



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, QUÍMICA Y
MOLECULAR DE HÍBRIDOS DE ANTURIO (*Anthurium
andreaeanum* L.)**

P R E S E N T A:

LUIS MIGUEL CONDE DELGADO

CODIRECTORES DE TESIS:

Dr. Irán Alia Tejacal

Dr. Porfirio Juárez López

Cuernavaca, Morelos noviembre de 2019

Tesis realizada por **Luis Miguel Conde Delgado** bajo la Dirección del Comité asesor indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENAS AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL

Director: Dr. Irán Alia Tejacal

Codirector: Dr. Porfirio Juárez López

Revisor: Dra. Gloria Alicia Perez Arias

Revisor: Dr. Víctor López Martínez

Revisor: Dr. Dagoberto Guillén Sánchez

Revisor: Dr. Nelson Avonce Vergara

Cuernavaca, Morelos, Noviembre 2019

INDICE	Pág.
RESUMEN	
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVO	5
3. HIPÓTESIS	5
4. MATERIALES Y METODOS	5
4.1. Caracterización morfológica	5
4.1.1. Localización	5
4.1.2. Material vegetal	5
4.1.3. Características morfológicas evaluadas	7
4.2. Caracterización química	10
4.2.1. Cuantificación de antocianinas totales	10
4.2.2. Cuantificación de clorofilas y carotenoides	10
4.3. Análisis estadístico	12
4.4. Caracterización molecular	12
5. Resultados y discusión	19
5.1. Caracterización morfológica y química	19
5.2. Caracterización molecular	29
6. Conclusiones	35
7. Literatura citada	36

INDICE DE CUADROS	Pág.
Cuadro 1. Híbridos de <i>Anthurium andreanum</i> evaluados.	7
Cuadro 2. Microsatélites utilizados para el análisis molecular (Wang <i>et al</i> , 2013)	24
Cuadro 3. Mezcla de reacción de PCR	17
Cuadro 4. Programa de Amplificación de PCR	17
Cuadro 5. Variables morfológicas y químicas de 70 híbridos de anturio (<i>Anthurium andreanum</i> L.)	22
Cuadro 6. Valores propios y proporción de la varianza total explicada por los componentes principales, con base a la matriz de correlación aplicado.	24
Cuadro 7. Vectores propios de 16 variables en las tres primeras raíces canónicas (CAN) de 70 híbridos de anturio (<i>Anthurium andreanum</i> L.).	25
Cuadro 8. Distancia de Mahalanobis entre los grupos obtenidos del análisis clúster de híbridos de anturio.	26
Cuadro 9. Prueba HSD de Tukey de las tres primeras raíces canónicas (CAN) de los cuatro grupos de anturio (<i>Anthurium Andreanum</i> L.) obtenidos en el análisis clúster.	27
Cuadro 10. Promedios de 16 variables de los grupos formados en el análisis clúster de 70 híbridos de anturio (<i>Anthurium andreanum</i> L.).	28

INDICE DE FIGURAS	Pág.
Figura 1. Dendograma de 70 híbridos de híbridos de anturio (<i>Anthurium andreanum</i>) construido por el método de Ward a partir de 16 variables	23
Figura 2. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 1.	29
Figura 3. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 2.	29
Figura 4. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 3.	29
Figura 5. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 4.	30
Figura 6. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 5.	30
Figura 7. Dendograma del microsatélite 1 “Am2” (AY232494) elaborado con el método neighbor joining con el software PyElph®	31
Figura 8. Dendograma del microsatélite 2 “Am3” (AY236866) elaborado con el método neighbor joining con el software PyElph®	31
Figura 9. Dendograma del microsatélite 3 “Am7” (AY232494) elaborado con el método neighbor joining con el software PyElph®	32
Figura 10. Dendograma del microsatélite 4 “Am8” (EF079870) elaborado con el método neighbor joining con el software PyElph®	32
Figura 11. Dendograma del microsatélite 5 “Cm16” (AM183320) elaborado con el método neighbor joining con el software PyElph®	33

RESUMEN

Se utilizaron 70 híbridos de anturio (*Anthurium Andreanum* L.) desarrollados en el Estado de Morelos, para evaluar su diversidad, se utilizaron distintas variables de tipo morfológico y químico, adicionalmente se tomaron algunos híbridos para evaluar su diversidad mediante el uso de marcadores moleculares (Microsatélites), y obtener información para futuros trabajos, se tuvieron diferencias en la concentración de clorofilas y carotenoides, principalmente, sin embargo, será importante realizar la toma y análisis de datos por separado para realizar investigaciones posteriores a la presente.

Palabras clave: clorofilas, carotenoides, microsatélites, diversidad, antocianinas

ABSTRACT

70 anturium hybrids (*Anthurium Andreanum* L.) developed in the State of Morelos were used to evaluate their diversity, different morphological and chemical variables were used, some hybrids were also taken to assess their diversity through the use of molecular markers (Microsatellites), and obtaining information for future work, there were differences in the concentration of chlorophylls and carotenoids, mainly, however, it will be important to carry out the collection and analysis of data separately for further investigations

Key words: chlorophylls, charotenoids, microsatellites, diversity, anthocyanins

1. INTRODUCCIÓN

Los anturios son el género más grande de la familia Araceae, el género *Anthurium* engloba más de 1500 especies. Son plantas herbáceas, perennes, cuyas características incluyen inflorescencias con espádice recto, follaje exótico y particularmente sus “flores” de larga duración, que aseguran su importancia comercial. Por tanto, los anturios han ocupado parte importante de la floricultura, específicamente en las flores de corte y plantas cultivadas en contenedor. Actualmente, la demanda de variedades nuevas y de calidad se encuentra en incremento.

El nombre *Anthurium* proviene de las palabras griegas anthos y oura, que significa “florecimiento” e “inicio”, respectivamente. Siendo la más conocida en el mercado por su demanda *Anthurium andreanum* L, en donde se encuentra la mayoría de las variedades comerciales. Los mayores productores de anturio son Holanda y Hawaii (Kuenhle *et al.*, 2001).

El anturio es una planta ornamental comercializada como flor de corte o planta en maceta, un invernadero dedicado a la producción de anturio en maceta de 7” (18 cm) tiene el potencial de producir por metro cuadrado 20 macetas en un ciclo de 13 meses, con un costo de producción promedio de 29 pesos por maceta y el precio de venta se estima en 35 pesos, con una utilidad de 120 pesos por metro cuadrado, con lo que un invernadero de mil metros cuadrados puede generar hasta 120 mil pesos anuales, lo que equivale a un ingreso de 10 mil pesos mensuales, lo que lo hace un cultivo factible para un pequeño o mediano productor desarrollar un negocio en la actividad ornamental (López, 2014).

En México, los anturios se cultivan desde hace 50 años aproximadamente y tienen mayor presencia en el gusto de los consumidores, en la actualidad la superficie cultivada es menor de 20 hectáreas distribuidas principalmente en los estados de Veracruz, Chiapas, Morelos, Estado de México (Gallaga, 2000). Sin embargo, para la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca (SAGARPA, 2006), el anturio es un cultivo no tradicional, por lo que no se tiene información estadística de su cultivo y producción.

En México, existen híbridos generados por productores de forma empírica, sin llevar registros de ningún tipo, de manera que no ofrecen al mercado sus variedades, por la constante preocupación de que alguien reproduzca su material por cultivo de tejidos, debido a que la propagación por éste método y otros medios vegetativos suele realizarse con facilidad (Konrad, Com. Pers., 2018).

La caracterización del germoplasma de cualquier cultivo es un procedimiento para describir los caracteres morfológicos, fenológicos y productivos que identifican a las especies o accesiones; así como para verificar el grado de variación que poseen las colecciones de materiales útiles, pero potencialmente diferentes, representados por una mayor o menor cantidad de individuos (Machado, 2011).

La caracterización morfológica y agronómica son actividades complementarias que consisten en describir los atributos de las accesiones, y con ello, determinar su utilidad; pero a la vez permite identificar los tipos promisorios

para los procesos y selección; mejoramiento genético u otros fines (Bonilla *et al.*, 2008).

Becerra *et al.* (2009) proponen que para llevar a cabo el proceso de caracterización se utilizan descriptores reconocidos. Cuando la diversidad genética entre especies y dentro de las especies es fácilmente observable, los descriptores morfológicos suministran información con la que se puede evitar la duplicación del mismo material y minimizar las sobreestimaciones de la diversidad existente.

Los métodos fenotípicos clásicos de identificación, aunque son muy útiles, son difíciles de utilizar entre cultivares de anturio estrechamente relacionados. La exactitud de la selección fenotípica no sólo se ve obstaculizada por factores como las interacciones genotipo x medio ambiente o fase de desarrollo de la planta, sino que también está sujeto a interpretaciones humanas.

Gracias a los avances en la biología molecular 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 limitaciones de los métodos tradicionales.

Los marcadores moleculares son herramientas de alto valor en la investigación genética y eficiencia en la generación de variedades

Estos marcadores moleculares son fenotípicamente neutros, presentan mayor segregación o polimorfismo que los morfológicos, pueden ser evaluado desde los primeros estados de desarrollo de las plántulas, son aplicables a cualquier tipo de material vegetal, son independientes de la época del año en que se realiza el análisis, permiten la identificación correcta de la variedad sin

necesidad de muchos caracteres y están libres de los efectos epistáticos (Tanksley 1983; Powell 1992; Phillips *et al.* 1995; Rallo *et al.*, 2002).

Los microsatélites son considerados marcadores de alta eficacia, permiten el análisis de un elevado número de loci por experimento sin requerir información previa sobre su secuencia, son en su mayoría dominantes y altamente reproducibles. Se pueden emplear, por ejemplo, en la construcción de los armazones genéticos en el que se localizan los marcadores codominantes, para discriminar entre individuos cercanamente relacionados y para localizar genes específicos en genomas complejos (Azofeifa-Delgado, 2006).

Los marcadores moleculares son herramientas valiosas para estimar la diversidad genética, éstos marcadores pueden ser usados para medir directamente la diversidad genética a nivel de ADN, eliminando la influencia de variaciones ambientales, los marcadores moleculares también exhiben un largo número de polimorfismos.

En Morelos, se tienen productores que actualmente han desarrollado híbridos con potencial para su comercialización, pero se carece del estudio morfológico, bioquímico y molecular que apoyen su posterior registro y se obtengan beneficios de la generación de los mismos, por lo que en el presente trabajo se realizó un estudio inicial de caracterización de híbridos de anturio. La información generada puede ser utilizada en posteriores trabajos de descripción de híbridos, así como conocer la diversidad de los materiales generados de forma empírica y en posteriores trabajos se puedan obtener materiales con potencial alto para propagar y comercializarse.

2. OBJETIVO

Evaluar la diversidad morfológica, bioquímica y molecular en híbridos de anturio desarrollados en Morelos, México.

3. HIPÓTESIS

Los caracteres bioquímicos, morfológicos y moleculares a evaluar ayudarán a la separación de grupos de híbridos en forma importante para el desarrollo de materiales comerciales a propagar.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Caracterización morfológica

4.1.1. Localización

La caracterización de materiales híbridos se realizó en vivero 'Florita' en la localidad de Casasano, en el municipio de Cuautla, Morelos. La caracterización morfológica se desarrolló *in situ*, en las instalaciones del vivero.

4.1.2. Material vegetal

Se evaluaron 70 híbridos de *Anthurium andreanum* (Cuadro 1) que fueron obtenidos a través de cruces empíricas realizadas en Vivero 'Florita' por el Ing. Konrad Muller, que fueron crecidas de semilla y que obtuvieron su primera producción en 2004. Las plantas se sembraron en macetas de 7 pulgadas con sustrato y fueron cultivadas de acuerdo con el manejo agronómico del vivero. Los materiales estudiados fueron seleccionados considerando el potencial comercial de acuerdo a la experiencia del creador.

Cuadro 1. Híbridos de *Anthurium andreanum* evaluados.

Codificación	Color	Año de formación
H1 – H11	Rojo	2004
H12- H18	Vino	2004
H19- H28	Morado	2004
H29 – H33	Lila	2004
H34 – H37	Rojo Anaranjado	2004
H38 – H 43	Anaranjado	2004
H44 – H50	Blanco	2004
H51 – H55	Verde	2004
H56	Amarillo	2004
H57 – H64	Tricolor	2004
H65	Dorado	2004
H66 – H70	Rosa	2004

Elaborado con información de Muller (2018, Com. Pers.)

4.1.2. Características morfológicas evaluadas

Se utilizó el Protocolo de Pruebas de Distinción, Uniformidad y Estabilidad (CPVO, 2007), el cual aplica para todas las variedades de *Anthurium Schott*, propagadas de manera vegetativa. Se evaluaron las siguientes características:

Planta

Altura de planta: Se midió la altura de planta con un Flexómetro (Truper®) graduado en mm a partir de la base del tallo, hasta la parte más alta de la planta

Hoja

Longitud de hoja: Se midió la longitud de la hoja desde la base hasta el ápice en centímetros.

Ancho de hoja: Se midieron los extremos de la hoja en sus partes más anchas (cm).

Peciolo

Se determinó la **longitud del peciolo** (cm), esta variable se determinó

Pedúnculo

Se determinó la **longitud del pedúnculo** con ayuda de un flexómetro (cm).

Grosor del pedúnculo, se determinó con un vernier (Truper®), con graduación en mm.

Espata

Largo de la espata: la cual se determinó con un flexómetro (Truper®, México).

Componentes de color: en al menos tres espatas por planta se determinó la luminosidad (L^*), la cromaticidad (C^*) y el matiz (h ; Neguerula, 2012) con un espectro fotómetro (X-rite®, Estados Unidos). En cada espata se tomaron tres evaluaciones aleatoriamente y se reproto en promedio de las observaciones.

Distancia entre el espádice y sinus (en cm).

Concentración de clorofilas, carotenoides y antocianinas como se indica en la sección de caracterización química.

Espádice

Longitud del espádice, el cual se determinó con un flexómetro (cm)

Ancho en el centro (en mm): Ondulación o enrollamiento: Ausencia o

4.2. Caracterización química

En la caracterización química, se extrajo material vegetal y se transportó al Laboratorio de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, en la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y se realizó la extracción y cuantificación de los pigmentos que definen el color de las espatas de cada híbrido: **antocianinas, clorofilas y carotenoides**. Debido a que solo se tuvo un individuo, se tomaron al menos tres espatas por cada planta.

4.2.1. Cuantificación de antocianinas totales

Las antocianinas se determinaron por el método diferencial de pH (Lee, 2005), donde se prepararon dos buffers a diferente pH: 1 y pH 4.5). Posteriormente se procedió a picar finamente el parte de la espata y se pesaron 0.1 g del tejido para homogenizar con 20 mL del buffer pH 1, se filtró en un embudo con papel filtro y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 520 y 700 nm para pH 1, el procedimiento se repitió con el buffer pH 4.5, para algunas muestras se obtuvieron valores muy por encima del rango, por lo que se tuvieron que hacer diluciones 1:1, 1:2, 1:3. Para la obtención de la concentración de antocianina se utilizó la fórmula de pH diferencial:

Donde:

$A_{\lambda_{vis-max}}$: es la lectura del pico más alto a pH1 y pH 4.5

$A_{\lambda 700}$: es la lectura a 700 nm tanto para pH1 y pH 4.5

Para calcular la concentración en la muestra original se realiza con la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianina monomérica (mg L}^{-1}\text{)} = (A * \text{Peso molecular} * \text{FD} * 1000) / (\mathcal{E} * 1)$$

Donde:

A= Es la absorbancia obtenida de la muestra

FD= Es el factor de dilución

\mathcal{E} = Es el coeficiente de extinción molar

4.2.2. Cuantificación de clorofilas y carotenoides

La cuantificación de clorofilas y carotenoides se siguió con la metodología indicada por Rodés y Collazo (2006), con algunas ligeras modificaciones, para lo cual se tomó 0.1 g de tejido vegetal fresco (espata) y se colocó en un mortero congelado y se trituró con 5 mL de acetona fría al 80 %, posteriormente se agregaron 5 mL más de acetona y se homogenizó. La muestra se filtró para retirar los restos de tejido vegetal y el filtrado se utilizó para evaluar la absorbancia a 645 nm (clorofila a), 663 nm (clorofila b) y 440.5 nm (carotenoides), en un espectrofotómetro (Genesys, 10S, Estados Unidos) y se utilizó como blanco acetona al 80 %.

Los datos obtenidos en las lecturas se utilizaron en una fórmula para expresar las concentraciones de clorofila y carotenoides en mg L⁻¹:

$$Ca \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})$$

$$Cb \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})$$

Donde:

Ca= concentración de clorofila a

Cb = concentración de clorofila b

La sumatoria permite obtener la concentración total de clorofilas

$$Ca+b \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = (20.2 A_{645}) + 8.02 (A_{663})$$

4.3. Análisis estadístico

Los datos de las variables cuantitativas se analizaron primero por estadística descriptiva (Castillo 2011) para después realizar un análisis clúster, usando la distancia euclidiana y el método de varianzas mínimas de Ward (Ward 1963), estimando el número de grupos con el pseudoestadístico t² de Hotelling (Hotelling, 1951). Con los grupos resultantes se realizó un análisis discriminante canónico (Johnson 1998, Núñez y Escobedo 2014). Todos los análisis se realizaron con el programa SAS Versión 8.0. En cada ecotipo se evaluaron 10 frutos para cada una de las variables evaluadas.

4.2.2. Caracterización molecular

Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN de hoja de 28 híbridos de anturio mediante el método de CTAB (Weigel & Glazebrook Arabidopsis: A laboratory manual, 2002) con algunas modificaciones.

Composición del Buffer de extracción de ADN, (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio)

100 mM de Tris-Cl (pH 8.0)

20 mM de EDTA (pH 8.0)

1.4 M NaCl

2% CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio)

1% PVP 40,000 (Polivinilpirrolidona)

Procedimiento:

Se maceraron 100 mg de hoja de anturio en nitrógeno líquido, dentro de un tubo eppendorf con pistilos de vidrio estériles. Se agregó 1 ml de CTAB 2% a la muestra y se incubó por 60 min a 65 °C. Se centrifugó a 13,000 rpm por 5 minutos, para deshacernos de los restos celulares, se recuperó el sobrenadante y se agregó 1 volumen de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1) y se mezcló por inversión y se centrifugó por 10 minutos a 13,000 rpm, se recuperó la fase acuosa en un tubo nuevo y se agregó nuevamente 1 volumen de CTAB 2% para incubar por 30 min a 65 °C, posteriormente se agregó 1 volumen de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1) se mezcló por inversión, se centrifugó por 10 minutos a 13,000 rpm, se recuperó la fase acuosa en un tubo nuevo y se agregaron 2 volúmenes de etanol absoluto, se incubó por 30 minutos en frío, posteriormente se centrifugó por 20 minutos para obtener una pastilla de ADN, se descartó el sobrenadante y se realizaron 3 lavados con etanol al 70 %, centrifugando por 1 minuto a 12,000 rpm entre cada lavado y descartando el sobrenadante para conservar la pastilla, posteriormente se secaron los tubos con la pastilla y el ADN resuspendió en agua bidestilada estéril hasta una concentración de aproximadamente 50 ng/μl.

La calidad y concentración del ADN extraído se verificó con un espectrofotómetro DeNovix®.

Reacción en cadena de la polimerasa

El ADN extraído se utilizó como molde en una PCR usando primers para amplificar microsatélites, los cuales se utilizaron como marcadores moleculares para evaluar la variabilidad genética de híbridos de anturio

Microsatélites

Los microsatélites utilizados en este trabajo fueron propuestos como una herramienta útil para la discriminación de variedades de *Anthurium spp.* ya que mostraron un alto nivel de polimorfismo, siendo capaces de asesorar la diversidad genética de 28 genotipos diferentes (Wang *et al*, 2013).

Cuadro 2. Microsatélites utilizados para el análisis molecular. (Wang *et al*, 2013)

Nombre y Numero de acceso de GenBank	Locus	Motif Repetido	Secuencia
Am2 (AY232494)	Dihidroflavonol 4-reductasa (DFR1), CDS	(CA) ₂₀ (AT) ₆ (AG) ₁₀	For: TGCTCCATCGATCTCTCCTT Rev: GTGCATCATCCTCGCAGATT
Am3 (AY236866)	Dihidroflavonol 4-reductasa (DFR1) gene, promotor y 5'UTR	(CA) ₁₉ (AT) ₅ (AG) ₁₀	For: GACACAGTTGCCTCCGATTT Rev: AGCTGTTGTTTATAGAGGCAG

			AA
Am7 (DQ421809)	Chalcona sintasa (CHS),CDS	(AG)31	For: GAAAAGGTAGGGTGTTCCTC G Rev: CGGAACAAGTACCTCGGTTG
Am8 (EF079870)	dihidroflavonol 4-reductasa (DFR) promotor y 5' UTR	(CA)11(AT)9(AG)13	For: GCGTAGGGTAGACACAGTTG C Rev: CAGCTGTTGTTTATAGAGGCA GA
Cm16 (AM183320)	Microsatélite, Colocasia esculenta, clona Ces-1F08	(AG)19	For: ACTGGGCCACCAAATAAACA Rev: ACGACCTGGACTTCATGACC

Am2-Microsatelite 1

DNV33-Am2For: TGCTCCATCGATCTCTCCTT

DNV34-Am2Rev: GTGCATCATCCTCGCAGATT

>AY232494.1 Anthurium andraeanum putative dihydroflavonol 4-reductase (DFR1)

mRNA, complete cds

Am3-microsatelite 2

DNV35-Am3For: GACACAGTTGCCTCCGATTT

DNV36-Am3Rev: AGCTGTTGTTTATAGAGGCAGAA

>AY236866.1 Anthurium andraeanum dihydroflavonol 4-reductase (DFR1) gene, promoter region and 5'UTR

Am8-Microsatelite 4

DNV39-Am8For: GCGTAGGGTAGACACAGTTGC

DNV40-Am8Rev: CAGCTGTTGTTTATAGAGGCAGA

>EF079870.1 Anthurium andraeanum dihydroflavonol 4-reductase (DFR) gene, promoter region and 5' UTR

Los microsatélites 1,2,4 se localizan en la región 5'UTR del gen (región regulatoria del gen responsable de: localización subcelular, movilización a través del tejido vascular de la planta, estabilidad del RNA mensajero, etc.) En rojo se marca sitio de inicio y terminación de la traducción (proteína) y en negritas la región codificante del gen

Am7-Microsatelite 3

DNV37-Am8For: GAAAAGGTAGGGTGTTTTCTCG

DNV38-Am8Rev: CGGAACAAGTACCTCGGTTG

>DQ421809.1 Anthurium andraeanum chalcone synthase (CHS) gene, complete

El microsatélite 3 se localiza en la región 5'UTR del gen (región regulatoria del gen responsable de: localización subcelular, movilización a través del tejido vascular de la planta, estabilidad del RNA mensajero, etc.)

Cuadro 3. Mezcla de reacción de PCR

Buffer (NH₄)₂SO₄	2 µl
dNTP's (A, C, G, T)	2 µl
MgCl₂ (25 mM)	3.2 µl
Oligo forward (10 µM)	1 µl
Oligo reverse (10 µM)	1 µl
Taq polymerase	0.1 µl
ADN molde (50 ng/µl)	0.5 µl
Agua bidestilada esteril	10.2 µl
Volumen total	20 µl

Cuadro 4. Programa de Amplificación de PCR

95°C	3 min	
95°C	30 s.	Desnaturalización
55°C	30 s.	Alineamiento
72°C	45 s.	Extensión
	35 ciclos	
72°C	3 min	

Electroforesis en gel

Los productos de la amplificación de PCR se visualizaron por electroforesis en gel de agarosa "TopVision Agarose" (Thermo scientific®) al 2.5 % a 100 V 30 minutos o 75V 35 minutos. Se utilizó el marcador de pesos moleculares GeneRuler 50 pb DNA Ladder (Thermo scientific®). Se cargaron diferentes volúmenes en cada muestra a fin de obtener una intensidad de banda uniforme.

Análisis

Se utilizó la herramienta informática PyElph® (Pavel *et. al.*, 2012), que de manera automática extrae información de imágenes de geles, calcula los pesos moleculares de las moléculas o fragmentos analizados, compara patrones de ADN, resultado de experimentos con marcadores moleculares y genera árboles filogenéticos calculados por métodos de agrupación.

5. Resultados y discusión

5.1 Caracterización morfológica y química

La altura de la población fluctuó entre los 32.17 y 76.50 cm (Cuadro 5). En el mejoramiento de plantas de anturio para maceta se prefieren las plantas de porte bajo o entrenudos cortos con gran cantidad de brotes florales (Dole y Wilkins, 2005). Henny (1999) y Henny *et al.* (2003) indican que anturios derivados de materiales enanos de *A. amnicola* x *A. andreanum* con un año de edad, tienen una altura de 27 ± 0.9 cm o con siete meses de edad tienen entre 19.3 y 21.3 cm de altura, respectivamente. En la población de híbridos evaluados, tienen 15 años desde su generación, por eso muestran mayor altura que lo requerido en una planta de anturio de maceta. La variabilidad en la altura fue baja (CV= 18.90 %). Reshma *et al.* (2017) realizaron una caracterización de 10 genotipos para la utilización de los mismos en un programa de mejoramiento genético en India, indicando que la altura de planta no contribuyó a la diversidad genética de la población estudiada. Por lo que se considera que la altura se sigue manteniendo estable en los híbridos evaluados.

El largo y ancho de la hoja, también mostró baja variabilidad, CV= 18 y 22 %, respectivamente (Cuadro 5). El híbrido H56, mostró el menor tamaño de hoja ya que mostró las mayores dimensiones (Cuadro 5). En contraste los híbridos H44 y H46, tuvieron las dimensiones menores de hoja, esto materiales son de color blanco (Cuadro 5). El largo de la hoja de *A. andreanum* se reporta entre 17 y 50 cm y el ancho entre 11 y 22 cm (Dole y Wilkins 2005), en los híbridos evaluados el largo de la hoja varió entre 13.17 y 44.27 cm y el ancho de la hoja entre 6.70 y

28.90 cm, lo que sugiere que la selección de los progenitores fue hacia hojas de menor largo pero anchura variable.

En los anturios de maceta una característica importante es que el pedúnculo sea largo y que la espata supere ligeramente la altura del follaje, ya que contribuye a lo atractivo de la planta (Kamemoto y Kuehnle, 1996). El híbrido H70 mostro la mayor longitud del peciolo y grosor del pedúnculo, en tanto que la longitud del pedúnculo se determinó en el híbrido H10 (Cuadro 5). Los híbridos con valores menores de longitud de peciolo y pedúnculo, así como el grosor del pedúnculo fueron H64, H10 y H56, respectivamente. Estas características mostraron baja variabilidad dentro de la población de híbridos evaluados. El tamaño del peciolo de *A. andreanum* es de hasta 60 cm de longitud (Dole y Wilkins, 2005), en el presente trabajo se observaron valores entre 14.47 y 33.21 cm (Cuadro 5).

El largo de la espata, mostró mayor variabilidad, CV= 27.65 %, con valores mínimos de 8 y máximos de 37 cm (Cuadro 5). La espata es una característica de amplia importancia, ya que es una de las principales características de calidad.

La distancia entre el espádice y el sinus mostro amplia variación dentro de la población de híbridos evaluados, CV= 129 % (Cuadro 1), cuantificándose valores entre 0.51 y 20.47 mm (Cuadro 2).

El largo del espádice también mostró amplia variabilidad, CV= 48.10 %, alcanzado hasta 23.25 cm de valores máximos y mínimos de 3.6 (Cuadro 5). Dole y Wilkins (2005) indica que la espata de *A. andreanum* se encuentra entre 6 y 15 cm de largo. Lo anterior sugiere que este carácter aun no es estable aun después del

mejoramiento mediante polinización cruzada, en la población de híbridos de anturio evaluadas.

La longitud del espádice y el ancho de la parte media son variables con alta y baja variabilidad, CV= 48.1 % y 24.65 % respectivamente (Cuadro 5) dentro de la población de híbridos evaluados. El espádice que es la parte donde se encuentran las flores bisexuales de *A. andreaum* (Dole y Wilkins, 2005) son importantes ya que en armonía con la espata ofrecen el atractivo a los consumidores.

Los pigmentos evaluados en la población de híbridos, presentaron amplia variabilidad, entre 89.52 y 98.92 % (Cuadro 5). Las clorofilas se cuantificaron entre 1.29 y 27 mg g⁻¹ de peso fresco, en tanto que los carotenoides se cuantificaron entre 0.15 y 4.19 mg g⁻¹ de peso fresco y finalmente las antocianinas totales se midieron entre 2.82 y 2.91 mg L⁻¹ (Cuadro 5). Los híbridos con menos clorofilas, carotenoides y antocianinas fueron de color blanco, blanco y vino de la espata, mientras los que mayor concentración tuvieron fueron verde, vino y anaranjado, respectivamente (Cuadro 1 y 5).

En los parámetros de color se determinó, alta variabilidad en el matiz o ángulo de tono, que es el que define los colores de los materiales, CV= 132 %, lo que se asocia con la gran variabilidad en la presencia de pigmentos en las espatas. En los análisis subsecuentes se pueden observar la importancia de evaluar estos parámetros en la caracterización de materiales genéticos.

Cuadro 5. Variables morfológicas y químicas de 70 híbridos de anturio (*Anthurium andreanum* L.)

Variable	Media	R	Mínimo	Máximo	C.V.
Altura de planta (cm)	51.81	55.50	32.17 (H45)	76.50 (H10)	18.90
Largo de hoja (cm)	28.75	33.00	13.47 (H56)	44.27 (H46)	18.00
Ancho de hoja (cm)	14.60	22.20	6.70 (H44)	28.90 (H56)	22.00
Longitud Pecíolo (cm)	22.47	29.80	14.47 (H64)	33.21 (H70)	21.80
Longitud Pedúnculo (cm)	34.60	2.40	21.30 (H10)	21.30 (H57)	19.80
Grosor pedúnculo (mm)	5.06	7.52	3.18 (H56)	7.83 (H70)	22.70
Largo espata (cm)	16.32	29.00	9.57 (H56)	29.97 (H55)	27.65
Distancia entre espádice y sinus (mm)	3.10	28.00	0.51 (H30)	20.47 (H15)	129.00
Longitud espádice (cm)	8.20	11.68	3.6 (H44)	23.25 (H33)	48.10
Ancho parte media espádice (mm)	10.86	16.38	6.78 (H28)	18.01 (H35)	24.65
Clorofilas totales (mg g ⁻¹)	5.12	27.99	1.29 (H49)	27.13 (H52)	98.92
Carotenoides totales (mg g ⁻¹)	1.24	5.58	0.15 (H45)	4.19 (H12)	90.00
Antocianinas totales (mg L ⁻¹)	1.24	296.42	2.82 (H16)	291.56 (H41)	89.52
Luminosidad (L*)	42.84	65.40	16.36	81.76	35.63
Cromaticidad (C*)	24.61	54.08	3.73	57.81	52.36
Matiz (h)	71.22	337.7	22.1	359.8	132.30

Análisis de agrupación

El dendograma obtenido del análisis clúster realizado se dividió en cuatro grupos de acuerdo a la prueba de partición con el pseudoestadístico t^2 de _Hotteling, el dendograma se dividió en un valor R^2 semiparcial de ~ 0.055 . El grupo I (10 % del total), conformado por 1 híbrido rojo, 5 blancos y 1 rosa; grupo II (60 %), conformado por 3 híbridos rojos, 4 rosas, 6 anaranjados, 9 morados , 8 tricolor, 1 dorado, 5 lilas, 3 verdes, 2 blancos y 1 amarillo; grupo III (12.85%) con 7 híbridos color vino y 2 verdes y el grupo IV (17.85%) está conformado por 6 Rojo 4 Rojo 1 anaranjado y 1 Morado (Figura 1).

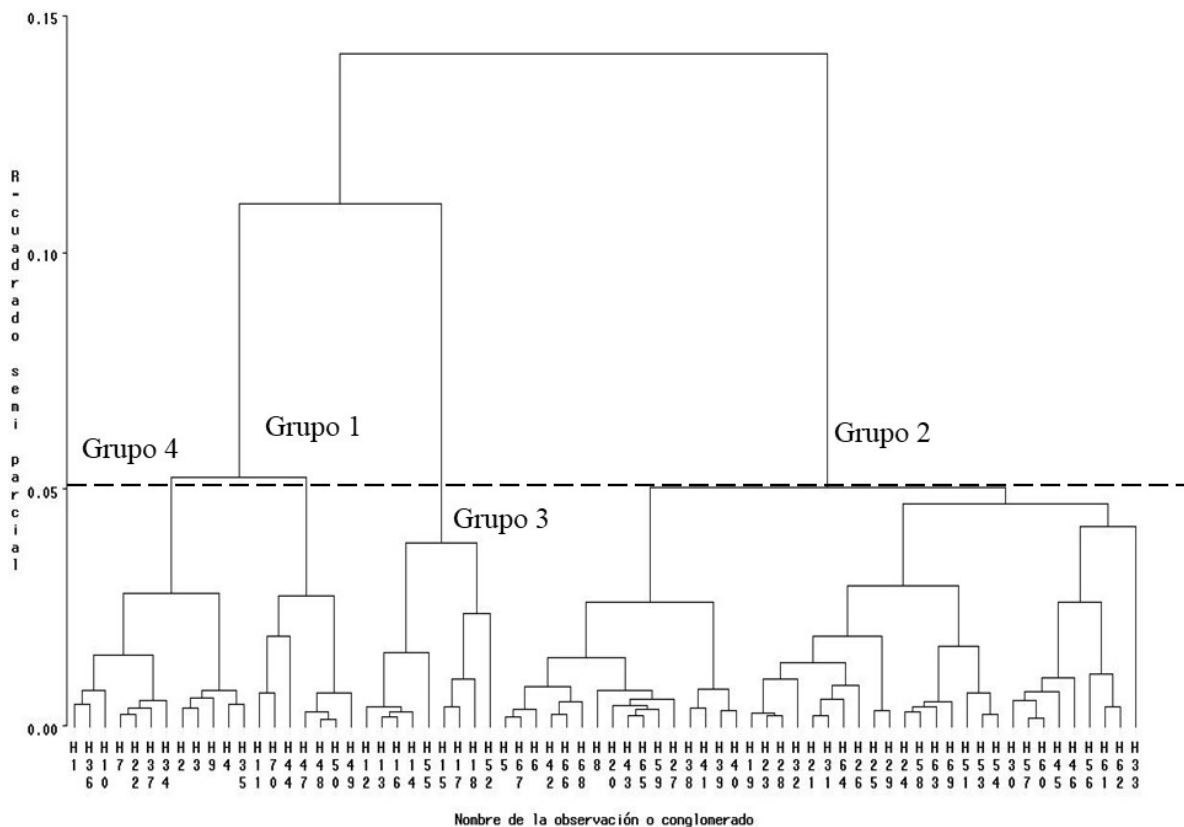


Figura 1. Dendograma de 70 híbridos de híbridos de anturio (*Anthurium andreaum*) construido por el método de Ward a partir de 16 variables

La varianza total quedo explicada en los tres primeros componentes canónicos (Cuadro 6). La primera componente canónica (CAN 1) explicó el 67.55 %, la segunda (CAN 2) el 21.15 % y la tercera (CAN 3) el 11.3 %.

Cuadro 6. Valores propios y proporción de la varianza total explicada por los componentes principales, con base a la matriz de correlación aplicado.

Componente	Autovalor	Proporción de la varianza	Varianza		P
			Acumulada	F. Aproximado	
CAN 1	7.4771	0.6755	0.6755	9.67	<.0001
CAN 2	2.3406	0.2115	0.887	6.04	<.0001
CAN 3	1.2512	0.113	1	4.74	<.0001

La CAN 1 se relacionó con la concentración de clorofilas y carotenoides totales (Cuadro 7). La CAN 2 fue definida por la altura de planta y las dimensiones del peciolo y del pedúnculo (Cuadro 7). Finalmente la CAN 3 fue afectada negativamente por las antocianinas y luminosidad por el largo del espádice (Cuadro 7).

Cuadro 7. Vectores propios de 16 variables en las tres primeras raíces canónicas (CAN) de 70 híbridos de anturio (*Anthurium andreanum* L.).

Variable	can1	can2	can3
Altura planta	-0.050718	0.726797	-0.354550
Largo hoja	0.176150	0.443223	0.051033
Ancho hoja	0.215793	0.444725	0.273996
Long. Peciolo	0.115801	0.559483	-0.182098
Long pedúnculo	0.205284	0.755500	-0.112417
Grosor pedúnculo	0.039626	0.334010	0.056814
Largo espata	0.106833	0.442996	0.233967
Dist. entre espádice y sinus	0.537349	-0.015289	0.135933
Longitud espádice	-0.045241	0.201476	-0.045111
Ancho parte media espádice	0.103677	0.315429	-0.314544
Clorofilas totales	0.837936	0.048102	0.026204
Carotenoides Totales	0.941827	0.048102	-0.144330
Antocianinas	0.091922	0.461921	-0.604754
L	-0.585370	0.049075	0.663032
C	0.387776	-0.072006	-0.392563
H	-0.217900	-0.297416	0.109988

Los grupos fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) con base a la prueba de Mahalanobis, esto indica que cada híbrido fue ubicado correctamente en el grupo que fue asignado con gran poder de confianza.

Cuadro 8. Distancia de Mahalanobis entre los grupos obtenidos del análisis clúster de híbridos de anturio.

Clúster	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
1	0.0000			
2	20.30***	0.0000		
3	86.02***	63.90***	0.0000	
4	20.64***	14.53***	60.48***	0.0000

$P < .0001$ ***

En el MANOVA se encontraron diferencias en las tres raíces canónicas (Cuadro 7), en la CAN 1 se encontraron diferencias entre los cuatro grupos, mientras que en la CAN 2 no se encontraron diferencias entre los grupos 1 y 4, ni entre el 2 y 3, pero sí las hubo entre 1 y 4 vs 2 y 3, para la CAN 3 no se encontraron diferencias entre los grupos 2 y 3, pero sí entre 1 vs 2,3 y 4.

Cuadro 9 . Prueba HSD de Tukey de las tres primeras raíces canónicas (CAN) de los cuatro grupos de anturio (*Anthurium Andreanum* L.) obtenidos en el análisis clúster.

Grupo	can 1	can2	can3
1	-1.7629	2.5986	2.5471
2	-1.1001	-1.0448	-0.0208
3	6.8328	-0.1552	0.04129
4	-0.2459	2.2573	-1.7228
HSD	1.46	1.46	1.46

^zLetras diferentes en la misma columna significa diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los grupos.

El grupo I presentó valores mayores para las variables de largo de hoja, grosor de pedúnculo, largo de espata y longitud de espádice, el grupo II presentó los valores más bajos para 10 variables, mientras que el grupo III presentó valores mayores para las variables distancia entre espádice y sinus, clorofilas totales y carotenoides totales, el grupo IV presentó los valores más altos para longitud de peciolo y pedúnculo, ancho de la parte media del espádice y concentración de antocianinas (Cuadro 8). Los resultados sugieren que se tiene variabilidad en los híbridos evaluados que pueden seleccionarse para propagación vegetativa y ser considerados para registro. Los pigmentos que más apoyan dicha caracterización química son los carotenoides, clorofilas totales y antocianinas totales.

Cuadro 10. Promedios de 16 variables de los grupos formados en el análisis clúster de 70 híbridos de anturio (*Anthurium andreanum* L.).

Variable	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
Altura de planta	56.26	48.04	49.13	63.47
Largo de hoja	31.77	27.09	30.67	31.16
Ancho de hoja	17.45	13.61	16.21	15.09
Longitud peciolo	24.39	20.81	23.28	25.96
Longitud pedúnculo	39.53	31.29	37.11	40.96
Grosor pedúnculo	5.63	4.84	5.14	5.22
Largo espata	20.46	15.05	17.52	17.17
Distancia espádice y sinus	2.73	2.44	7.84	2.43
Longitud espádice	8.81	7.95	7.85	8.74
Ancho parte media espádice	10.53	10.37	11.17	12.14
Clorofilas totales	2.37	3.74	14.96	4.19
Carotenoides totales	0.46	0.84	3.51	1.34
Antocianinas	54.02	64.82	88.83	200.03
L	66.35	45.63	24.71	32.34
C	17.88	27.05	11.85	28.76
H	63.26	90.39	36.39	43.27

5.2 Caracterización molecular

Se realizó la electroforesis en gel, posterior a la extracción de ADN y amplificación de microsatélites

Microsatélite 1

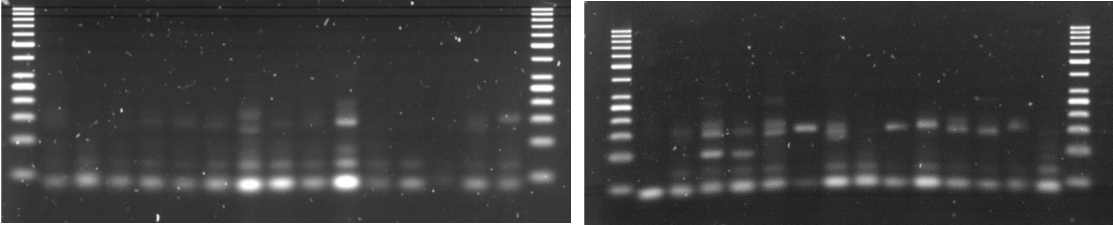


Figura 2. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 1

Microsatélite 2

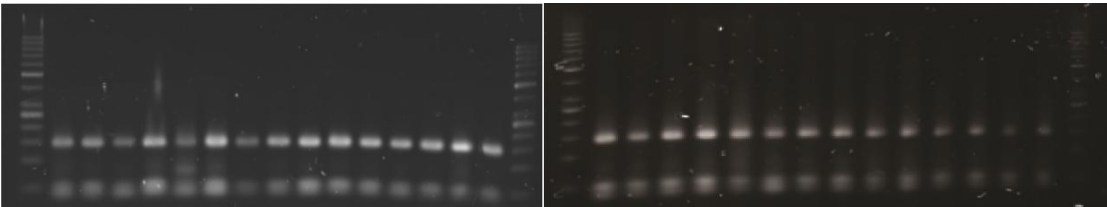


Figura 3. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 2

Microsatélite 3

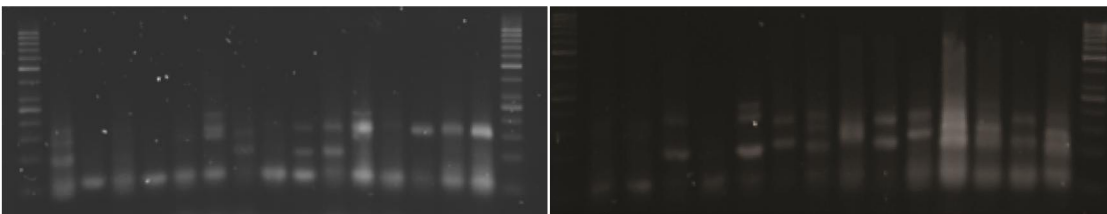


Figura 4. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 3

Microsatélite 4

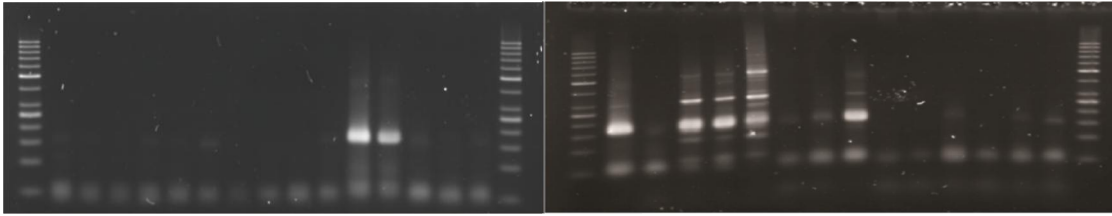


Figura 5. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 4

Microsatélite 5

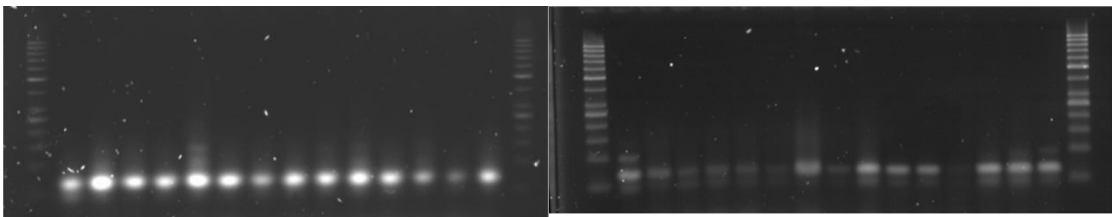


Figura 6. Gel de electroforesis con agarosa 2.5%, microsatélite 5

Se observaron diferencias entre los híbridos

Dendogramas

Se elaboraron los dendogramas con el método neighbor joining con el software PyEph® (Pavel et. al, 2012)

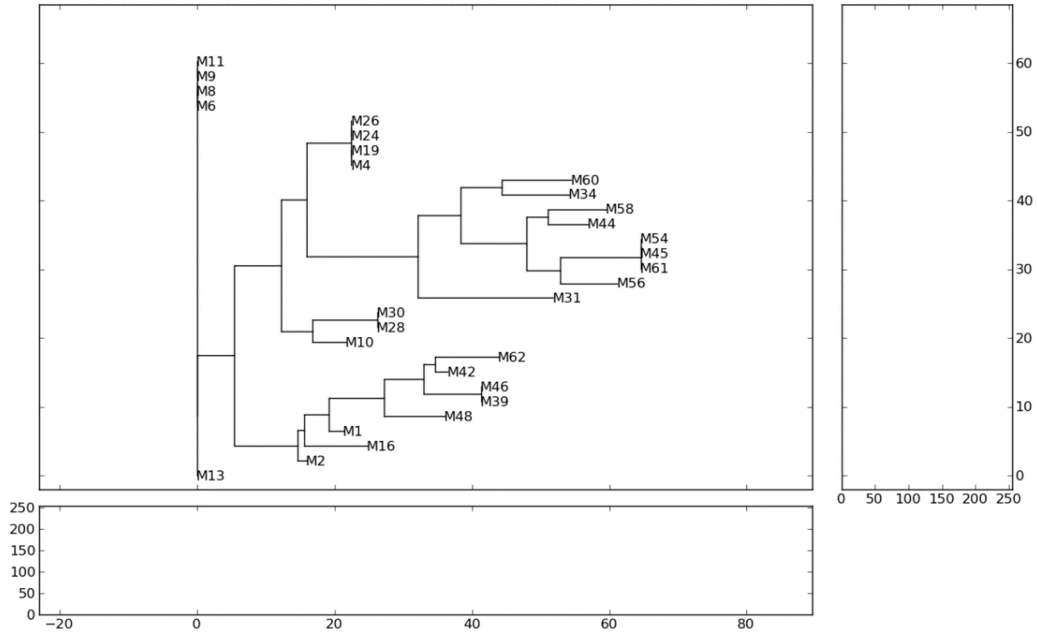


Figura 7. Dendrograma del microsatélite 1 “**Am2**” (AY232494) elaborado con el método neighbor joining con el software PyEIp®

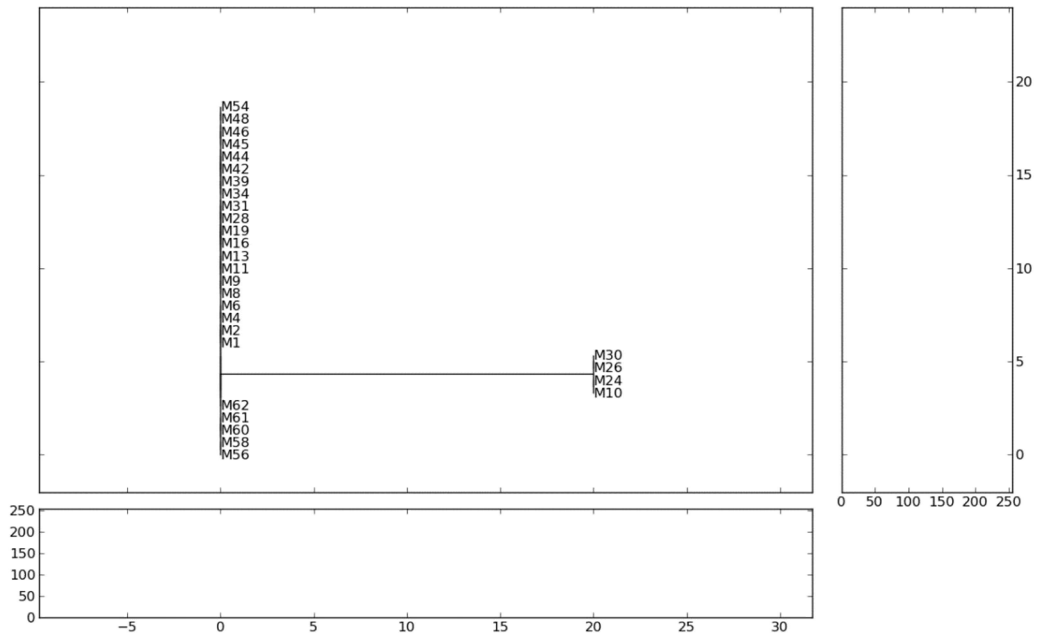


Figura (8). Dendrograma del microsatélite 2 “**Am3**” (AY236866) elaborado con el método neighbor joining con el software PyEIp®

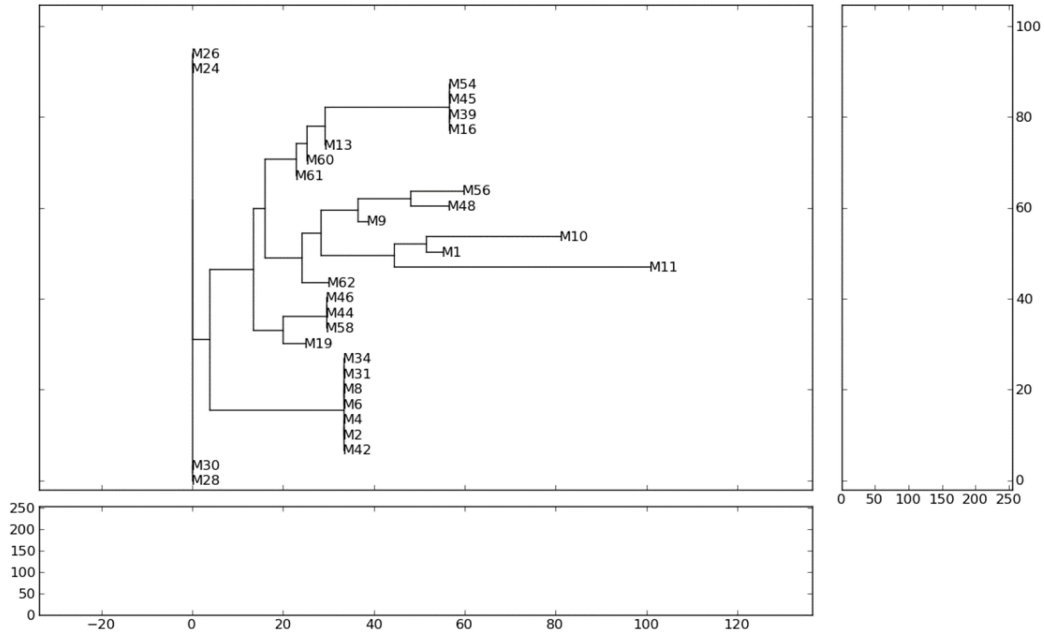


Figura (9). Dendrograma del microsatélite 3 “Am7” (AY232494) elaborado con el método neighbor joining con el software PyElph®

Microsatélite 4

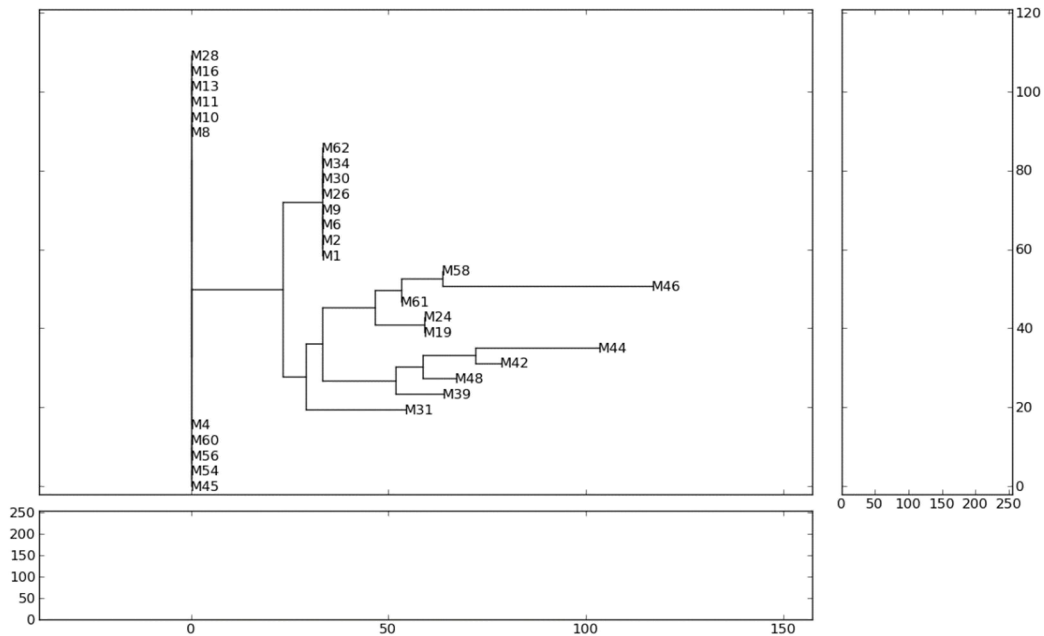


Figura (10). Dendrograma del microsatélite 4 “Am8” (EF079870) elaborado con el método neighbor joining con el software PyElph®

Microsatélite 5

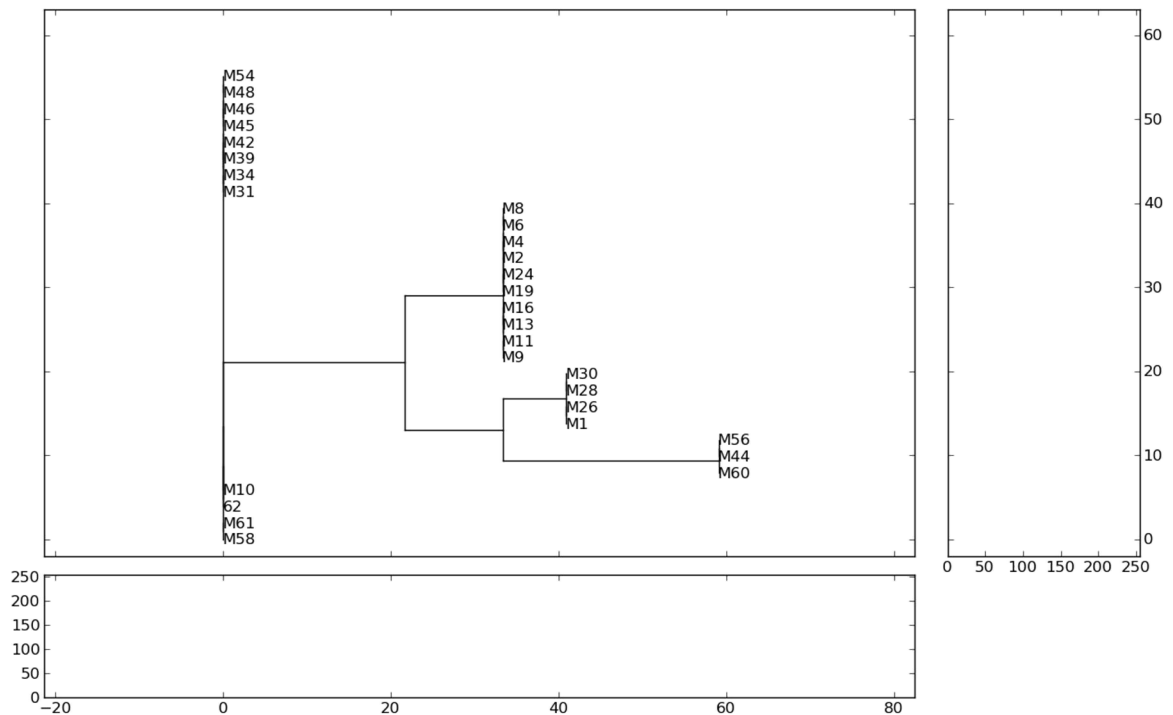


Figura (11). Dendrograma del microsatélite 5 “**Cm16**” (AM183320) elaborado con el método neighbor joining con el software PyEIp®

El loci de 3 de los 5 microsatélites utilizados son regiones de genes que codifican para enzimas de la ruta biosintética de antocianinas; Es decir, genes responsables de la coloración de espata y espádice en Anturio. Los cambios genéticos, que se evidencian como distintos tamaños de banda en las diferentes muestras analizadas (Figura 2 a 6) podrían estar directamente relacionados con cambios en la coloración de estos tejidos. Estos cambios genéticos podrían generar una expresión diferencial del gen en los diferentes genotipos o dar lugar a una proteína

trunca. Sin embargo, esto solo se confirmaría por secuenciación de las bandas diferenciales.

Para la agrupación de los microsatélites analizados, se observa que para el microsatélite 1 (Figura 7), se formaron cuatro grupos, en el microsatélite 2 (Figura 8) se formaron dos grupos, lo cual indica que la variabilidad fue muy poca, en el microsatélite 3 (Figura 9) se formaron tres grupos, para el microsatélite 4 (Figura 10) se formaron tres grupos, el microsatélite 5 se formaron tres grupos.

6. Conclusiones

Las variables morfológicas y químicas que fueron más importantes en la agrupación fueron clorofilas, carotenoides principalmente, dichos factores pueden tener influencia de las condiciones climáticas, riego, nutrición, además de la etapa fenológica, sin embargo, el análisis de agrupación nos otorga información para futuros trabajos y lograr una agrupación más enfocada a ciertas características, que podrían evaluarse también con plantas que se encuentren en la misma etapa, y bajo las mismas condiciones.

Los marcadores moleculares están dirigidos en su mayoría a loci de genes responsables de la coloración de espata y espádice en Anturio, específicamente a genes de la ruta biosintética de antocianinas (CHS y DFR), mientras que la agrupación de las variantes fue hecha con la mezcla de datos bioquímicos y taxonómicos los cuales incluyen perfil de antocianinas, carotenoides y clorofilas así como caracteres agronómicos, por lo cual no coinciden sin embargo complementan la información para futuros trabajos.

7. Literatura citada

Azofeifa-Delgado, Á. 2006 Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17(2): 221-241

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

Bonilla, M. M.L., Espinosa P. K., Posso T.A. M., Vásques A. H.D., Muñoz F.J.E. 2008. Establecimiento de una colección de trabajo de uchuva del suroccidente colombiano. *Acta Agronómica* 57 (2):95-99.

Dole, J.M., H. F. Wilkins. 2005. Floriculture. Principles and Species. Pearson-Prentice Hall. New Jersey, Estados Unidos. 1023 p.

Gallaga, L. S. 2000. Producción de anturios. CECAF-Orizaba. Orizaba, Veracruz. 80 p.

Henny, R. J. 1999. 'Red Hot' Anthurium. *HortScience* 34(1): 153-154.

Henny, R. J., D J. Norman, J. Chen. 2003. 'Orange Hot' Anthurium. *HortScience* 38(1): 133-134.

Kamemoto, H., A. R. Kuehnle. 1996. Breeding Anthuriums in Hawaii. University of Hawaii Press. Honolulu, Hawaii. 132 p.

Kuehnle A.R., Chen F-C, Sugh N. C. 2001 Transgenic *Anthurium*. *Biotechnology in Agriculture and Forestry In: Bajaj, Y.P.S. (ed.). Springer-Verlag Berlin pp: 3-15.*

Lee, J., Durst, R.W., Wrolstad, R.E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and

wines by the pH differential method: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 88: 1269–1278.

López, J. D. S. 2014. Soluciones hidropónicas y fertilizantes organominerales, como alternativas de nutrición en anturios. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Tesis de Licenciatura. 73 p.

Machado, R. 2011. Colecta de *Jatropha curcas* y su comportamiento en fase de vivero y de establecimiento. *Pastos y Forrajes* 34:145-154.

Neguerula, I. A. 2012 Is the color measured in food the color that we see in food. Technological and psychophysical aspects. Caivano, J.L.M. del P. Buera. (eds) CRC Taylor and Francis Group. Boca Raton, Florida USA pp: 81- 91.

Phillips, W.; Rodríguez, H.; Fritz, P. 1995. Marcadores de ADN: Teoría, aplicaciones y protocolos de trabajo con ejemplos de investigaciones en cacao (*Theobroma cacao*). Serie técnica. Informe técnico Núm. 252. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 183 p.

Powell, W. 1992. Plant genomes, gene markers, and linkage maps. In: Moss, J. P. ed. Biotechnology and crop improvement in Asia. Patancheru, India. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. p. 297-322.

Rallo, P., Belaj, A., De La Rosa, R., Trujillo, I. 2002. Marcadores moleculares. Córdoba, España. Consultado 1 ago. 2002.
http://www.extremadura21.com/caudal/hemeroteca/mayo-junio_2000/almazara/almazara1.htm

Rodés G., Collazo O. M. 2006. Manual de Prácticas de Fotosíntesis 1era ed. Universidad Autónoma de México. México, Distrito Federal. 160 p.

SAGARPA, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2006. Inauguran en Veracruz parque de floricultura tropical; buscan productores ingresar a mercados internacionales. SAGARPA, México, D.F. Boletín 246 (06)

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

Castillo, M. L. E. 2011. Introducción al SAS® para Windows. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 295 p.

Ward J. H. Jr. 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. Journal of American Statistical Association 58: 236-244.

Hotelling, H. 1951. A generalized t test and measure of multivariate dispersion. pp. 23-41. *In*: Proceedings of the 2nd Berkeley Symposium of Mathematical Statistics and Probability, University of California Press, Berkeley, California, USA.

Johnson, D. E. 1998. Métodos Multivariados Aplicados al Análisis de Datos. International Thomson Editores, Ciudad de México, México. 566 p.

Núñez C, C.A., Escobedo L. D. 2014. Caracterización de germoplasma vegetal: la piedra angular en el estudio de los recursos fitogenéticos. Acta Agrícola y Pecuaria 1: 1-6.

Pavel A, Vasile C. PyElph – a software tool for gel images analysis and phylogenetics. BMC Bioinform. 2012;13(9). doi:[10.1186/1471-2105-13-9](https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-9).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 5 de Noviembre de 2019.

MTRO. JESUS EDUARDO LICEA RESENDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, QUÍMICA Y MOLECULAR DE HÍBRIDOS DE ANTURIO (*Anthurium andreanum* L.)** que presenta: **LUIS MIGUEL CONDE DELGADO**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. IRÁN ALIA TEJACAL**, con el **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. NELSON AVONCE VERGARA
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.
Tel. (777) 329 70 46, 329 70 00, Ext. 3211 / fagropecuarias@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 5 de Noviembre de 2019.

**MTRO. JESUS EDUARDO LICEA RESENDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL
P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, QUÍMICA Y MOLECULAR DE HÍBRIDOS DE ANTURIO (*Anthurium andreanum* L.)** que presenta: **LUIS MIGUEL CONDE DELGADO**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. IRÁN ALIA TEJACAL**, con el **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Gloria Alicia Pérez Arias

DRA. GLORIA ALICIA PEREZ ARIAS
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.
Tel. (777) 329 70 46, 329 70 00, Ext. 3211 / fagropecuarias@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 5 de Noviembre de 2019.

MTRO. JESUS EDUARDO LICEA RESENDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, QUÍMICA Y MOLECULAR DE HÍBRIDOS DE ANTURIO (*Anthurium andreanum* L.)** que presenta: **LUIS MIGUEL CONDE DELGADO**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. IRÁN ALIA TEJACAL**, con el **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

DR. VICTOR LÓPEZ MARTÍNEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.
Tel. (777) 329 70 46, 329 70 00, Ext. 3211 / fagropecuarias@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Jefatura de programas educativos de posgrado



FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS

"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 5 de Noviembre de 2019.

**MTRO. JESUS EDUARDO LICEA RESENDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL
P R E S E N T E.**

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, QUÍMICA Y MOLECULAR DE HÍBRIDOS DE ANTURIO (*Anthurium andreanum* L.)** que presenta: **LUIS MIGUEL CONDE DELGADO**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. IRÁN ALIA TEJACAL**, con el **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
*Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia*

**DR. IRAN ALIA TEJACAL
Comité Evaluador**

C.i.p. Archivo



"2019, a 100 años del asesinato del General Emiliano Zapata Salazar"

Cuernavaca, Mor., a 5 de Noviembre de 2019.

MTRO. JESUS EDUARDO LICEA RESENDIZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y DESARROLLO RURAL
P R E S E N T E.

Por medio del presente informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis titulado **CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA, QUÍMICA Y MOLECULAR DE HÍBRIDOS DE ANTURIO (*Anthurium andreanum* L.)** que presenta: **LUIS MIGUEL CONDE DELGADO**, mismo que fue desarrollado bajo la Co-dirección del **DR. IRÁN ALIA TEJACAL**, con el **DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ**, y que servirá como requisito parcial para obtener el grado de **Maestro en Ciencias Agropecuarias y Desarrollo Rural**, lo encuentro satisfactorio, por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento y agradeciendo de antemano su valiosa colaboración, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



DR. DAGOBERTO GUILLÉN SÁNCHEZ
Comité Evaluador

C.i.p. Archivo

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209.
Tel. (777) 329 70 46, 329 70 00, Ext. 3211 / fagropecuarias@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORIA
2017-2023