.12	0.54
4	2.15	0.16	0.09	0.62
5	1.99	0.58	0.08	0.70
6	1.41	0.15	0.06	0.76
7	1.26	0.29	0.05	0.81
8	0.98	0.17	0.04	0.85
9	0.81	0.18	0.03	0.88
10	0.63	0.02	0.03	0.91
11	0.60	0.18	0.02	0.93
12	0.42	0.06	0.02	0.95
13	0.36	0.13	0.01	0.96
14	0.23	0.03	0.01	0.97
15	0.21	0.04	0.01	0.98
16	0.17	0.03	0.01	0.99
17	0.14	0.05	0.01	0.99
18	0.10	0.06	0.00	1.00
19	0.04	0.01	0.00	1.00
20	0.03	0.00	0.00	1.00
21	0.02	0.01	0.00	1.00
22	0.02	0.02	0.00	1.00
23	0.00	0.00	0.00	1.00
24	0.00	0.00	0.00	1.00
25	0.00		0.00	1.00

¹Se han estandarizado los datos en la media 0 y varianza 1.

Desviación estándar de la muestra total cuadrática media = 7.07

Por otro lado, el análisis discriminante canónico permitió determinar las características más discriminantes. La variable canónica uno explica el 65.98 % de la variabilidad entre las colectas de jamaica. La variable canónica dos explica el 30.15 % del total de la variabilidad (Cuadro 15). De tal forma que juntas explican el 96.13 % de la variabilidad presente en las colectas de jamaica.

Cuadro 15. Porcentaje de las variables canónicas que explica la variabilidad entre colectas de jamaica.

Variable canónica	%	% Acumulado
Variable canónica 1	65.98	65.98
Variable canónica 2	30.15	96.13
Variable canónica 3	2.40	98.97
Variable canónica 4	1.03	100.00

En el Cuadro 16, se observa las estructuras canónicas de las variables discriminantes, estas se encuentran definidas a partir de cuatro grupos de colectas de jamaica.

Como se muestra en la Figura 9, las características que más contribuyen a explicar la variabilidad fenotípica por la variable discriminante canónica uno (VD1) fueron longitud en la base del lóbulo principal de la hoja, longitud promedio del fruto, perímetro promedio del fruto, longitud vertical de la hoja y ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja. Para la variable discriminante dos (VD2) las características que mas contribuyen a la variabilidad fenotípica son croma (C) de la flor y promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L). Finalmente, las características que explicaron la variabilidad fenotípica de la tercera variable discriminante fueron promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (L), color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro (L), color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (b), croma (C) de fruto, y color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro (a).

Según lo anterior, en la separación de las clases es importante la coloración en flor, las características de hojas y tamaño del fruto que presentan los materiales colectados (Figura 9). La variable discriminante 1 (VD1) está explicada por: X47, X50, X49, X43, X46, X41; y la variable discriminante 2 (VD2) está explicada por: X40, X21.

En la separación de grupos por la variable discriminante uno, observamos que en los cuadrantes superior e inferior izquierdo se ubicaron tres clases con las colectas 9T, 39T, TEX, 27T, 37T, C9, 31T, 32T y 22T entre otras, con las características de pequeña longitud en la base del lóbulo principal, longitud del fruto pequeño, perímetro promedio del fruto pequeño, pequeña longitud vertical de la hoja y pequeño ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja. Es importante mencionar que aunque todas las colectas de esos cuadrantes presentan esas características, el valor más extremo lo encontramos en la colecta 9T debido a que se encuentra el extremo más alejado del cero con valores negativos, donde sus valores de las variables mencionadas fueron: longitud en base del lóbulo principal de hoja (0.61), longitud promedio del fruto (2.11), perímetro promedio del fruto (1.31), longitud vertical de la hoja (5.357) y el ángulo izquierdo de la hoja (35.79°). En la parte opuesta de la variable discriminante uno encontramos las colectas 15T, 7T y 14T con las características de longitud en la base del lóbulo principal de (4.12), longitud promedio del fruto (5.7), perímetro promedio del fruto (3.6), longitud vertical de la hoja (11.408) y ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja (104.8). por lo tanto, los agrupamientos intermedios se encuentran entre dichos parámetros de medición.

Para tener una visión de la separación de grupos para la variable discriminante dos, tomamos en cuenta la escala de valores del colorímetro y su rango de escalas de medición de color. Para los valores de L el rango de medición varió de 0 a 100, indicando que el valor de 0 está relacionado con el color negro. Por lo tanto en la Figura 9 el agrupamiento con las accesiones 30T, C9, 23T, 31T y 27T, entre otras, se encuentran distribuidas en el cuadrante izquierdo inferior, presentando escalas de medición negativas, esto es indicador de valores muy bajos en la escala de valores de (L), revelando que los colores de las hojas y de las flores fueron mas oscuras haciendo inferencia que en la hojas, los colores oscilaban de verde intenso y en algunas colectas con pigmentaciones rojas, para las flores indicaron colores rosa intenso. En el agrupamiento del cuadrante superior izquierdo pero de la parte inferior se observaron las colectas 39T, 22T, 37T, 4T entre otras, con escalas de valores positivos, indicaron que el agrupamiento presenta colores de hoja verdes más claros y flores con coloraciones poco rosadas. Finalmente, el agrupamiento 9T que se ubicó en el cuadrante superior izquierdo y se encuentra totalmente separado del resto de las accesiones, es debido a la coloración de su flor amarilla y hojas verde claro, siendo indicador de valores más cercanos al blanco en relación con el resto de las colectas. Por lo tanto, este agrupamiento presentó la escala máxima del valor de (L) (52.698).

Con relación la variable croma C de la flor, podemos mencionar que la variable está directamente relacionada con los valores de las variables del colorímetro (a) y (b). La variable (a) presentó una escala de medición -60 a 60 y está

relacionada con la escala de colores de verde – rojo, respectivamente. La variable b presentó una escala de medición -60 a 60 y está relacionada con la escala de colores de azul – amarillo, respectivamente. Por lo tanto, haciendo referencia a la Figura 9 podemos observar que los valores de la variable croma C para el agrupamiento del cuadrante inferior izquierdo, presentaron valores de 35.681 con respecto al agrupamiento que se encuentra en el cuadrante superior izquierdo con la colecta 9T. Dicho agrupamiento es el que presentó los valores más bajos de croma C siendo de 5.291 para ese agrupamiento. Otra observación importante es la diferencia de los valores de croma C que estuvieron directamente relacionados con las coloraciones de cada flor, es decir que para el caso de las flores de color rosa intenso, la mezcla de colores que van de verde a rojo y de azules a amarillos para los valores de (a) y (b) en el colorímetro, influyeron en los valores altos de croma (C) de la colectas que se encuentran en los cuadrantes inferiores izquierdo y derecho; para el caso de la colectas que presentaban coloraciones amarillas en flor que corresponde al agrupamiento superior izquierdo, no influyeron en la misma intensidad en los valores del color.

Por lo tanto, los materiales de jamaica 9T y 7T, 14T y 15T quedan en los extremos muy separados y se caracterizaron por ser de colores muy contrastantes, siendo la 9T el material albino y sin coloración, mientras que las colectas 7T, 14T y 15T se distinguieron por ser bastante coloridas (rojas intenso) y tamaño de fruto grande, muy diferente en relación al resto de las

Cuadro 16. Análisis discriminante canónico y estructura canónica entre colectas.

Variable	VD1	VD2	VD3
X47	0.99	0.03	0.11
X48	-0.76	-0.35	0.55
X50	0.99	0.08	-0.08
X49	0.99	0.10	-0.05
X25	0.09	0.13	-0.99
X38	-0.48	0.11	0.87
X42	0.81	-0.55	-0.23
X43	0.94	-0.20	-0.28
X46	0.92	0.14	0.37
X44	0.67	-0.66	0.35
X2	-0.16	-0.74	-0.65
X14	-0.61	0.76	0.24
X3	-0.37	0.80	0.48
X33	-0.03	-0.10	-0.99
X31	-0.09	0.10	-0.99
X28	0.19	-0.28	-0.94
X41	0.89	-0.39	-0.23
X4	0.45	-0.80	-0.39
X39	0.48	-0.74	-0.46
X40	0.02	-0.99	0.15
X21	-0.10	0.96	-0.28
X7	-0.65	0.75	-0.12
X1	-0.06	-0.76	-0.65
X9	-0.33	0.76	0.56
X34	0.39	0.16	0.91

X47= Longitud en la base del lóbulo principal de la hoja, X48= Ángulo en la base del peciolo, X50= Longitud promedio del fruto, X49= Perímetro promedio del fruto, X25= Promedio de color de fruto cuantificado con colorímetro (L), X38= Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (a), X42= Perímetro de la hoja, X43= Longitud vertical de la hoja, X46= Ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja, X44= Longitud horizontal de la hoja, X2= Número de ramas, X14= Número de brácteas, X3= Número de frutos, X33= Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro (L), X31= Color de tallo en la base cuantificado con colorímetro (b), X28= Croma C de fruto, X41= Área de la hoja, X4= Número de flores, X39= Promedio de color de flor cuantificado con colorímetro (b), X40= Croma C de la flor, X21= Promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L), X7= Número de lóbulos en hojas por planta, X1= Altura de planta, X9= Longitud de peciolo, X34= Color del tallo en la parte media de la planta cuantificado con colorímetro(a).

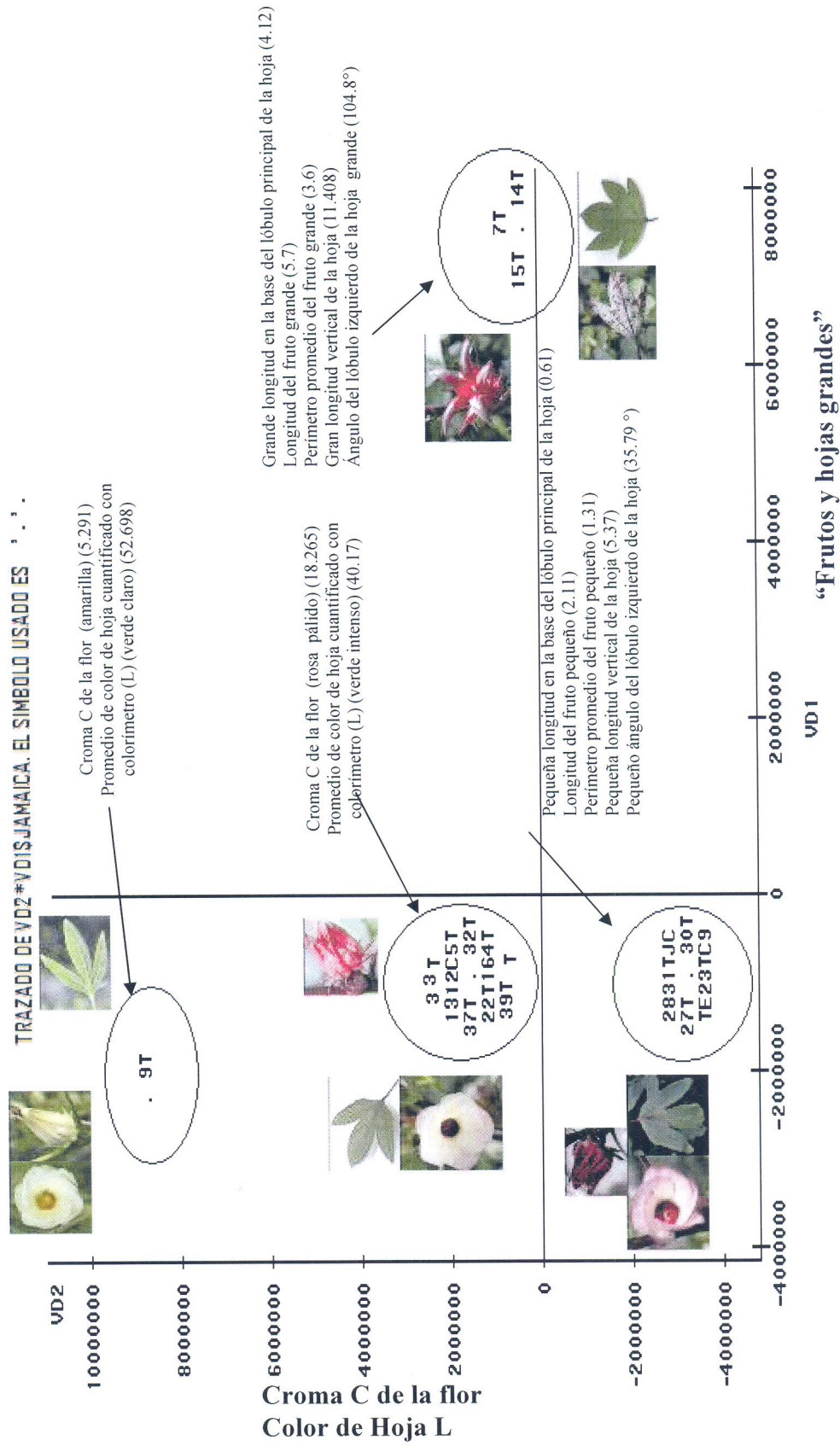


Figura 9. Ubicación espacial de los cuatro grupos de colectas de Jamaica con sus variables discriminantes 1 y 2 (VD1 y VD2).

colectas; por consiguiente dichas colectas tienden a formar grupos independientes del resto de los agrupamientos.

En la misma Figura 9 se observa el aglomerado del resto de las colectas que se encuentran muy cerca del centro de los ejes, son indicador de una diferenciación en los grupos aunque no muy contrastantes como en los casos anteriores.

4.1.2. Análisis de variables cualitativas en marcadores morfológicos

Las variables cualitativas (Cuadro 17), se sometieron a un análisis de correspondencia con el programa SAS y los resultados se muestran en el Cuadro 18.

Cuadro 17. Variables cualitativas empleadas en el análisis de correspondencia.

Variable	Carácter medido	Unidad	Escala
X8	Color visual de la hoja	Arbitrario	1 – 4
X10	Color de peciolo	Arbitrario	1 – 3
X12	Color aparente del tallo	Arbitrario	1 – 9
X13	Número máximo de frutos por axila	Arbitrario	1 – 3
X15	Color de brácteas	Arbitrario	1 – 2
X16	Color de flor	Arbitrario	1 – 3
X17	Precocidad	Arbitrario	1 – 3
X18	Ausencia o presencia de glándulas melíferas	Arbitrario	1 – 2
X19	Color visual del fruto aparente	Arbitrario	1 – 4
X20	Defoliación total a los 6 meses	Arbitrario	1 – 2

Conforme al Cuadro 18 nueve son el número de dimensiones que explican la variabilidad morfológica de la jamaica en un 100 %. Para nuestro análisis se utilizaron las dimensiones 1, 2 y 3 que se encuentran ubicadas en las tres primeras filas. En las tres dimensiones el porcentaje de explicación de la variabilidad morfológica de la jamaica es de 32.83, 25.13 y 18.61 %, respectivamente.

Cuadro 18. Análisis de correspondencia de las 10 variables cualitativas de datos morfológicos de jamaica.

Valor singular	Inercia principal	Chi cuadrado	Porcentaje	Porcentaje acumulado	7	14	21	28	35
0.212	0.045	248.962	32.830	32.83	*****				
0.185	0.034	190.588	25.130	57.96	*****				
0.159	0.025	141.148	18.610	76.57	*****				
0.116	0.014	75.242	9.920	86.49	*****				
0.101	0.010	56.597	7.460	93.95	*****				
0.066	0.004	24.100	3.180	97.13	**				
0.043	0.002	10.306	1.360	98.49	*				
0.037	0.001	7.460	0.980	99.47	*				
0.027	0.001	4.002	0.530	100					
Total	0.137	758.406	100						
Grados de libertad = 2529									

El porcentaje acumulado de las dimensiones 1 y 2 es de 57.96 % de la explicación para la clasificación de grupos a través del ordenamiento.

En el Cuadro 19 se observan las variables que mas aportan al ordenamiento y clasificación de las variables cualitativas de tres dimensiones. Las variables que influyen en la clasificación son X8, X12, X17, X13, X18 y X15.

Cuadro 19. Variables morfológicas cualitativas que más aportan al ordenamiento de colectas de jamaica.

Variable	Dim1	Dim 2	Dim3
X8	0.50	-0.36	0.11
X10	0.02	0.11	0.01
X12	-0.29	-0.15	-0.13
X13	-0.04	-0.20	-0.01
X15	-0.12	-0.13	-0.21
X16	-0.05	0.07	-0.01
X17	0.20	0.29	0.12
X18	-0.05	0.20	-0.12
X19	0.07	0.13	0.01
X20	0.00	0.11	0.15

X8 = Color visual de la hoja, X12= Color aparente del tallo X17 = Precocidad 13= Número máximo de frutos por axila, X18= Ausencia o presencia de glándulas melíferas y X15= Color de brácteas.

En la Figura 10 se observa la dispersión de las colectas y las variables cualitativas entre las dimensiones 1 y 2. La dispersión de letras y números rojos indican las etiquetas de las colectas y las letras y números azules expresan la dispersión de las variables cualitativas, en ambas dimensiones. En el grafico se observa que las variables X8, X17, X12, X13 y X18 que simbolizan al color visual de la hoja, precocidad, color aparente del tallo, número máximo de frutos por axila y ausencia o presencia de glándulas melíferas contribuyeron de manera sustancial en la clasificación de los grupos. El resto de las variables que se encuentran distribuidas en las partes centrales del grafico no se tomaron en cuenta, debido a su pobre contribución a la clasificación de las colectas. Adicionalmente a lo anterior, en la dimensión 3 observamos que solamente la variable X15 que corresponde al color de brácteas entró en la clasificación de colectas de jamaica (Figura 11). De acuerdo con ambas figuras las variables en azul que corresponde a X10 y X20 cuyo significados son color de peciolo y defoliación a los 6 meses se encuentran altamente correlacionadas entre si, es decir que en función de alguna de las dos es posible definir la faltante.

4.2. Resultados de la caracterización molecular

4.2.1. Análisis de iniciadores y construcción de dendrogramas

Durante la caracterización molecular se evaluaron 20 iniciadores, de los cuales se seleccionaron doce por su buena resolución y diferenciación en los patrones de bandeo (Figura 12 y Cuadro 20). En total se obtuvieron 96 bandas y el número de bandas polimórficas varió de 3 a 13 (Cuadro 20).

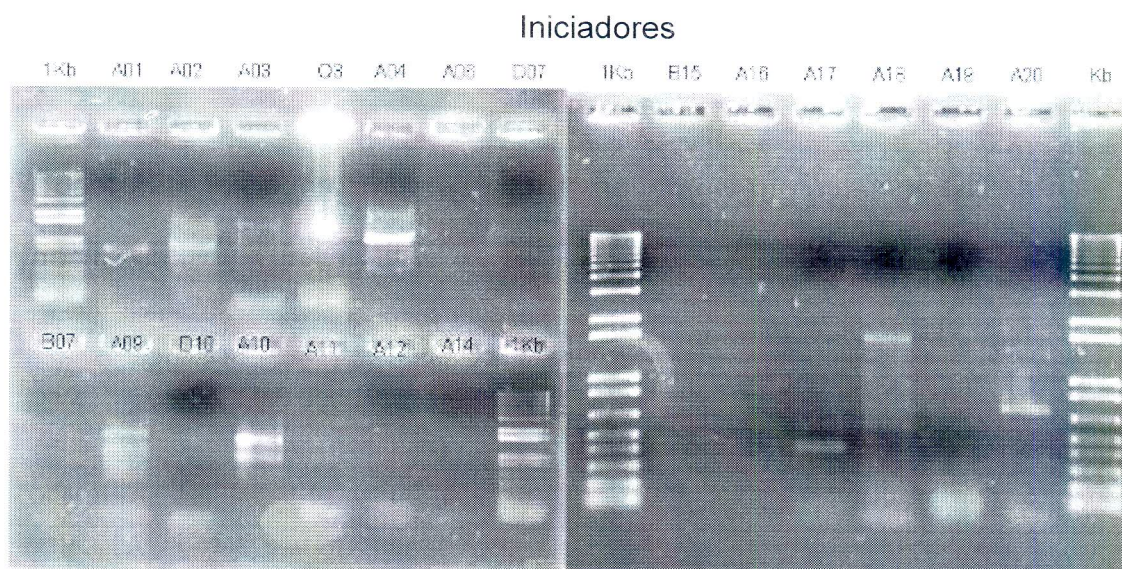


Figura 12. Patrones de bandeo tipo RAPD's obtenidos luego de probar 20 iniciadores de operon.

Cuadro 20. Iniciadores utilizados para generar los fragmentos de RAPD's para 44 colectas de jamaica, con datos del total de bandas amplificadas y analizadas.

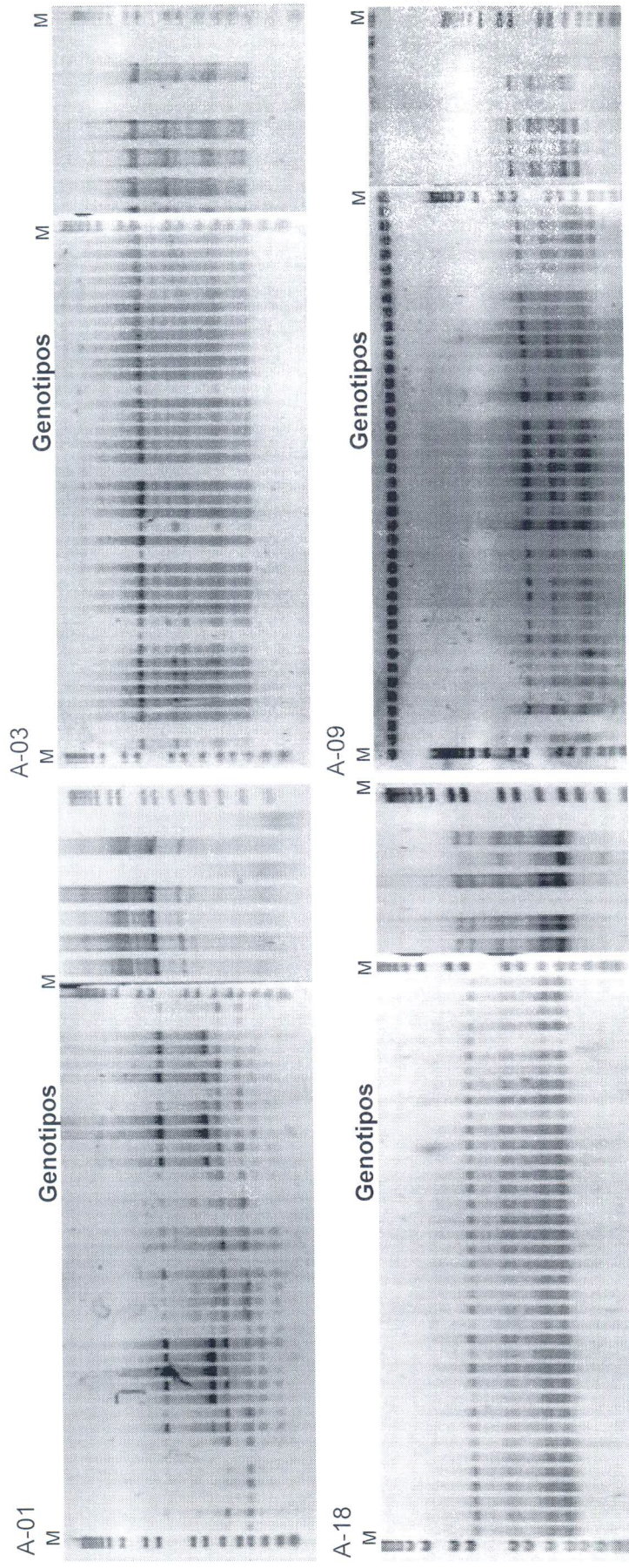
Iniciador	Secuencia 5' – 3'	Núm. total de bandas	Núm. total de bandas polimórficas	% de polimorfismo
OPA01	CAGGCCCTTC	11	10	90.90
OPA02	TGCCGAGCTG	11	11	100
OPA03	AGTCAGCCAC	9	9	100
OPO3	AGTCAGCCAC	8	8	100
OPA04	AATCGGGCTG	6	5	83.33
OPA09	GGGTAACGCC	10	9	90
OPA10	GTGATCGCAG	13	13	100
OPD10	GTGATCGCAG	3	3	100
OPA17	GACCGCTTGT	8	7	87.50
OPA18	AGGTGACCGT	8	8	100
OPA19	CAAACGTCGG	4	4	100
OPA20	GTTGCGATCC	5	5	100
Total de bandas		96		

Hubo iniciadores como OPD10 que detectaron 3 bandas, mientras que otras mostraron hasta 13 (OPA10). No todos los iniciadores presentaron el mismo % de polimorfismo, esta particularidad indica que existe variabilidad genética en las colectas de jamaica. El porcentaje de polimorfismo detectado varió de 83.33 a 100 % (Cuadro 20). En la Figura 13 se muestran ejemplos de la variabilidad genética detectada en los materiales de jamaica.

Durante la caracterización de *Hibiscus sabdariffa* L., los marcadores RAPD's generados fueron utilizados para determinar relaciones genéticas entre las 44 colectas de jamaica (Figura 13).

Utilizando el programa Freetree y el coeficiente de Jaccard se obtuvo un árbol robusto luego de 1000 remuestreos (Figura 14).

De acuerdo con la (Figura 14), el agrupamiento principal está conformado por las colectas 11T, 28T, 12C, 26T, 23T, 24C, C25, 3T, 20T, 19T, 28C, 27T, 30T, C29, 29T, 24T, 14T, C9, 15T, 10T, 7T, 4T, 5T, C7, 21T, 13T, 33T, 35T, 34T, 31T, 32T C1, 27C, 9T, 16T y 22T presentando las colectas características genéticas en común.



Figuras 13. Patrones de bandeo RAPD's obtenidos, utilizando los iniciadores OPA 01, OPA 03, OPA 09 y OPA 18 para 44 colectas de jamaica (*H. sabdariffa* L.).

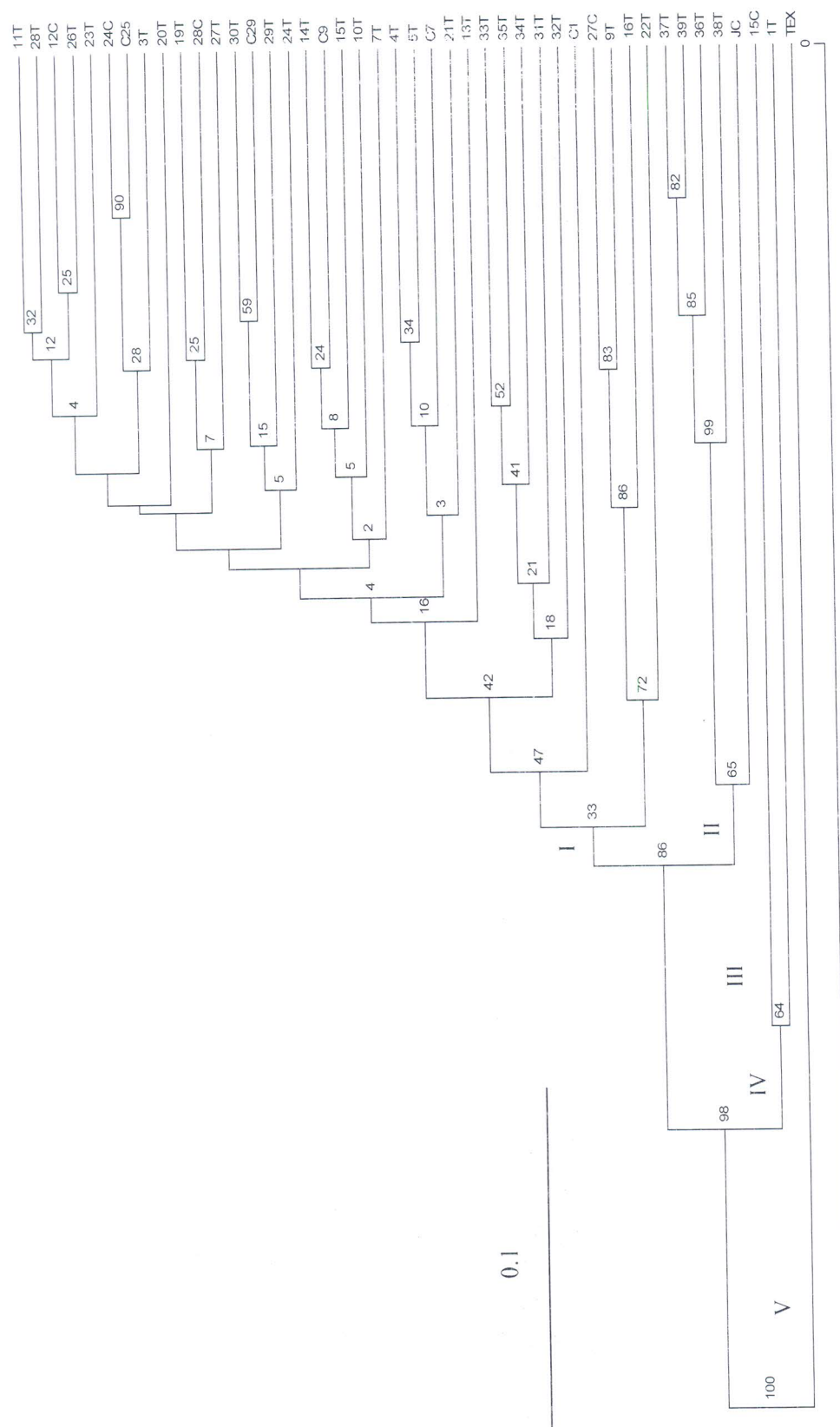


Figura 14. Dendrograma construido con datos de marcadores RAPDs de 44 colectas de jamaica luego de hacer 1000 remuestreos.

El grupo II lo forman las colectas 36T, 37T, 38T, 39T y JC. El grupo III, está formado por la colectas 15C. Mientras que el grupo IV lo conformó la colecta única 1T y por ultimo, el grupo V lo constituyó la colecta TEX. Simultáneamente, junto con el árbol de consenso (de remuestreo) se elaboró otro árbol con el programa NTSYS (datos no mostrados) según la matriz de similitud obtenida con el coeficiente de Jaccard y al realizar la comparación, se observó un asombroso parecido entre los árboles con relación a la colecta TEX, ya que esta mostró estar genéticamente muy alejada del resto de las colectas. Así mismo se detectó que las colectas genéticamente más cercanas son la 37T y 39T, seguidas de las colectas 24C y 25C, respectivamente.

El índice de similitud entre cada una de las 44 colectas de jamaica analizadas se presenta en el Cuadro 21. El menor índice de similitud se presentó entre las colectas TEX y 20T, con un valor de 0.108; mientras que el mayor índice de similitud lo mostraron las colectas 37T y 39T con un valor de 0.906, determinándose que son genéticamente las más semejantes.

Cuadro 21. Matriz de similitud entre 44 colectas de jamaica del Estado de Guerrero, generada a partir de datos moleculares utilizando el coeficiente de Jaccard y el método UPGMA.

Colecta	C1	1T	3T	4T	5T	C7	7T	C9	9T	10T	11T	12C	13T	14T	15C	15T	16T	19T
C1	1.000																	
1T	0.326	1.000																
3T	0.691	0.288	1.000															
4T	0.654	0.327	0.772	1.000														
5T	0.614	0.316	0.804	0.818	1.000													
C7	0.623	0.232	0.804	0.808	0.724	1.000												
7T	0.544	0.340	0.585	0.655	0.645	0.627	1.000											
C9	0.534	0.333	0.677	0.702	0.689	0.687	0.702	1.000										
9T	0.500	0.455	0.548	0.561	0.583	0.508	0.492	0.764	1.000									
10T	0.509	0.302	0.603	0.649	0.667	0.621	0.684	0.764	0.589	1.000								
11T	0.547	0.323	0.754	0.672	0.687	0.698	0.627	0.667	0.645	0.726	1.000							
12C	0.600	0.339	0.762	0.793	0.803	0.705	0.710	0.783	0.650	0.763	0.828	1.000						
13T	0.500	0.304	0.615	0.661	0.625	0.581	0.639	0.741	0.525	0.633	0.657	0.770	1.000					
14T	0.552	0.281	0.641	0.719	0.677	0.633	0.724	0.804	0.550	0.750	0.692	0.831	0.729	1.000				
15C	0.396	0.389	0.323	0.339	0.306	0.293	0.351	0.368	0.458	0.339	0.397	0.393	0.491	0.362	1.000			
15T	0.525	0.377	0.615	0.661	0.651	0.607	0.667	0.772	0.603	0.690	0.657	0.742	0.645	0.759	0.411	1.000		
16T	0.518	0.360	0.538	0.550	0.500	0.576	0.488	0.524	0.725	0.500	0.592	0.609	0.516	0.590	0.396	0.565	1.000	
19T	0.581	0.328	0.712	0.683	0.750	0.606	0.688	0.758	0.578	0.656	0.700	0.813	0.719	0.774	0.359	0.719	0.615	1.000
20T	0.563	0.297	0.691	0.612	0.652	0.636	0.667	0.632	0.537	0.636	0.729	0.788	0.672	0.672	0.369	0.623	0.597	0.791
21T	0.538	0.286	0.667	0.725	0.679	0.725	0.500	0.625	0.509	0.630	0.625	0.690	0.533	0.643	0.302	0.704	0.500	0.613
22T	0.369	0.358	0.444	0.386	0.471	0.366	0.394	0.429	0.643	0.448	0.507	0.529	0.365	0.464	0.322	0.507	0.543	0.535
23T	0.515	0.297	0.667	0.662	0.652	0.662	0.594	0.682	0.635	0.742	0.806	0.761	0.647	0.723	0.348	0.697	0.621	0.714
24C	0.614	0.293	0.814	0.754	0.738	0.724	0.545	0.661	0.557	0.667	0.738	0.774	0.600	0.677	0.328	0.677	0.523	0.750
24T	0.492	0.423	0.656	0.678	0.641	0.597	0.578	0.700	0.567	0.623	0.697	0.730	0.635	0.635	0.356	0.661	0.556	0.708
C25	0.581	0.266	0.794	0.683	0.672	0.683	0.543	0.627	0.530	0.606	0.700	0.706	0.549	0.642	0.299	0.567	0.567	0.735
26T	0.583	0.345	0.692	0.717	0.730	0.661	0.694	0.738	0.633	0.717	0.785	0.852	0.646	0.783	0.377	0.783	0.619	0.769
27C	0.472	0.419	0.476	0.536	0.484	0.458	0.443	0.483	0.800	0.536	0.571	0.600	0.452	0.525	0.426	0.552	0.700	0.508
27T	0.403	0.250	0.594	0.557	0.656	0.508	0.644	0.719	0.525	0.696	0.636	0.721	0.623	0.707	0.288	0.678	0.403	0.698
28C	0.516	0.328	0.730	0.672	0.714	0.594	0.677	0.721	0.590	0.672	0.742	0.806	0.710	0.738	0.383	0.710	0.507	0.810
28T	0.548	0.317	0.762	0.651	0.667	0.651	0.606	0.698	0.623	0.677	0.828	0.810	0.636	0.688	0.371	0.714	0.561	0.706
C29	0.500	0.259	0.641	0.633	0.600	0.719	0.639	0.712	0.576	0.750	0.762	0.714	0.594	0.700	0.339	0.672	0.644	0.667
29T	0.593	0.327	0.712	0.649	0.613	0.709	0.600	0.672	0.561	0.709	0.726	0.677	0.633	0.633	0.364	0.661	0.576	0.683
30T	0.475	0.321	0.619	0.638	0.578	0.610	0.617	0.690	0.579	0.727	0.688	0.667	0.597	0.650	0.333	0.650	0.567	0.646
31T	0.466	0.283	0.563	0.550	0.678	0.525	0.638	0.627	0.467	0.632	0.631	0.635	0.617	0.617	0.370	0.617	0.373	0.641
32T	0.431	0.200	0.531	0.596	0.617	0.596	0.550	0.709	0.458	0.625	0.529	0.629	0.557	0.638	0.263	0.610	0.525	0.609
33T	0.534	0.286	0.651	0.590	0.689	0.617	0.571	0.639	0.508	0.617	0.618	0.672	0.603	0.603	0.345	0.629	0.500	0.703
34T	0.633	0.286	0.667	0.660	0.679	0.660	0.525	0.569	0.431	0.571	0.581	0.581	0.508	0.559	0.327	0.586	0.450	0.538
35T	0.574	0.283	0.613	0.632	0.678	0.632	0.638	0.600	0.517	0.661	0.606	0.661	0.590	0.644	0.370	0.672	0.533	0.667
36T	0.441	0.227	0.592	0.559	0.623	0.582	0.479	0.580	0.485	0.514	0.587	0.568	0.507	0.528	0.243	0.486	0.438	0.532
37T	0.500	0.242	0.562	0.574	0.638	0.529	0.514	0.549	0.500	0.507	0.581	0.581	0.480	0.563	0.257	0.521	0.493	0.566
38T	0.415	0.172	0.486	0.471	0.536	0.471	0.417	0.471	0.462	0.449	0.487	0.486	0.387	0.486	0.191	0.465	0.500	0.514
39T	0.507	0.235	0.589	0.597	0.597	0.514	0.480	0.556	0.486	0.493	0.544	0.545	0.468	0.527	0.250	0.527	0.479	0.551
TEX	0.136	0.138	0.161	0.160	0.164	0.184	0.132	0.130	0.205	0.160	0.145	0.153	0.127	0.163	0.127	0.127	0.163	0.129
JC	0.421	0.306	0.477	0.435	0.484	0.413	0.358	0.438	0.474	0.413	0.437	0.435	0.388	0.348	0.228	0.409	0.397	0.443

Cuadro 21. Continuación.

Colecta	20T	21T	22T	23T	24C	24T	C25	26T	27C	27T	28C	28T	C29	29T	30T	31T	32T	33T	34T	35T	36T	37T	38T	39T	TEX	JC
C1																										
1T	1.000	0.522	1.000																							
3T	0.480	0.400	1.000																							
4T	0.676	0.774	0.515	1.000																						
5T	0.662	0.603	0.457	0.738	0.750	1.000																				
C7	0.690	0.695	0.535	0.739	0.898	0.708	1.000																			
7T	0.721	0.672	0.582	0.773	0.758	0.770	0.742	1.000																		
C9	0.627	0.561	0.463	0.627	0.656	0.639	0.621	0.705	0.450	1.000																
9T	0.538	0.481	0.589	0.639	0.533	0.596	0.508	0.638	1.000																	
10T	0.627	0.561	0.463	0.627	0.656	0.639	0.621	0.705	0.450	1.000																
11T	0.706	0.627	0.500	0.681	0.742	0.698	0.701	0.762	0.516	0.807	1.000															
12C	0.735	0.633	0.507	0.761	0.774	0.730	0.758	0.823	0.627	0.694	0.806	1.000														
13T	0.672	0.614	0.423	0.778	0.677	0.689	0.667	0.726	0.552	0.623	0.656	0.742	1.000													
14T	0.688	0.600	0.406	0.770	0.724	0.707	0.710	0.689	0.536	0.583	0.645	0.705	0.750	1.000												
15C	0.652	0.534	0.400	0.758	0.656	0.786	0.646	0.677	0.582	0.655	0.661	0.694	0.833	0.759	1.000											
16T	0.567	0.574	0.343	0.615	0.540	0.574	0.515	0.587	0.456	0.508	0.523	0.530	0.667	0.569	0.586	0.552	1.000									
19T	0.500	0.471	0.416	0.600	0.556	0.521	0.532	0.554	0.420	0.466	0.481	0.547	0.507	0.514	0.486	0.544	0.537	0.580	0.563	0.522	1.000					
20T	0.522	0.608	0.338	0.569	0.621	0.525	0.563	0.565	0.429	0.435	0.477	0.531	0.508	0.630	0.483	0.642	0.604	0.717	1.000							
21T	0.708	0.542	0.449	0.609	0.635	0.594	0.580	0.606	0.459	0.531	0.615	0.597	0.554	0.644	0.531	0.684	0.709	1.000								
22T	0.522	0.608	0.338	0.569	0.621	0.525	0.563	0.565	0.429	0.435	0.477	0.531	0.508	0.630	0.483	0.642	0.604	0.717	1.000							
23T	0.500	0.471	0.416	0.600	0.556	0.521	0.532	0.554	0.420	0.466	0.481	0.547	0.507	0.514	0.486	0.544	0.537	0.580	0.563	0.522	1.000					
24C	0.494	0.464	0.486	0.571	0.548	0.474	0.545	0.611	0.456	0.479	0.494	0.519	0.480	0.466	0.459	0.514	0.507	0.507	0.507	0.514	0.859	1.000				
24T	0.462	0.424	0.451	0.541	0.493	0.438	0.514	0.514	0.438	0.403	0.403	0.447	0.465	0.429	0.443	0.414	0.565	0.515	0.469	0.523	0.723	0.794	1.000			
25C	0.482	0.451	0.474	0.557	0.554	0.481	0.571	0.573	0.443	0.486	0.500	0.545	0.468	0.473	0.467	0.479	0.472	0.493	0.493	0.500	0.806	0.906	0.742	1.000		
25T	0.108	0.209	0.196	0.143	0.164	0.125	0.148	0.155	0.163	0.157	0.158	0.133	0.127	0.137	0.113	0.140	0.122	0.130	0.130	0.140	0.148	0.164	0.143	0.177	1.000	
26T	0.373	0.361	0.373	0.471	0.484	0.516	0.485	0.441	0.446	0.385	0.426	0.456	0.409	0.483	0.429	0.397	0.387	0.438	0.383	0.397	0.554	0.522	0.508	0.576	0.128	1.000
27C																										
27T																										
28C																										
28T																										
C29																										
29T																										
30T																										
31T																										
32T																										
33T																										
34T																										
35T																										
36T																										
37T																										
38T																										
39T																										
TEX																										
JC																										

En el diagrama bidimensional (Figura 15), se representa la proyección de los iniciadores sobre la dimensión 1 y 2. Acorde con el análisis de las dos dimensiones en el plano, se infiere que los iniciadores que más influyeron en la separación de colectas de jamaica según la dimensión 1 son A-17, A-18 y A-10, ya que son los que mas se separan y destacan en la proyección grafica. En la segunda dimensión los iniciadores que más influyeron en la separación son A-20 y D-10. Es importante destacar que los iniciadores en ambas dimensiones suelen repetirse, por lo tanto no fue necesario volver a indicar el mismo iniciador para ambas dimensiones.

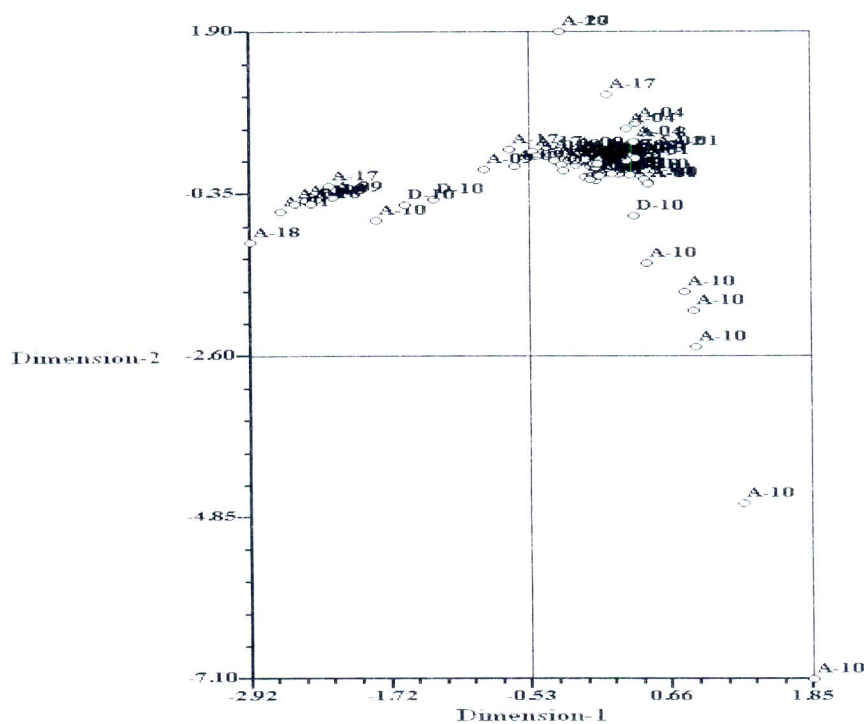


Figura 15. Dimensiones 1 y 2 de los iniciadores utilizados en la separación de grupos de accesiones de jamaica

El resto de los iniciadores se ubican en dos de los cuadrantes y de manera compacta y por lo tanto hacen poca aportación en la separación de grupos. A continuación se presenta un diagrama dimensional (Figura 16) donde se observa la separación de 5 ordenamientos bien definidos.

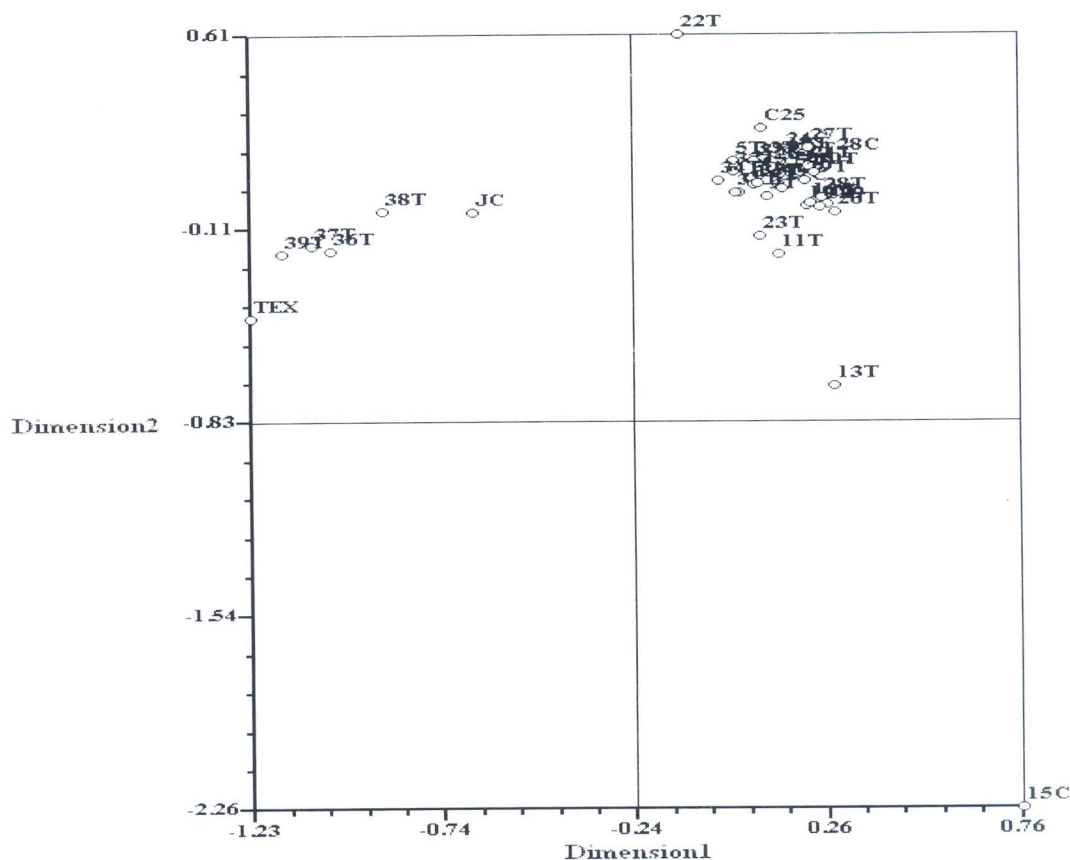


Figura 16. Ordenamiento de las colectas en las dimensiones 1 y 2 utilizando los datos moleculares en un análisis de correspondencia con el programa NTSYS.

Observe se que al comparar los grupos formados según el árbol de consenso (dendrograma de 1000 remuestreos) (Figura 14) y el análisis de correspondencia (Figura 16) se corrobora que el número de agrupamientos y ordenamientos es de 5. Además, los agrupamientos entre las colectas 15C,

TEX, JC, 36T, 37T 38T y 39T que se forman aplicando ambas metodologías, presentan una similitud de grupos semejante.

A continuación se presenta un diagrama tridimensional de las colectas con el análisis de correspondencia (Figura 17), explicando exactamente lo mismo que en las dimensiones 1 y 2 pero con una dimensión más.

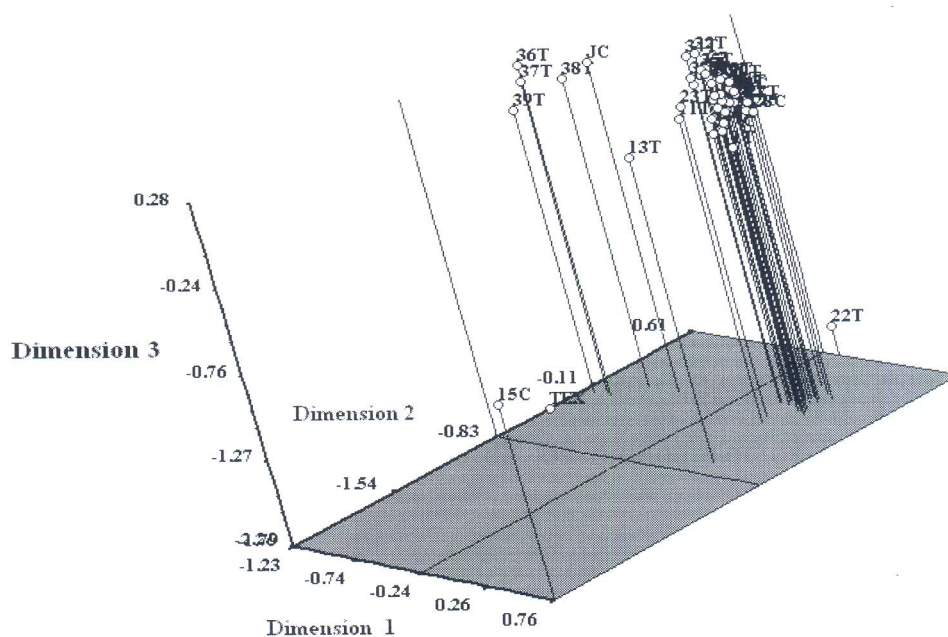


Figura 17. Ordenamiento de las colectas en las dimensiones 1, 2 y 3 utilizando los datos moleculares en un análisis de correspondencia con el programa NTSYS.

Con la dimensión 3 se tiene la visión de altura sobre las dimensiones 1 y 2. Obsérvese el predominio de los valores positivos en el grupo de ordenamiento mas compacto en relación con el resto de los ordenamientos que presentan valores negativos.

Al hacer la comparación con la Figura 15 se visualiza que la clasificación de las colectas siguen adquiriendo la formación de los 5 ordenamientos. Los iniciadores que más influyeron en la separación de colectas de jamaica según la dimensión 1 son A-17, A-18 y A-10. Para la segunda dimensión fueron A-20 y D-10. Por lo tanto, aun cuando los métodos de ordenamiento y agrupamiento operan bajo principios diferentes, ambos sirven para clasificar las accesiones con muy pocas variaciones.

4.3. Análisis de poblaciones

Se realizó un análisis de 9 poblaciones de jamaica utilizando el programa Popgene 32 (Yeh *et al.*, 1999). Las poblaciones fueron: Tecoanapa, Acapulco, Ometepec, Tlapa, Ocotito, Atoyac, Iguala, Chilpancingo y Arcelia; diferentes según la región geográfica de colectas (Figura 18).

En el Cuadro 22 se presentan los valores de identidad (por arriba de la diagonal) y distancia genética (por debajo de la diagonal) entre las 9 poblaciones evaluadas. Las poblaciones mas relacionadas fueron Ometepec y Ocotito; y Acapulco con Ocotito, con valores de identidad de 0.929 y 0.927, respectivamente. Las poblaciones menos relacionadas genéticamente fueron Atoyac y Chilpancingo con un valor de identidad igual a 0.662.

Los valores de identidad entre todas las poblaciones estuvieron en un rango entre 0.662 y 0.929.

Cuadro 22. Valores de identidad genética (por arriba de la diagonal) y distancia genética (por abajo de la diagonal) de Nei (1972) para 9 poblaciones de jamaica.

Población	Tecoanapa	Acapulco	Ometepec	Tlapa	Ocotito	Atoyac	Iguala	Chilpancingo	Arcelia
Tecoanapa		0.863	0.911	0.843	0.878	0.868	0.867	0.689	0.775
Acapulco	0.146		0.918	0.880	0.927	0.910	0.841	0.664	0.805
Ometepec	0.092	0.084		0.879	0.929	0.892	0.845	0.688	0.770
Tlapa	0.170	0.127	0.128		0.919	0.833	0.792	0.686	0.801
Ocotito	0.129	0.074	0.073	0.084		0.888	0.810	0.699	0.798
Atoyac	0.140	0.093	0.113	0.182	0.118		0.875	0.662	0.765
Iguala	0.141	0.172	0.168	0.232	0.210	0.132		0.757	0.765
Chilpancingo	0.371	0.408	0.373	0.375	0.358	0.411	0.277		0.715
Arcelia	0.254	0.216	0.261	0.220	0.225	0.267	0.266	0.334	

Identidad genética arriba de la diagonal y la distancia genética es abajo de la diagonal.

En la Figura 19 se muestra un dendrograma de relaciones entre las poblaciones. El grupo I incluyó a las poblaciones Tecuanapa, Acapulco, Ometepe, Ocotito y Atoyac a una distancia genética de 0.1822, el grupo II incluyó a la población de Tlapa, el grupo III a Iguala, el IV Arcelia y el V a la población Chilpancingo, que fue la genéticamente más distante.

Al evaluar parámetros que definen la estructura de las poblaciones (Cuadro 23), se encontró que no todas las poblaciones presentan los mismos porcentajes de polimorfismo entre sus individuos, destacando Arcelia como la población con el valor mas alto de polimorfismo genético (62.50 %). En contraste, la población con menor polimorfismo entre sus individuos fue Chilpancingo con un valor de 13.54 %. El resto de las poblaciones presenta un polimorfismo intermedio, entre 33.33 y 57.29 %, respectivamente. Además, el polimorfismo entre todas las poblaciones fue de 98.96 %.

La diversidad genética de Nei de las poblaciones (H) varió de 0.056 a 0.259, ello sugiere que la diversidad genética dentro de las poblaciones no es muy alta o presenta una uniformidad entre los individuos. Pero al hacer la comparación entre todas las poblaciones se observa que la diversidad genética aumenta a 0.2999.

La población con mayor diversidad genética fue Arcelia y la menos diversa fue Chilpancingo (Cuadro 23). Los datos del mismo Cuadro 23 sugieren que la diversidad genética probablemente está en relación directa con el número de individuos presentes en cada población muestreada.

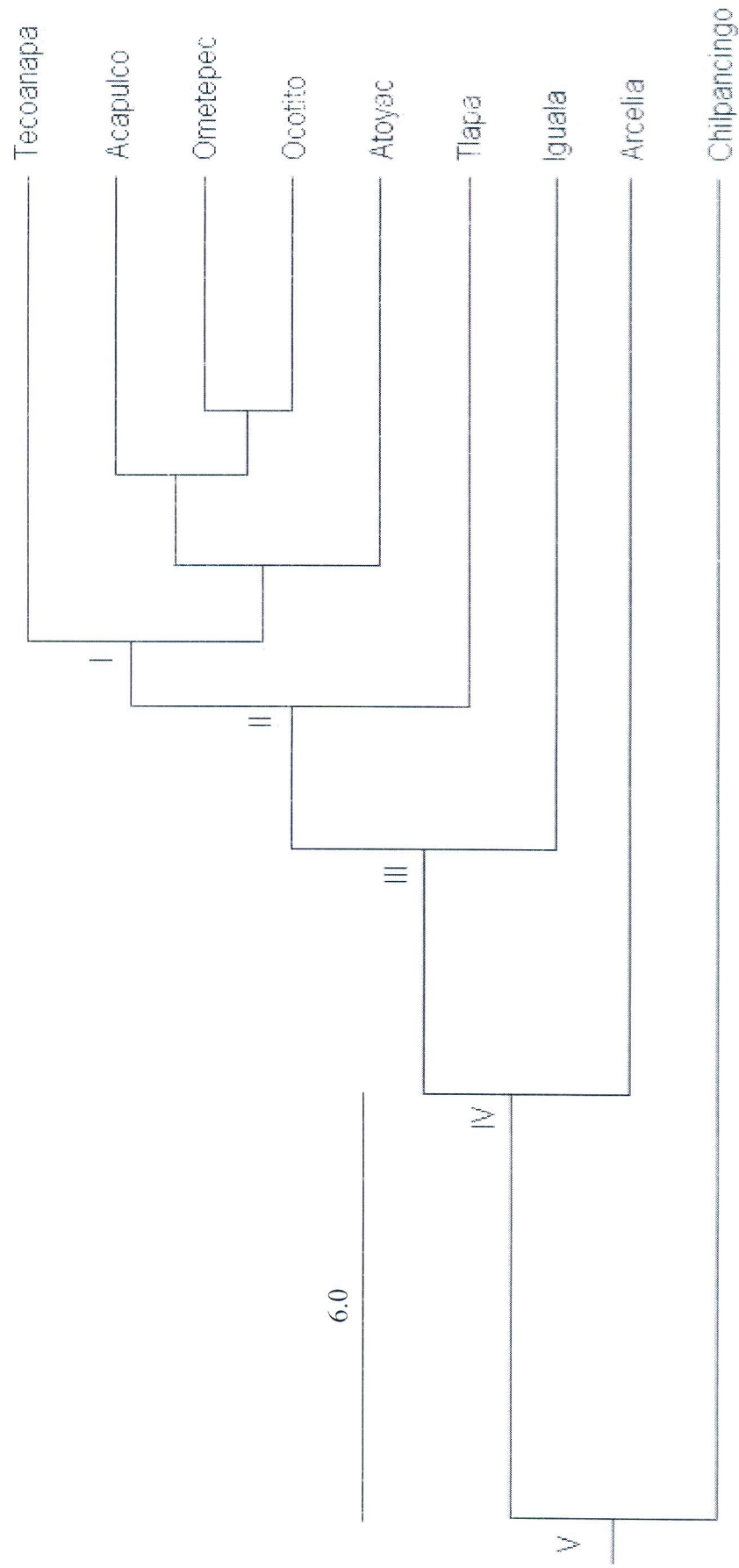


Figura 19. Dendrograma de relaciones genéticas entre 9 poblaciones de jamaica. Para su construcción se utilizó el coeficiente de identidad de Nei (1972) y el método UPGMA.

Cuadro 23. Variabilidad genética entre y dentro de poblaciones de jamaica (*Hibiscus sabdarifa* L), con base a los patrones RAPD's.

Población	Región	P (%)	Na	Ne	H	I	Gst	Nm
1	Tecoanapa	33.33	1.333 0.473 ^z	1.262 0.404 ^z	0.141 0.210 ^z	0.203 0.297 ^z	-	-
2	Acapulco	57.29	1.572 0.497 ^z	1.393 0.422 ^z	0.217 0.217 ^z	0.318 0.304 ^z	-	-
3	Ometepec	51.04	1.510 0.502 ^z	1.382 0.424 ^z	0.210 0.220 ^z	0.304 0.362 ^z	-	-
4	Tlapa	51.04	1.510 0.502 ^z	1.387 0.439 ^z	0.209 0.223 ^z	0.303 0.313 ^z	-	-
5	Ocotito	51.04	1.510 0.502 ^z	1.390 0.430 ^z	0.212 0.223 ^z	0.306 0.315 ^z	-	-
6	Atoyac	45.83	1.458 0.500 ^z	1.340 0.418 ^z	0.186 0.218 ^z	0.271 0.309 ^z	-	-
7	Iguala (Cocula)	42.71	1.427 0.497 ^z	1.231 0.333 ^z	0.140 0.180 ^z	0.214 0.264	-	-
8	Chilpancingo	13.54	1.1354 0.344 ^z	1.095 0.243 ^z	0.056 0.142 ^z	0.081 0.208 ^z	-	-
9	Arcelia	62.50	1.625 0.486 ^z	1.469 0.418 ^z	0.259 0.215 ^z	0.376 0.303	-	-
Entre población	Todas	98.96	1.989 0.102 ^z	1.511 0.352 ^z	0.299 0.168 ^z	0.455 0.214	0.426	0.672

P (%) = Porcentaje de polimorfismo, Na = Número de alelos observados, Ne = Número de alelos efectivos, H = diversidad genética (Nei), I = Diversidad de Shannon, Nm = Número de individuos migrantes, Gst= Coeficiente de diferenciación entre poblaciones, Z = Desviación estándar.

Otro dato importante mostrado en el Cuadro 23, fue la estimación del número de individuos migrantes, relacionado con el grado de flujo genético ($Nm = 0.672$), que indica que hay menos de un individuo migrante entre las poblaciones; dato que coincide con un estudio realizado por Vaidya (2000). Este autor encontró en *H. sabdariffa* que la polinización cruzada natural osciló entre $0.20 \% \pm 0.09 \%$ a $0.68 \% \pm 0.34 \%$. Por lo tanto las posibles variaciones en los porcentajes de flujo de genes están en función directa con la anatomía de la planta, barreras geográficas, expresión genética, interacción ambiental e interacción genotipo ambiente. Consecuentemente el flujo de genes entre las poblaciones del Estado de Guerrero constituye una fuerza importante de la diversidad genética entre los materiales colectados.

El coeficiente de diferenciación genética entre las poblaciones fue $G_{st} = 0.4263$ (42.63 %), lo que indica que las poblaciones están medianamente diferenciadas. Ello establece también que aproximadamente el 42.63 % de la variación detectada se debe a diferencias entre las poblaciones. El resto (57.37 %) representa diversidad genética dentro de las poblaciones.

El análisis de poblaciones indicó que los materiales con mayor variabilidad genética fueron los provenientes de Arcelia seguido de los materiales de Acapulco, Tlapa, Ometepepec y Atoyac de Álvarez; esta variabilidad genética detectada indica que el germoplasma colectado en estas regiones geográficas representa un alto potencial en la búsqueda de alelos de interés para el mejoramiento genético

La mayor similitud se detectó entre los materiales de jamaica correspondientes a las poblaciones de Acapulco, Ometepepec, Ocotito y Tecoaanapa. Probablemente dicha similitud se deba al constate flujo de materiales y genes de jamaica por las principales vías de comunicación del Estado de Guerrero; así también como la cercanía de dichas zonas de colecta. Es importante mencionar que geográficamente las poblaciones de Acapulco, Ometepepec y Tecoaanapa pertenecen a la región Costa Chica de Guerrero y que dicha zona, presenta cercanía con el mar y se ubican del mismo lado de la Sierra Madre del Sur.

Las poblaciones que presentaron menor similitud son Chilpancingo y Arcelia. Estas se encuentran separadas geográficamente del resto de las poblaciones geográficamente por la Sierra Madre del Sur y los accesos de vías de comunicación.

Con base en los resultados obtenidos y al evaluar las variables, se determinó que las características morfológicas de tipo cuantitativas más importante que influyeron en la separación de grupos fueron longitud en la base del lóbulo principal de la hoja, longitud promedio del fruto, perímetro promedio del fruto, longitud vertical de la hoja, ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja, croma (C) de la flor y promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L). Al comparar los resultados con los encontrados por Suvakanta (2006) quien identificó y separó dos especies de *Hibiscus* y 16 variedades de *Hibiscus rosa-sinensis* (Malvaceae) a partir de caracteres morfológicos como hábitos de crecimiento,

colores de flores y otros, se coincide con presente trabajo en que el color de la flor es importante para la separación de grupos en *Hibiscus*.

Por otra parte, en otro estudio realizado por Ibrahim y Hussein (2006), donde estudiaron la variabilidad en 16 genotipos de jamaica durante las temporadas del 2003 y 2004, evaluando caracteres como altura de la planta, número de ramas, número de cápsulas, peso de la semilla y peso de sépalos, en la primera temporada el número de ramas tuvo una alta correlación con el número de cápsulas por planta, sin embargo al hacer la comparación con el presente estudio observamos que el número de ramas no tiene relación directa con el número de frutos donde se encuentran las capsulas. En la segunda temporada la altura de la planta tuvo una alta correlación significativa con el número de ramas, coincidiendo con los resultados del presente trabajo, dando un valor de $r = 0.81$ en la matriz de correlación de variables morfológicas cuantitativas; sin embargo dichos caracteres no son tan determinantes en la separación de grupos como lo son los caracteres de color y tamaño de hojas, frutos y flores.

Cheng *et al.* (2002) reportaron un estudio comparativo sobre la diversidad genética en las variedades de Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) donde evaluaron los caracteres diámetro medio del tallo, peso total del tallo, y los días a floración al 50 %, mismos que fueron responsables de la variación en las variedades de kenaf, obteniendo resultados semejantes a los del presente estudio solo en lo referente a la variable días a floración.

De acuerdo con Rendón (1992), en el estudio de la variación morfológica de *Hibiscus sabdariffa* L., los caracteres que permitieron la separación entre los grupos fueron la altura de planta, arquitectura de la planta, características de los frutos y las características de la forma de la hoja (lobulación), lo que coincide en forma parcial con nuestros resultados.

El coeficiente de variación de la altura de la plantas fue de 17.97 y se observa un incremento moderado en el error estándar en algunas accesiones. Esto indica la existencia de una variación moderada interpoblacional y el análisis de la varianza muestra diferencias significativas de ($p > 0.04$). Sin embargo el carácter no es importante en la explicación y separación de grupos.

De los análisis de la matriz de correlación para las variables cuantitativas como cobertura foliar y altura de planta, se encontró que existe correlación positiva de 0.81. Es decir, que ambas características se encuentran asociadas, significando que si la planta presenta una altura elevada, la probabilidad de que tenga una cobertura foliar abundante también es grande.

5. CONCLUSIONES

1. Se detectó la existencia de variabilidad genética entre los materiales de *Hibiscus sabdariffa* L., evaluados.
2. Tanto las variables morfológicas como las moleculares tipo RAPD's permitieron identificar y diferenciar a los genotipos de jamaica.
3. Los agrupamientos de genotipos, resultado de la caracterización molecular contra la caracterización morfológica fueron diferentes; posiblemente debido a que ambos marcadores evaluaron *loci* diferentes.
4. Las poblaciones de jamaica se encuentran en el Estado de Guerrero se encuentran medianamente diferenciadas debido a que existe un porcentaje importante de flujo genético.
5. Los caracteres morfológicos cuantitativos que más aportan a la caracterización de los genotipos de jamaica fueron: longitud en la base del lóbulo principal de la hoja, longitud promedio del fruto, perímetro promedio del fruto, longitud vertical de la hoja, ángulo del lóbulo izquierdo de la hoja, croma (C) de la flor y promedio de color de hoja cuantificado con colorímetro (L).

En lo referente a los caracteres cualitativos tenemos las variables X8, X17, X12, X15 X18 y 13 que simbolizan al color visual de la hoja, precocidad, color aparente del tallo, color de brácteas, ausencia o presencia de glándulas melíferas y número máximo de frutos por axila contribuyeron de manera substancial en la separación de los grupos. El resto de las variables tanto cualitativas como cualitativas no se tomaron en cuenta, debido a su pobre contribución a la formación de los grupos.

6. Los RAPD's que más contribuyeron a la caracterización molecular fueron los generados con los iniciadores OPA010, OPA017, OPA18 y OPA020.

7. El empleo de las características genotípicas como son los marcadores genéticos moleculares mostraron ser más confiables y precisos que el uso de las características fenotípicas en el estudio de la variabilidad genética y las relaciones genéticas entre las poblaciones.

6. BIBLIOGRAFÍA

Al –Wandawi, H., K. Al-Shaikhaly and M. Abdurahman, 1984. Roselle Seeds: a new source of protein. *J. Sci. Food Agric.*, 32: 510-512

Adams, C.D. 1972. Flowering plants of Jamaica. University of The West Indies. Mona. Jamaica. 848 pp.

Adamson, W.C. 1983. Inheritance of leaf shape in roselle, *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of Heredity* 74 (6): 485-486.

Anónimo. 1975. Ciclo otoño – Invierno 1974-1975. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos Boletín #75 Dirección General de Economía Agrícola. 62p

Anónimo. 1976. Ciclo otoño – Invierno 1975-1976. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos Boletín #76 Dirección General de Economía Agrícola. 70p

Anónimo. 1978. Programa Coordinado de Asistencia Técnica Agrícola – Guerrero Zona Costa Chica. Cultivos Invierno-Primavera-Verano. Banco Nacional de Crédito Rural Dirección General de programas de Extensión Agrícola. Chapingo, México. 70 p.

Anónimo. 1994. Le programme du GCRAI sur les ressources phytogénétiques. CGIAR (Consultative Group on International Agricultural Research). Les hommes et les plantes: programme pour le développement. 12 p.

Anónimo. 2001. *Hibiscus sabdariffa* L. INFOASERCA. MEXICO. 35p

Anónimo. 2006. (Avances de cosechas del ciclo primavera verano por Cultivo 2006). Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Información del Sector Agrícola Delegación Estatal Guerrero Sección Estadísticas. . www.sagarpa.gob.mx.

Anónimo. 2008. Estadísticas del cultivo de jamaica en el estado de Guerrero. Secretaria de Agricultura, Pesca y Alimentación. www.sagarpa.gob.mx.

Anónimo. 1981. Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Instituto Nacional de Geografía, Estadística e Informática. Secretaria de Programación y Presupuesto. 680p.

Anónimo. 1982. Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Instituto Nacional de Geografía, Estadística e Informática. Secretaria de Programación y Presupuesto. 695p.

Anónimo. 1983. Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Instituto Nacional de Geografía, Estadística e Informática. Secretaria de Programación y Presupuesto. 706p

Anónimo. 1984. Anuario Estadístico del Comercio Exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Instituto Nacional de Geografía, Estadística e Informática. Secretaria de Programación y Presupuesto. 688p.

Azofeifa – Delgado, A. A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17(2): 221-242.

Bachstetz, M. 1949. Notas sobre drogas, plantas y alimentos mexicanos. *Ciencia (México)*. 9 (4/6): 121-123.

Bailey, L. H. 1977. Manual of cultivated plants. Most Commonly grown in the continental United States and Canada. MacMillan Publ. Co. Inc. New York. 1116 pp.

Balami, A. 1998. The effect of processing conditions packaging and store on selected quality attributes of Mungza Ntusa. M. Sc. Thesis, University of Ibadan, Nigeria. 124p.

Becerra, V., Paredes, M. 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de la diversidad genética. *Agricultura Técnica (Chile)* 60(3):270-281

Bois, D. 1927. Les plantes alimentaires chez Tous las peuples et a travers les ares. Histoire. Utilisation, Culture. Phanérogames Legumeres. *Encyclopédie Biologique*. Paul Lechevalier Ed. Paris. 593 p.

Burr, B. 1994. Some concepts and new methods from molecular mapping in plants. Pp 1-8. In: DNA – Based markers in plants. R.L. Phillips and IK Vasil (Eds). Kluwer Academic Publishers Netherlands.

Campese, D. 1937. La coltura della rosella e la preparazione della fibre. Inthe culture tropicale e lavorione dei prodotti. Pp 293-314.

Carpenter, K. J. 1986. The history of scurvy and vitamina C. Cambridge University press. New York. 288 p.

Carroll P. Wiltse. 1996. Crop Adaptation and Distribution. Iowa State University. W. H. Freeman and Company. San Francisco, California. USA. 639 p.

Cheng, Z., Lu, B. R., Baldwin, B.S., Sameshima, K. and Chen, J.K. 2002. Comparative studies of genetic diversity in kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) varieties based on analysis of agronomic and RAPD data. Lund, Sweden. Hereditas 136 : 231–239.

Colmeiro, M. 1871. Diccionario de los diversos nombres vulgares de muchas plantas usuales o notables del antiguo y viejo mundo. Madrid España. 987p.

Cook O.F., Collins, G.N. 1903. Contributions from the United State National Herbarium Economic Plants of Porto Rico. Volume VIII, Part 2. Smithsonian Institution. United States National Museum. Washington, U.S.A. 268 p.

Crane, J.C. 1949. Roselle – a potentially important plant fiber. Economic Botany 3(1): 89-103.

Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press.N.Y. 1262 p.

Chakravarty, K., Basu N.C. 1972. The anthocyanin pigmentation pattern in *Hibiscus sabdariffa* L. and its mode of inheritance, with special reference to the variation intermedius. Genetic 43: 366-374.

Chavez, P.J.F. 1985. Estudio preliminar de la semilla de Chiraguata (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su potencial como alimento. Interciencia (Venezuela). 10 (1): 27-29.

Clydesdale, F.M., Main J.H., y Francis F.J. 1979. Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) anthocyanins as colorants for beverages and gelatine desserts. J. Food Prot. 43 (3): 204-207.

Chevalier, J. 1937. Les fleurs d' *Hibiscus sabdariffa* L. leur utilisation en diététique. Bull. Sci. Pharmacol. 44: 195-198.

Dempsey, J.M. 1975. Fiber Crops. The University Press of Florida . Gainesville. 457 p.

Díaz, J. L. 1976. Indice y sinonimia de las plantas medicinales de México. Monografías Científicas I. IMEPLAM. México. 358 p.

Du, C. T., Francis F. J. 1974. Anthocyanins of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). Journal of Food Science 38 (5): 810-812.

Duke, J. A. 1975. Ethnobotanical observations on the cuna Indians. Economic Botany 29 (2): 278-293.

Dunstan, W.R. 1909. Some African Grains. (Gt. Brit.) Imp. Inst. Bul. 7 : 145-154.

- F.A.O. 1983. Plants and plant products of economic importance. Terminology Bulletin. 25/1. 328 p.
- Feldman, E. B. 1990. Principios de Nutrición Clínica. Editorial El Manual Moderno S.A. de C. V. México.
- Flores, B. E. 1989. El problema de la comercialización de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en la Costa Chica de Guerrero. Chapingo, México. Pp. 5-8.
- Free, J.B. 1970. Insect Pollination of Crops. Academic Press. London. 544 p.
- Fryxell, P.A. 1988. Systematic Botany Monographs. Malvaceae of México. Vol. 25. The American Society of Plant Taxonomists. University of Michigan Herbarium. U.S.A. 522 p.
- Futuyma, D.J. 1986. Evolutionary Biology. 2nd. ed. Sunderland. Massachusetts. Sinauer. 590 p.
- Gandara, G. 1939. La jamaica. Agricultura 2 (12): 34-35.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen, 4ª. de Ed. UNAM. México. 252p.
- García, E. 1989. Apuntes de Climatología, 6a de Ed. UNAM. México. 154p.
- Gilmar, E. M., Leal, N. R., do Amaral, A. J., Pereira, M. G., Daher, R., F. 2003. Diversidade genética em quiabeiro baseada em marcadores RAPD. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 1, p. 20-25.
- Grant, V. 1981. Plant Speciation. 2nd. Ed. Columbia Univ. Press. New York. 563 p.
- Guarino L., Rao R. et R Reid 1995 Collecting Plant Genetic Diversity. Technical Guidelines. CAB International, Wallingford, Oxon OX10 SDE, UK. 748 p.
- Hadrys, H., Balick, M., Schierweter, B. 1992. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology* 1:55-63.
- Haji Faraji, M. and A.H. Haji Tarkhani, 1999. The effect of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) on essential hypertension. *J. Ethnopharmacol.*, 65: 231-236.
- Harlan, J.R. 1975. Geographic patterns of variation in some cultivated plants. *Journal of Heredity*. 966: 182-192.
- Hooker J.D., Jackson C.D. 1985. Index Kewensis. *Plantarum Phanerogamarum*. 1072 p.

Howard, A., Howard, G.L.C. 1911. Studies in Indian fibre plants. No. 2. On some new varieties of *Hibiscus cannabinus* L. and *Hibiscus sabdariffa* L. Indian Dep. Agric. Mem. Bototanic Serv. 4: 9-36.

Hutchinson, J. 1965. Essays on Crop Plant Evolution. University Press. Cambridge. 204 pp.

Ibrahim, M.M., Hussein R.M. 2006. Variability, Heritability and Genetic Advance in Some Genotype of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) World Journal of Agricultural Science 2(3): 340 – 345.

Karp A, Kresovich S, Bhat KV, Ayad W. G., Hodgking T. 1997b. Molecular Tools in Plant Genetic Resources Conservation: Opportunities and Challenges. Nature Biotechnology 15: 625-628.

Kiran Patro, T.S. and C. Ravisankar, 2004. Genetic variability and multivariate analysis in okra (*Abelmoschus esculentus* L., Moench. Tropical Agric. Res., 16: 99-113.

León, J. 1987. Botánica de los cultivos tropicales. Servicio Editorial IICA. San José, Costa Rica. 445p.

Maiti, S.N., Mukerjee N. 1985. Outcrossing in Roselle. Indian J. Agric. Sci. 55 (3): 209.

Marafioti, R.L. 1970. The meaning of generic names of important economic plants. Econ. Bot. 24 (2): 189-197.

Marín, L. 1940. La Jamaica. Campo Monterrey. 2 (62): 15- 18.

Martín, F.W. 1984. Handbook of tropical food crops. CRC Press. Inc. Boca Ratón Florida. 296 p.

Martinello, G.E.; Leal, N.R.; Amaral Júnior, A.T.; Pereira, M.G.; Daher, R.F. 2003. Diversidade genética em quiabeiro baseada em marcadores RAPD. Horticultura Brasileira 21(1): 20-25.

Mendoza – Herrera, A. y J. Simpson. 1996. Uso de marcadores moleculares en la agronomía . XV Aniversario de la Unidad Irapuato. Avances y Perspectivas Vol. 16: 53-57.

Menzel, M.Y., S.G. Goetz y W.C. Adamson. 1983. Some pieces of the african genome puzzle in *Hibiscus* section *Furcaria* (Malvaceae). Amer . J. Bot. 70 (2): 285-297.

Menzel, M. Y., Wilson F.D. 1963. Cytotaxonomy of Twelve species of *Hibiscus* section *Furcaria*. Brittonia 21: 91-125.

- Menzel, M. Y., Wilson F.D. 1969. Genetic relationships in *Hibiscus* section *Furcaria*. Amer. J. Bot. 50 (3): 267-271.
- Murdock, G. P. 1959. Africa: its people and their culture history. McGraw-Hill. New York. 456 p.
- Micheli, M. R., Bova R., Pascale, E., Ambrosio, E. 1994. Reproducible DNA fingerprinting with the random amplified polymorphic DNA (RAPD) method. Nucleic Acid research 22: 1921-1922.
- Monsour B. M., 1975. Effects of temperature and day length growth and flowering of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Scientia Horticulturae 3(2): 129-135.
- Morton, J. 1997. Roselle. *Hibiscus sabdariffa* L. in: Fruits of Warm Climates. Miami Florida. 287 p.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. The Amer. Naturalist 106: 283 – 292.
- Ochse, J. J. Souler Jr. Dijkman, M.J.; Wehlbrug C. 1976. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales. Tomo II. Limusa ed. México. 1536 p.
- Omer, E.A., M.E. Khattab and M.E. Ibrahim, 1997. Effect of pinching and foliar application of some growth regulators on two new early mature varieties of *Hibiscus sabdariffa* L., Egypt J. Hort., 24: 117-130.
- Palmer, E. 1868 – 1910. En: Safford, W.E. Archivo Etnobotánico de México y el Oeste de Estados Unidos. Copia depositada en el Jardín Botánico Exterior, Instituto de Biología, UNAM. México.
- Paredes, M., Gepts, P. 1995. Extensive introgression of Middle American germplasm into Chilean common bean Gen. Res. and Crop Evol. 42:29-41.
- Patiño, N. A. 1975. Cultivo y aprovechamiento de la jamaica. Dirección General de Extensión Agrícola. Chapingo, México. 50 p.
- Pin-Der, D. and Y. Gow-Chin, 1997. Antioxidative activity of three herbal water extracts. J. Food Chem., 60: 639-645.
- Powell, W. 1992. Plant genomes, gene markers and linkage maps. pp 324-502. In: Biotechnology and crop improvement in Asia (Moss, J.P. Ed.) Patancheru A.P.. India : International Crops Research Institute for the Semi- Arid Topics.
- Proctor, M.; Yeo, P. 1979. The pollination of flowers . N.N. Collins. London. 418 p.

Purseglove, J. W. 1982. Tropical Crops. Dicotyledons. Longman Group. Ltd. London. P: 370 - 375.

Rendón, A. B. 1992. Estudio de la variación morfológica y aspectos etnobotánicos en *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae), en relación a su uso y manejo. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 202 p.

Roig y Mesa, T. 1988. Diccionario Botánico de Nombres Vulgares Cubanos. Colección Diccionario. Ed. Científico-Técnico. La Habana .1142 p.

Rovesti, P. 1936. Appunti sulle proprietà terapeutiche e dietetiche del karkade, I nuovo té rosa delle nostre colonie '*Hibiscus sabdariffa* L.' Il Farmacista Italiano 3(1) 13-16.

Sanyal, P. y Dutta A.N. 1954. Natural crossing in *Hibiscus sabdariffa* L. Sci. Cult. 19: 407-408.

Sardana, S. A., Ghosh, K. A., Borthakur, D.N. 1984. Adaptability of Promising Roselle Varieties to the Upinadsof Tripura. Indian J. Agric. Sci. 54 (8): 642-645.

Statistical Analysis System, SAS (2004) versión 9. Copyright © 2002 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. All rights reserved.

Schierwater B. Ender A. 1993. Different thermostable DNA polymerases may apply to different RAPD products. Nucleic Acid Research 21:4647-4648.

Schnell, R. 1957. Plantes alimentaires et vie agricole de l'Afrique. Notre Essai de Phytogéographie alimentaire. Editions La Rose. Paris. 216 p.

Siepe, T., Ventrella, D. and Lapenta, E. 1997. Evaluation of genetic variability in a collection of *Hibiscus cannabinus* (L.) and *Hibiscus spp* (L.) Industrial crops and products volumen 6, Pages 343-352

Spooner D., R. Van Treuren; M.C. de Vicente. 2005. Molecular markers for genebank management. International Plant Genetic Resources Institute. IPGRI Technical Bulletin 10. Roma, Italy. 126 p.

Staub, J. E., Serquen, F.C., M. Gupta. 1996. Genetic markers, map construction, and their applications in plant breeding. HortScience 31 (5).

Suvakanta B, . Kumar S. S., Aparajita, S. A. M., and Ranjan R.G. 2006. Identification and Genetic Variation among *Hibiscus* Species (Malvaceae) Using RAPD Markers. Plant Biotechnology Division, Regional Plant Resource Centre, Bhubaneswar-751015, Orissa, India. 61c, 123 -128.

Tanksley, 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant Molecular Biology Reporter* 1: 3-8.

Tseng, T., T. Kao, C. Chu, F. Chou, W. Lin and C. Wang, 2000. Induction of apoptosis by Hibiscus Protocatechuic Acid in Human Leukemia Cells via Reducion of Retinoblastoma (RB) Phosphorylation and Bcl-12 expresión. *Biochem. Pharmacol.*, 60: 307-315.

Valadez – Moctezuma, E., G. Kahl. 2000. Huellas de ADN en genomas de plantas (Teoría y Protocolos de Laboratorio). Mundi-Prensa. México. 147 p.

Vaidya, K. R. 2000. Natural cross-pollination in roselle, *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae). *Genetics and Molecular Biology*. 23(3): 1415 - 4757

Verdoon, F. 1945. Plants and plant science in Latin America. Publ., by chronica Botanica Company. Waltham, Mass., U.S.A. 381 p.

Walker, E. J., Sierra, M., Bedia, R., Hoop, H. 1960. Some relationships between dates of planting, flowering and harvest date, Expected yields of seed and fiber from Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) in Cuba. *Turrialba* 10 (4): 149-155.

Wester, P.J. 1911. Contributions to the history and bibliography of the rosel. *Bot. Bull. Torrey Club* 38: 91- 98.

Whitkus R., Doebley J. Wendel JF.1994. Nuclear DNA markers in systematics and evolution. In DNA- based markers in plants. (Advances in cellular and molecular biology of plant). Vol 1 (RL Phillips and IK Vasil, eds.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. The Netherlands. pp 116 – 141.

Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18: 6531-6535.

Wilson, F. D. 1974. *Hibiscus* section *Furcaria* (Malvaceae) in Australia. *Aust. J. Bot.* 32: 157-182.

Wilson, F. D., Menzel, M. Y. 1964. Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) *Econ. Bot.* 18 (1): 80-91.

Wilson, F. D., Menzel, M. Y. 1967. Interspecific hybrids between kenaf (*Hibiscus cannabinus*) and Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Euphytica* 16: 33-44.

Wilson, H. D. Helser Jr. Ch. B. 1979. The origin and evolutionary relationships of "Huazontle" (*Chenopodium nuttalliae* safford), domesticated chenopod of México. *Amer. J. Bot.* 66 (2): 166-206.

Wilson, Ch. M. 1945. New Crops for the New World. MacMillan Company. New York. 295 pp.

Wilson . F.D. y Adamson 1970. Reaction to the cotton root knot nematodos and the pollen and seed fertility of Kenaf – Roselle (*Hibiscus cannabinus* x *Hibiscus sabdariffa*) allohexaploids. Euphytica 19: 349-355.

7. ANEXOS

7.1 Anexo 1. Hoja de salida del SAS, procedimiento STEDISC, con FORWARD de las variables cuantitativas seleccionadas.

El método para las variables de selección es FORWARD

Observaciones	116	Variable(s) en el análisis	40
Niveles de cla	26	Las variable(s) se incluirán	0
		Nivel de significación para	0.04

Resumen de la selección hacia delante

Paso	Número en	Introducido	R-cuadrado parcial	F-Valor	Pr > F	Lambda de Wilks	Pr < Lambda	Correlación canónica cuadrada de la media	Pr > ASCC
1	1	x47	1.0000	Infin	<.0001	0.00000000	<.0001	0.04000000	<.0001
2	2	x48	1.0000	Infin	<.0001	0.00000000	<.0001	0.08000000	<.0001
3	3	x50	1.0000	Infin	<.0001	0.00000000	<.0001	0.12000000	<.0001
4	4	x49	1.0000	Infin	<.0001	0.00000000	<.0001	0.16000000	<.0001
5	5	x25	0.7844	15.59	<.0001	0.00000000	<.0001	0.19137464	<.0001
6	6	x38	0.7016	9.97	<.0001	0.00000000	<.0001	0.21942516	<.0001
7	7	x42	0.6526	7.87	<.0001	0.00000000	<.0001	0.24446614	<.0001
8	8	x43	0.6171	6.68	<.0001	0.00000000	<.0001	0.26262611	<.0001
9	9	x46	0.6973	9.43	<.0001	0.00000000	<.0001	0.28535006	<.0001
10	10	x44	0.7917	15.38	<.0001	0.00000000	<.0001	0.30664994	<.0001
11	11	x2	0.5979	5.95	<.0001	0.00000000	<.0001	0.32727521	<.0001
12	12	x14	0.5229	4.33	<.0001	0.00000000	<.0001	0.34724305	<.0001
13	13	x3	0.4864	3.70	<.0001	0.00000000	<.0001	0.36603121	<.0001
14	14	x33	0.4587	3.27	<.0001	0.00000000	<.0001	0.37797217	<.0001
15	15	x31	0.4491	3.11	0.0001	0.00000000	<.0001	0.39318493	<.0001
16	16	x28	0.4366	2.92	0.0003	0.00000000	<.0001	0.40478589	<.0001
17	17	x41	0.4255	2.75	0.0007	0.00000000	<.0001	0.41774063	<.0001
18	18	x4	0.3991	2.44	0.0025	0.00000000	<.0001	0.42761607	<.0001
19	19	x39	0.3889	2.30	0.0044	0.00000000	<.0001	0.43922312	<.0001
20	20	x40	0.5721	4.77	<.0001	0.00000000	<.0001	0.45280541	<.0001
21	21	x21	0.3921	2.27	0.0052	0.00000000	<.0001	0.46181911	<.0001
22	22	x7	0.3886	2.21	0.0068	0.00000000	<.0001	0.47423983	<.0001
23	23	x1	0.3619	1.94	0.0199	0.00000000	<.0001	0.48191693	<.0001
24	24	x9	0.3537	1.85	0.0290	0.00000000	<.0001	0.48800524	<.0001
25	25	x34	0.3794	2.04	0.0142	0.00000000	<.0001	0.49678551	<.0001

7.2. Anexo 2. Hoja de salida del SAS, de (Análisis de Correspondencia para variables morfológicas cualitativas).

Sistema SAS

13:09 Friday, May 14, 2009

Procedimiento CORRESP

Inercia y descomposición chi-cuadrado

Valor singular	Inercia principal	Chi- cuadrado	Porcentaje	Porcentaje acumulado	7 14 21 28 35
0.21168	0.04481	248.962	32.83	32.83	-----+-----+-----+-----+-----
0.18521	0.03430	190.588	25.13	57.96	*****
0.15939	0.02540	141.148	18.61	76.57	*****
0.11637	0.01354	75.242	9.92	86.49	*****
0.10093	0.01019	56.597	7.46	93.95	*****
0.06586	0.00434	24.100	3.18	97.13	**
0.04307	0.00185	10.306	1.36	98.49	*
0.03664	0.00134	7.460	0.98	99.47	*
0.02684	0.00072	4.002	0.53	100.00	
Total	0.13650	758.406	100.00		

Grados de libertad = 2529

7.3. Anexo 3. Ejemplo de formato de datos de pasaporte

Nombre común: jamaica

Número de colecta: 1 – 47 Nombre científico: *Hibiscus sabdariffa* L.

Clave definitiva: 9T

Localidad de producción: Acapulco.

Municipio: Acapulco

Estado: Guerrero. Altitud: 50 msnm

Condiciones del cultivo: en buen estado, planta altamente productiva

Latitud: 99° 54' Longitud: 16° 50'

Color de suelo: Rojo

Características de la muestra: Frutos de aproximadamente 10 cm de largo por 14 cm de
perímetro.

Posible raza o subespecie: Desconocida.

Nombre y características del donante: Jamaica, color roja, planta de aproximadamente
1.25 metros de alto, frutos uniformemente rojos, sin defoliación, abundante número de
ramas, suelo salino y poca pedregosidad, pendiente menos del 5%.

Cantidad colectada: 25 frutos con cáliz, brácteas y semillas.

Asociación con vegetación o cultivo: selva baja caducifolia

Costo de la muestra: sin costo.

Colector: Noé Alarcón Cruz.

Fecha de colecta: 22 de noviembre del 2007

