

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSGRADO Y EDUCACIÓN CONTINUA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA MOLECULAR



Evaluación de la diversidad genética en poblaciones de anona (*Annona macrophyllata* Donn.Sm.) procedentes de cuatro departamentos de El Salvador, usando marcadores SCoT

Por:

Huilhuinic Angel Orantes Ramos

Requisito para optar al título de:

Maestro en Ciencias en Biología Molecular

San Salvador, octubre del 2025

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSGRADO Y EDUCACIÓN CONTINUA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA MOLECULAR



Evaluación de la diversidad genética en poblaciones de anona (*Annona macrophyllata* Donn.Sm.) procedentes de cuatro departamentos de El Salvador, usando marcadores SCoT

Por:
Huilhuinic Angel Orantes Ramos

Requisito para optar al título de:
Maestro en Ciencias en Biología Molecular

Asesor: M.Sc. Julio Cesar Ortiz Pavón

San Salvador, octubre del 2025

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Rector de la Universidad:

M.Sc. Juan Rosa Quintanilla Quintanilla

Secretario General de la Universidad:

Lic. Pedro Rosalío Escobar Castaneda

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

Decano de La Facultad:

Ing. MAECE Nelson Bernabé Granados Alvarado

Secretario de la Facultad:

Ing. M.Sc. Edgar Geovany Reyes Melara

Director de la Escuela de Posgrado y Educación Continua:

Dr. Abel Alexei Argueta Platero

COMITÉ ACADÉMICO DE LA ESCUELA DE POSGRADO Y
EDUCACIÓN CONTINUA

M.Sc. Modesto Antonio Juárez

Dra. Marcia Lizeth Barrera de
Calderón

Dra. Yockling Elizabeth Lima

Dr. Joaquín Castro Montoya

Resumen

La anona (*Annona macrophyllata*) es la especie de la familia anonaceae más relevante a nivel comercial en El Salvador debido a sus frutos dulces comestibles; sin embargo, no se cuentan con registros previos de estudios de diversidad genética con marcadores moleculares en estas poblaciones. Los marcadores SCoT (Start Codon Targeted Polymorphism) constituyen un importante grupo de marcadores PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) dominantes para revelar entre otros indicadores, polimorfismos en diferentes especies de plantas. En el presente estudio se analizó la diversidad genética de 40 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de cuatro departamentos de El Salvador, con 7 cebadores SCoT. El ADN de los individuos fue extraído con un kit comercial Analytik Jena®. Se desarrolló un protocolo de extracción y evaluación de la cantidad e integridad de ADN de esta especie. Los resultados de amplificación se trasladaron a una matriz básica de datos binaria, a partir de la cual se realizó un análisis de agrupamiento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), y se utilizó el coeficiente de similaridad de Jaccard, acompañado de un análisis de coordenadas principales (PCoA). Por cada cebador, se calcularon parámetros de informatividad y diversidad genética. Se calculó el porcentaje de polimorfismo (%P), contenido de información polimórfica (PIC), el índice del marcador (IM), el Poder de Resolución (Rp), la Heterocigocidad esperada (He) y el Número de alelos efectivos (Ne). Además, por cada sitio de colecta (población), se calculó el %P, He y Ne. Los productos de amplificación se encontraron en un intervalo entre 400-3000 pb. El %P fue del 100% con todos los cebadores utilizados. El promedio de PIC fue de 0.43, considerado altamente informativo. El promedio de He por cebador fue de 0.41 y de Ne fue de 1.72. Los análisis UPGMA y PCoA distribuyeron los individuos conforme su ubicación geográfica, en cuatro grandes grupos. Este es el primer estudio de diversidad genética con marcadores moleculares de *A. macrophyllata* en poblaciones de El Salvador.

Abstract

The custard apple (*Annona macrophyllata*) is the most commercially relevant species of the Anonaceae family in El Salvador due to its sweet, edible fruits. However, there are no previous records of genetic diversity studies using molecular markers in these populations. SCoT (Start Codon Targeted Polymorphism) markers constitute an important group of dominant PCR (Polymerase Chain Reaction) markers for revealing, among other indicators, polymorphisms in different plant species. In the present study, the genetic diversity of 40 individuals of *A. macrophyllata* from four departments of El Salvador was analyzed using 7 SCoT primers. DNA from the individuals was extracted using a commercial Analytik Jena® kit. A protocol was developed for the extraction and evaluation of the quantity and integrity of DNA in this species. The amplification results were converted to a basic binary data matrix, from which a UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) clustering analysis was performed, using the Jaccard similarity coefficient, accompanied by principal coordinate analysis (PCoA). Informativeness and genetic diversity parameters were calculated for each primer. The percentage of polymorphism (%P), polymorphic information content (PIC), marker index (MI), resolving power (Rp), expected heterozygosity (He), and number of effective alleles (Ne) were also calculated. In addition, the %P, He, and Ne were calculated for each collection site (population). Amplification products ranged from 400 to 3000 bp. The %P was 100% for all primers used. The average PIC was 0.43, considered highly informative. The average He per primer was 0.41 and the Ne was 1.72. UPGMA and PCoA analyses distributed individuals according to their geographic location into four large groups. This is the first study of genetic diversity using molecular markers for *A. macrophyllata* in populations in El Salvador.

1. Agradecimientos

A Dios por darme todas las competencias necesarias para superar las dificultades presentadas durante el desarrollo del trabajo de investigación, y por colocar a las personas indicadas para apoyarme en cada etapa.

A mi asesor de tesis, por su incontable apoyo al desarrollo del trabajo de investigación desde aspectos técnicos-administrativos, hasta permisos, revisión y apoyo académico del trabajo. Entre más profesionales dedicados como él estén en la universidad, sin duda será un lugar mejor para el desarrollo académico.

A mi esposa, por su apoyo durante la etapa de colecta del material vegetal, y apoyo en la compra de descartables a utilizar durante la etapa de laboratorio, así como también proporcionar equipo informático muy útil durante los análisis de datos.

A mis padres y hermano, por su apoyo tanto técnico como académico para el desarrollo del trabajo de investigación en todas sus etapas de forma general. Agradezco por transmitirme sus experiencias, viajes y ánimos.

Al director de la escuela de posgrados y la encargada de Servicio Social, por sus valiosas observaciones para el correcto desarrollo del proyecto, así como su apoyo en la realización del servicio social. Los ágiles trámites facilitados por su dedicada labor fueron indispensables para todo el proceso de posgrado.

2. Dedicatoria

A todos aquellos que tienen frustraciones, retos y dificultades que les dificultan lograr sus metas. No importan las adversidades, todos los problemas pueden superarse con perseverancia, solo deben estudiar a modo de entrenamiento, tener fe en Dios, confiar en sus verdaderos amigos y familia.

3. Tabla de contenidos

Resumen	ii
Abstract	iii
1. Agradecimientos	iv
2. Dedicatoria	iv
3. Tabla de contenidos	v
4. Lista de figuras, tablas y anexos	vi
4.1. Figuras	vi
4.2. Tablas	vii
4.3. Anexos	viii
5. Lista de abreviaturas	xi
6. Introducción	1
7. Objetivos	2
7.1. General:	2
7.2. Específicos:	2
8. Estado del arte	3
8.1. Clasificación taxonómica de la anona	3
8.2. Descripción de la especie.....	3
8.3. Importancia de <i>A. macrophyllata</i>	6
8.4. Producción y comercialización de <i>A. macrophyllata</i>	7
8.5. Distribución geográfica de <i>A. macrophyllata</i> en El Salvador.....	8
8.6. Diversidad de <i>A. macrophyllata</i>	10
8.7. Extracción de ADN.....	11
8.8. Marcaje molecular	12
8.9. Diversidad genética con marcadores moleculares	15
9. Materiales y métodos	18
9.1. Material vegetal y recolecta.....	18
9.2. Extracción de ADN.....	19
9.3. Estandarización del protocolo de amplificación por PCR.....	20
9.4. Amplificación por PCR	21
9.4. Análisis de datos.....	23
10. Resultados	24

10.1. Informatividad de marcadores	24
10.2. Diversidad genética entre individuos y poblaciones	26
11. Discusión	29
12. Conclusiones	33
13. Referencias.....	34
14. Anexos	40

4. Lista de figuras, tablas y anexos

4.1. Figuras

Figura 1. Anona cultivada en el departamento de La Paz

Figura 2. Hojas de Anona cultivada en el departamento de La Libertad

Figura 3. Flor de Anona cultivada en el departamento de La Paz

Figura 4. Flor de Anona cultivada en el departamento de La Libertad

Figura 5. Fruto de Anona cultivada en el departamento de La Paz

Figura 6. Fruto de Anona cultivada en el departamento de La Libertad

Figura 7. Semillas de anona cultivada en el departamento de La Libertad

Figura 8. Semilla de anona cultivada en el departamento de La Libertad

Figura 9. Diagrama que muestra el fundamento de la técnica SCoT. Retomado de Collard y Mackill (2008)

Figura 10. Sitios de colecta de *A. macrophyllata* en cuatro departamentos de El Salvador

Figura 11. Kit de extracción de ADN

Figura 12. Muestras vegetales homogeneizadas para extracción de ADN

Figura 13. Electroforesis de ADN posterior a extracción de ADN

Figura 14. Medida de concentración de ADN

Figura 15. Preparación de mix de PCR-SCoT

Figura 16. Carga de muestras de ADN en termociclador

Figura 17. Escalera de masa relativa marca comercial minipcrbio®

Figura 18. Electroforesis de muestras amplificadas por PCR-SCoT

Figura 19. Colocación de muestras amplificadas y corridas en fotodocumentador con luz UV

Figura 20. Agrupamiento UPGMA de 40 individuos de *A. macroprophyllata* procedentes de cuatro departamentos de El Salvador

Figura 21. Principales clústeres del agrupamiento UPGMA de 40 individuos de *A. macroprophyllata* procedentes de cuatro departamentos de El Salvador. Las líneas punteadas muestran la similitud de los principales grupos distribuidos por ubicación geográfica

Figura 22. PCoA de 40 individuos de *A. macroprophyllata* procedentes de 4 departamentos de El Salvador. Los círculos representan los principales grupos distribuidos por ubicación geográfica

4.2. Tablas

Tabla 1. Zonas productoras de Anona en El Salvador

Tabla 2. Variedades reconocidas de *A. macroprophyllata* (Irigoyen 2004)

Tabla 3. Sitios de colecta de *A. macroprophyllata* con su registro climático

Tabla 4. Condiciones PCR optimizado SCoT-mix minipcr

Tabla 5. Secuencias de cebadores SCoT a utilizadas durante las PCR (Collard y Mackill 2008)

Tabla 6. Programa de PCR-SCoT optimizado

Tabla 7. Polimorfismo y contribución de 7 cebadores SCoT en 40 individuos de *A. macroprophyllata* de El Salvador

Tabla 8. Análisis general de 7 cebadores SCoT en 40 individuos de *A. macroprophyllata* procedentes de diferentes poblaciones de El Salvador

Tabla 9. Parámetros de diversidad genética en poblaciones de *A. macroprophyllata* de El Salvador

4.3. Anexos

Anexo 1. Transporte de muestra procedente de La Paz

Anexo 2. Transporte de muestra procedente de Ahuachapán

Anexo 3. Sitio de almacenamiento de muestras biológicas

Anexo 4. Muestras de ADN almacenadas a -20°C

Anexo 5. Parámetros de concentración y calidad de muestras de ADN de *A. macrophyllata* procedentes de diferentes poblaciones de El Salvador

Anexo 6. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 3 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 7. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 3 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 8. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 7 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 9. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 7 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 10. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 11 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 11. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 11 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 12. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 12 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 13. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 12 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 14. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 13 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 15. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 13 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 16. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 14 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 17. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 14 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 18. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 15 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 19. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 15 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control

Anexo 20. Matriz binaria obtenida partir de amplificaciones PCR-SCoT de 10 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de Ahuachapán

Anexo 21. Matriz binaria obtenida partir de amplificaciones PCR-SCoT de 10 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de La Paz

Anexo 22. Matriz binaria obtenida partir de amplificaciones PCR-SCoT de 10 individuos de *A. macroprophyllata* procedentes de La Libertad

Anexo 23. Matriz binaria obtenida partir de amplificaciones PCR-SCoT de 10 individuos de *A. macroprophyllata* procedentes de Usulután

Anexo 24. Anexo 24. Matriz binaria general junto a parámetros calculados

Anexo 25. Matriz de distancia-similaridad de Jaccard obtenida a partir de amplificaciones PCR-SCoT de 40 individuos de *A. macroprophyllata* procedentes de cuatro departamentos de El Salvador

5. Lista de abreviaturas

%P	Porcentaje de polimorfismo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
CENTA	Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal
CIEX	Centro de Trámites de Importaciones y Exportaciones de El Salvador
CTAB	Bromuro de cetiltrimetilamonio
GBIF	Global Biodiversity Information Facility
He	Heterocigocidad Esperada
IM	Índice del Marcador
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
MARN	Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Ne	Número de alelos efectivos
PCoA	Análisis de coordenadas principales
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PIC	Contenido de Información Polimórfica
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
Rp	Poder de Resolución
SCoT	Start Codon Targeted Polymorphism
SSR	Repetición de Secuencias Simples
TAE	Tris-Acetato-EDTA
UES	Universidad de El Salvador
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

6. Introducción

La *Annona macrophyllata* (*A. macrophyllata*) una especie de la familia anonaceae altamente comercializada en El Salvador debido a sus frutos dulces comestibles a partir de los cuales se elaboran productos alimentarios. Los cultivos de anona, se distribuyen en todos los departamentos de El Salvador en pequeños territorios dispersos en fincas, patios, carreteras y áreas naturales. Existen algunas franjas de producción anonera presentes en diferentes departamentos, las cuales se denominan “zonas anoneras”. Entre los departamentos de producción alojados dentro de estos territorios, está Ahuachapán, Usulután, La Paz y La Libertad (Cruz 2003). La mayoría de cultivos de anona no cuentan con un manejo técnico y no se han reconocido variedades de anona en poblaciones salvadoreñas, a pesar que existen algunas diferencias morfológicas y sensoriales reconocibles (Irigoyen 2004).

Un paso importante para tecnificar el cultivo de una especie, promover su conservación y mejoramiento genético es caracterizar su diversidad genética. Sin embargo, no se han realizado estudios previos de diversidad genética en poblaciones salvadoreñas de esta especie. Actualmente existen una serie de herramientas moleculares que permiten visualizar polimorfismos en poblaciones de cualquier organismo. Estas se denominan marcadores moleculares (Ferreira M. y Grattapaglia 1998). Los marcadores SCoT permiten revelar polimorfismos en secuencias de ADN que flanquean el codón de inicio de los genes en plantas, sin requerir un conocimiento previo del genoma, posibilitando su aplicación en especies que no cuentan con un genoma secuenciado como *A. macrophyllata*, generando estudios de diversidad representativos (Collard y Mackill 2008).

Se extrajo el ADN genómico de 40 muestras de *A. macrophyllata*, procedentes de Ahuachapán, Usulután, La Paz y La Libertad, departamentos que forman franjas anoneras. Se realizaron amplificaciones por PCR de las muestras con 7 cebadores SCoT. Los resultados se colocaron en una matriz binaria. A partir de ellos, se realizaron los análisis de coordenadas principales (PCoA) y el análisis de agrupamiento por medias no ponderadas (UPGMA). Se calcularon parámetros de informatividad y diversidad genética por cebador, así como estimaciones de diversidad genética entre poblaciones. Se calculó el porcentaje de polimorfismo (%P), contenido de información polimórfica (PIC), índice del marcador (IM), Poder de Resolución (Rp), Heterocigocidad esperada (He) y Número de alelos efectivos (Ne). Este es el estudio preliminar de diversidad genética en poblaciones salvadoreñas de *A. macrophyllata*, que utiliza la técnica de marcadores SCoT.

7. Objetivos

7.1. General:

Analizar la diversidad genética de las poblaciones de anona (*A. macrophyllata* Donn.Sm.) procedentes de cuatro departamentos de El Salvador, mediante marcadores moleculares SCoT.

7.2. Específicos:

Analizar la eficiencia informativa de los marcadores SCoT en las poblaciones de anona (*A. macrophyllata* Donn.Sm.).

Estimar la diversidad genética en poblaciones de anona (*A. macrophyllata* Donn.Sm.) procedentes de cuatro departamentos de El Salvador, usando marcadores SCoT.

8. Estado del arte

8.1. Clasificación taxonómica de la anona

La familia Annonaceae, está compuesta aproximadamente por 80 géneros y cerca de 850 especies (Cruz y Deras 2000). Alrededor de 400 especies producen frutos comestibles, de formas muy variadas; estas especies corresponden a unos 35 géneros (Irigoyen 2004). En El Salvador, se reportan nueve especies de anonáceas en estado silvestre y semi cultivada (Cruz y Deras 2000). La *A. macrophyllata* o anona, es una planta del género *Annona*, cuya sinonimia más utilizada en la literatura botánica de El Salvador, y en los registros GBIF (Global Biodiversity Information Facility), es *Annona diversifolia* (GBIF 2025). De acuerdo a esta misma fuente, su clasificación taxonómica es: Reino: Plantae; phylum: Tracheophyta; clase: Magnoliopsida; orden: Magnoliales; familia: Annonaceae; género: *Annona*; especie: *macrophyllata*.

8.2. Descripción de la especie

Las *A. macrophyllata* son árboles de porte bajo, generalmente con un eje central dominante con ramificaciones desde la base del tallo, con una altura promedio de 4 metros, aun cuando pueden ser más altos (Ballesteros *et al* 2010). La raíz de la anona es del tipo pivotante, tallo de copa abierta con un eje principal dominante con ramificación de poco desarrollo. Su altura varía entre 8 a 12 m (Figura 1). Presenta hojas corrientes obovadas, glabras con pecíolo (Figura 2). Otras en forma de brácteas, redondas, caedizas, sin pecíolo, éstas crecen en la base de las ramillas o de los pedúnculos. Ambas clases de hoja son verde grisáceo. La longitud de las hojas varía de 8 a 16 cm de largo, con ápice redondeado. Las flores (Figuras 3 y 4) son hermafroditas con perianto trímero; androceo de 6 a más estambres; gineceo apocárpico con ovarios súperos (Cruz 2003).



Figura 1. Anona cultivada en el departamento de La Paz.



Figura 2. Hojas de Anona cultivada en el departamento de La Libertad.

Los pétalos miden de 2 a 5 centímetros de largo y tres internos de tamaño bien pequeño. El color de los pétalos (flor) tienen diferentes tonalidades que varían de rosado a rojo púrpura, algunas son de color amarillo-verdoso teñidas de rojo, lo que es un distintivo varietal (Irigoyen 2004). La especie presenta dos períodos de floración, y es principalmente alógama. La floración temprana ocurre entre marzo y abril, y la tardía entre mayo y junio (Cruz 2003).



Figura 3. Flor de Anona cultivada en el departamento de La Paz.



Figura 4. Flor de Anona cultivada en el departamento de La Libertad.

El fruto de la anona es dehiscente en su madurez, tiene forma ovoide elipsoidal, con la base hundida y los carpelos bien salientes (Figuras 5 y 6). La tonalidad varía de verde claro a rosado oscuro, cubierto de una capa de polvo fino blancuzco (Cruz 2003). La longitud aproximada del fruto es de 12 centímetros, la pulpa puede ser de color blanca, rosada, o rojiza. Es una baya colectiva o polibaya concrecentes (frutos colectivos), de semillas con forma elipsoidal u ovoide. La cáscara es gruesa y coriácea, de color verde a rojo cenizo, con apariencia polvosa, al igual que la parte inferior de las hojas (Irigoyen 2004). El peso promedio es de 250 a 740 g, con un promedio de 50 a 70 semillas. La cosecha de frutos ocurre entre julio y septiembre.



Figura 5. Fruto de Anona cultivada en el departamento de La Paz.



Figura 6. Fruto de Anona cultivada en el departamento de La Libertad.

Las semillas son de forma cilíndrica alargada, con una longitud aproximada, que oscila de 1.5 a 2.5 cm, el grosor es de aproximadamente 1 cm (Figuras 7 y 8). La semilla está cubierta por una testa dura, posee textura lisa, color café y brillante (Ballesteros *et al* 2010). La semilla, posee un período largo de dormancia, difícil de interrumpir, por lo cual no germina fácilmente (Cruz 2003; Irigoyen 2004).



Figura 7. Semillas de anona cultivada en el departamento de La Libertad.



Figura 8. Semilla de anona cultivada en el departamento de La Libertad.

8.3. Importancia de *A. macrophyllata*

A nivel internacional, las especies del género *Annona* de mayor interés comercial son: *A. muricata*, *A. squamosa* y *A. cherimolla*. Todas ellas producen frutos dulces comestibles y se distribuyen en zonas tropicales (Ballesteros *et al* 2010). En el caso de la *A. macrophyllata*, su relevancia a nivel comercial internacional es baja. A pesar que esta especie es apetecida por sus frutos dulces comestible que se producen en el sur de México y Centroamérica, la exportación se ve limitada debido a que la apertura del fruto acelera su descomposición (Valle-Guadarrama *et al* 2012).

En El Salvador, ésta es la especie de su género con mayor comercialización (Irigoyen 2004). El fruto se ha exportado a Guatemala, Canadá y Estados Unidos (Lizano *et al* 2003). Tanto el fruto, como otros órganos de la planta, presentan relevancia experimental o aplicada en medicina y en el ámbito agropecuario (Valle-Guadarrama *et al* 2012).

Al igual que otras especies del género, *A. macrophyllata* presenta propiedades insecticidas. Esta actividad está asociada a su capacidad de producir metabolitos secundarios, principalmente alcaloides y acetogeninas. Los extractos hexánicos de las semillas, raíces, tallos y hojas se han

utilizado experimentalmente para combatir especies de hormigas plaga como *Atta mexicana* (Myrmeciinae), que constituyen en ocasiones una de las principales plagas defoliadoras de plantaciones forestales y agrícolas. Los extractos de esta especie también han mostrado actividad larvicida frente a la mosca mexicana de la fruta *Anastrepha ludens*, hongos y otros parásitos microbianos (González-Esquinca *et al* 2011).

En cuanto a la medicina tradicional, *A. macrophyllata*, se ha utilizado para curar diversos padecimientos como la diarrea (el fruto verde), resfriados (las hojas tiernas), luxaciones (la corteza asada) y como antiinflamatorio (hojas) (Luna-Cazáres y González-Esquinca 2008). En cuanto a medicina experimental, se ha determinado un efecto antidiabético en extractos acuosos de hojas secas pulverizadas (Brindis *et al* 2013). Del mismo modo, algunos metabolitos aislados de las hojas, han demostrado actividad anticancerígena en pruebas *in silico*, *in vitro* e *in vivo* (Ramírez-Santos *et al* 2024). Los extractos etanólicos de sus hojas han mostrado actividad anticonvulsiva (González-Trujano *et al* 1998), y han generado efectos antinociceptivos similares al tramadol en estudios experimentales con ratones (Carballo *et al* 2010).

De acuerdo a la composición de la pulpa de sus frutos, *A. macrophyllata* presenta una cantidad considerable de compuestos polifenólicos. Por tanto, puede usarse para prevenir enfermedades relacionadas al estrés oxidativo como el cáncer, aterosclerosis y las enfermedades neurodegenerativas (Julián-Loeza *et al* 2011).

8.4. Producción y comercialización de *A. macrophyllata*

La propagación de la anona se realiza utilizando reproducción sexual y asexual sin un manejo técnico adecuado en la mayoría de plantaciones. La propagación sexual por semillas es la más utilizada. Entre sus desventajas se encuentra la baja uniformidad de producción, y mayor tiempo de espera previo a la primera cosecha (Cruz 2003). Con un adecuado manejo agronómico, y propagación asexual, los costos de producción durante el cebador año oscilan los 1818.56 USD por hectárea, y 1228.99 USD por manzana, obteniéndose ingresos a partir del cuarto año de inversión (Cruz 2003; Irigoyen 2004).

A. macrophyllata es la especie que produce el fruto comestible más fino y exquisito por su sabor sobre el resto de plantas de su género (Cruz 2003). Por ello, posee un mercado estacional alto a

nivel nacional. Los valores más altos se alcanzan en los meses previos (julio) y posteriores (octubre), a la cosecha que ocurre entre agosto y septiembre. A nivel internacional existen limitantes que dificultan la exportación del fruto fresco, debido a la presencia de mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) en frutos aperturados (Orellana 2005; Irigoyen 2004); sin embargo, de acuerdo al CIEX (Centro de tramites de Importaciones y Exportaciones El Salvador), el fruto de la anona se ha exportado a Guatemala, Canadá y Estados Unidos. Estos registros son posteriores a estudios de mercado específicos a frutos y productos elaborados a partir de ellos en Norteamérica (Lizano *et al* 2003).

8.5. Distribución geográfica de *A. macrophyllata* en El Salvador

La *A. macrophyllata* es originaria de Mesoamérica. Se distribuye desde el sur de México, hasta Centroamérica en laderas de montañas y cordilleras del pacífico de México, Guatemala y El Salvador a una altitud de 1-600 msnm (Ballesteros *et al* 2010). Esta especie fue introducida en países del caribe, Colombia, Filipinas y Estados Unidos (Orellana 2005; Cruz y Deras 2000). A pesar de ser la especie del género *Annona* más cultivada y producida en El Salvador, sus cultivares se reducen a estado silvestre y semi-cultivadas, encontrándose principalmente en patios y algunos sectores de fincas. De hecho, tanto ésta como otras especies del género, se han encontrado en riesgo de conservación a nivel nacional en años anteriores (Cruz y Deras 2000). A pesar de ello, se han descrito zonas productoras de anona en 10 departamentos del país (Cruz 2003) (Tabla 1).

Tabla 1. Zonas productoras de Anona en El Salvador

Departamento	Distrito	Cantón
Ahuachapán	San Francisco Menéndez	Cara Sucia
	Tejutla	Guayapa
	Atiquizaya	Salitrero
	Tacuba	El Rodeo, San Rafael, San Juan
La Libertad	Ciudad Arce	Los Acostas, Las Cruces, Los Magos
	Tamanique	Mizata
	Zaragoza	San Sebastián Asuchío
	Coatepeque	El Resbaladero, El Conacaste
Santa Ana	Chalchuapa	El Paste
	Panchimalco	San Isidro, Los Planes, Los Troncones, Los Palones, Amayón
Cuscatlán	San Pedro Perulapán	San Agustín
Cabañas	Villa Victoria	Rojitas
La Paz	Zacatecoluca	El Socorro
San Vicente	San Vicente	Parras Lempa
Usulután	Ozatlán	El Delirio
	Mercedes Umaña	Santa Anita
San Miguel	San Jorge	La Ceiba

Aunque el centro de la abundancia y producción de la anona, son los sitios previamente mencionados, su distribución es más amplia, reconociéndose amplias franjas o zonas anoneras distribuidas por departamento: Tacuba – Cara Sucia – Guaymango (Ahuachapán); El Congo, El Resbaladero – Tacachico (Santa Ana – La Libertad); Mizata – La Libertad (La Libertad); Berlín Mercedes Umaña – Estanzuelas (Usulután); Tonacatepeque – Guazapa (San Salvador); Ilobasco – Jutiapa – El Guayabo (Cabañas); todas ellas caracterizadas por poseer árboles silvestres o cultivados en patios y áreas marginales, sin manejo técnico y con énfasis en la recolección de frutos (Irigoyen 2004).

Puesto a que la planta requiere de un clima cálido, con temperaturas entre los 24 a 37° C y con una estación seca y húmeda. Se adapta bien desde los 100 a 800 msnm en suelos franco arenosos y arcillosos, los cuales permiten un buen desarrollo vegetativo y productivo del cultivo, se han generado mapas de zonas potenciales de cultivo que abarcan cerca del 25% del territorio nacional, siendo una alternativa promisoriosa de producción frutícola (Cruz y Deras 2000; Cruz 2003).

8.6. Diversidad de *A. macrophyllata*

A pesar que existen diferencias reconocibles entre algunos ejemplares de anona en El Salvador, principalmente por las tonalidades de fruto y características sensoriales del mismo, no se reconocen variedades en el país (Cruz 2003; Irigoyen 2004; Orellana 2005). Además, la caracterización realizada en las zonas productoras de Usulután, revelan pocas diferencias entre los individuos estudiados (Orellana 2005). Las variedades más reconocidas de anona se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Variedades reconocidas de *A. macrophyllata* (Irigoyen 2004)

Variedades	Características relevantes	Origen
‘Fairchild’, ‘Rosendo Pérez’, ‘Guillermo’ y ‘Gramajo’	Frutos de cáscara gruesa, verde grisácea, con aréolas prominentes y redondas, la pulpa de color rosada.	seleccionadas por investigadores de la Florida, USA a partir de materiales guatemaltecos de la costa del pacífico.
‘Imery’	Presenta frutos grandes, cáscara delgada y prominencias bajas, de color verderosada (grisáceo-café), la pulpa es de color rosada con manchas más intensas, produce hasta 200 frutos por árbol.	Seleccionada en El Salvador por el Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA).
‘Pajapita’	Fruto es de color café, la cáscara es de superficie suave y rosada, la pulpa es de color rosado brillante	Originaria de Guatemala
‘Nilito’	Fruto con una superficie ligeramente irregular, color verde-azulada y la pulpa es roja	-
‘Román’	frutos de esta variedad son pequeños, poseen una cáscara dura de color verde azulada con manchas rosadas, la pulpa es de color con tendencia a morado.	-
‘Génova White’	Cáscara delgada, de color verde blancuzca, la pulpa es de color blanca.	-
Clones mejorados de Anona Blanca y Anona Rosada	frutos de diferente tamaño y sabor, las que se adaptan muy bien a tierras bajas e intermedias.	-

Algunos estudios de diversidad en tierras cálidas y húmedas de México, revelan 37 tipos de hoja, 6 tonalidades de pétalos, 6 clases de dehiscencia en fruto en 20 variedades de anona. Además, se estima que existen al menos 53 clases de frutos, de los cuales 21 varían significativamente en forma y contenido (Ballesteros *et al* 2010).

8.7. Extracción de ADN

El genoma es el cuerpo colectivo de información genética presente en una especie. Por tanto, puede interpretarse como el conjunto de moléculas de ADN, tanto cromosómico como extracromosómico de una especie, y éste se encuentra presente en cada célula que lo compone (Karp 2014). El genoma constituye el manual de instrucciones para el funcionamiento y sostenimiento de los seres vivos, ya que está compuesto por el conjunto de genes y secuencias no génicas que determinan el nivel más fundamental de los procesos celulares (González *et al* 2017). El estudio de la variación en estas secuencias entre individuos, poblaciones y especies para explicar patrones y procesos ecológico-evolutivos se aborda mediante marcadores moleculares (Cornejo *et al* 2014).

Las técnicas moleculares que van desde el marcaje molecular hasta la ingeniería genética, requieren procedimientos de extracción de ADN. De tal forma, se requieren métodos que permitan una extracción optimizada de ADN que garantice su integridad y concentración adecuadas (Alfonso *et al* 2016). La cantidad, pureza e integridad del ADN son factores esenciales para garantizar la eficiencia y reproducibilidad de los estudios moleculares con marcadores SCoT en plantas, independientemente del tipo de tejido utilizado. Una concentración adecuada permite obtener perfiles de bandas consistentes, mientras que la pureza evita la interferencia de compuestos secundarios que pueden inhibir la reacción de PCR. Asimismo, la integridad del ADN asegura que las regiones flanqueantes al codón de inicio sean amplificadas correctamente, lo que es clave en este sistema de marcaje (Collard y Mackill, 2009).

La obtención exitosa de datos confiables y reproducibles depende, en gran medida, de la extracción de ADN íntegro y puro. La extracción consiste en el aislamiento y purificación de moléculas de ADN y se basa en las características fisicoquímicas de la molécula. A lo largo del tiempo se han diseñado distintos protocolos con la finalidad de obtener una cantidad y calidad de ADN adecuados, así como garantizar la eliminación de inhibidores potenciales que dificulten el tratamiento posterior de la molécula (Cornejo *et al* 2014).

En plantas, uno de los métodos más utilizados tradicionalmente, es el denominado CTAB (Bromuro de cetiltrimetilamonio) (Murray y Thompson 1980). De hecho, este método ya se ha utilizado en plantas anonáceas (Anuragi *et al* 2016), el cual suele sufrir variaciones (Suratman *et al* 2015). A partir de la década de los 90, se introdujeron al mercado combos o kits de extracción que utilizan

matrices inorgánicas compactas cargadas positivamente capaces de retener varios nanogramos de ADN y separarlos del resto de las biomoléculas, permitiendo obtener un extracto libre de inhibidores. Los combos se venden en presentación de cilindros de sílice o perlas magnéticas, las primeras están formadas por una resina y las segundas consisten de un centro de hierro recubierto por resina. El polímero está contenido dentro de un microtubo de polipropileno y las microesferas se encuentran suspendidas en una solución amortiguadora. También suelen incluirse soluciones de lisis y lavado para retirar proteínas (Cornejo *et al* 2014).

La selección del método de extracción es un paso fundamental en las técnicas moleculares y depende del organismo bajo estudio, el tejido disponible y su estado de conservación (Cornejo *et al* 2014). En algunas plantas del género *Annona* ha sido posible obtener ADN íntegro en cantidades suficientes para realizar subsecuentes amplificaciones por PCR con diferentes marcadores moleculares (Suratman *et al* 2015). Sin embargo, estos procesos suelen ser dificultosos, ya que los tejidos pueden contener elevados niveles de fenoles, dificultando su extracción. Por ello, algunos autores sugieren utilizar kits de extracción en estas especies, dando una posterior amplificación por PCR exitosa (Alfonso *et al* 2016). De hecho, en ensayos de extracción de ADN de *A. macrophyllata*, las variantes en sus genotipos pueden presentar metabolitos como polisacáridos, polifenoles y taninos en una concentración que dificultan la extracción de ADN y la subsecuente PCR (Ballesteros *et al* 2010).

8.8. *Marcaje molecular*

Cada cromosoma contiene una molécula de ADN, y las tecnologías de análisis molecular de la variabilidad de ADN permiten determinar puntos de referencia en ellos, denominados marcadores moleculares. Diversas técnicas de biología molecular están disponibles para la detección de la variabilidad genética a nivel de secuencias de ADN, es decir, detectar polimorfismo genético (Ferreira y Grattapaglia 1998). Existen dos clases fundamentales de marcadores moleculares. Los marcadores aleatorios o semialeatorios y los marcadores basados en secuencias específicas. Dentro de esta última clase se encuentran dos grupos de marcadores elaborados a partir de secuencias presentes en la fracción muy repetida del genoma. Estos son los denominados marcadores minisatélite y microsatélite. Ambos tipos de marcadores presentan un alto grado de polimorfismo (Amiteye 2021).

Las secuencias microsatélite son muy cortas (1-6 pb) y se encuentran en pequeños fragmentos de 10 a 40 pares de longitud, esparcidas de forma uniforme por todo el ADN. Su polimorfismo radica en los errores durante la replicación, lo cual causa que estos segmentos cambien de longitud a través de las generaciones (Karp 2014). Debido a sus múltiples ventajas, los marcadores microsatélites se han utilizado para estudios de diversidad genética de algunas plantas del género *Annona* con importancia comercial como la *A. muricata* (Thanachseyan *et al* 2017) y *A. cherimola* (Zonneveld *et al* 2012); sin embargo, puesto a que dentro de sus limitaciones de aplicación se encuentran sus altos costos y el conocimiento parcial o total de secuencias genómicas del organismo de interés, muchos estudios aplican marcadores de amplificación no basados en secuencias específicas. Debido a esta situación, algunos autores aplican marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) en estudios de diversidad genética en plantas del género *Annona* (Alfonso *et al* 2016; Nagori *et al* 2018; Suratman *et al* 2015), los cuales son revelados a partir de cebadores que presentan una secuencia aleatoria.

Los cebadores usados en RAPD durante la PCR, se unen en simultáneo a diferentes loci dentro del genoma, obteniendo amplicones de longitud variable. No se tiene certeza de los sitios amplificados con esta tecnología, pudiendo ser secuencias codificantes o no codificantes, dificultando su vinculación con características de interés agrícola. El uso de marcadores RAPD se ve comprometido a causa de la baja reproducibilidad de los resultados, dificultad de selección de bandas para el análisis y dificultad de asociación con genes de interés (Ferreira y Grattapaglia 1998).

El ensayo de marcaje molecular con la tecnología RAPD en una muestra de 7 individuos bien diferenciados fenotípicamente de *A. macrophyllata*, permitió agruparlos en un clúster diferenciado de otras especies consumidas del género *Annona* (Ballesteros *et al* 2010). No obstante, otros estudios de diversidad en *A. macrophyllata* con marcaje molecular, utilizan la tecnología Microsatélite a partir de loci específicos para establecer relaciones genéticas-evolutivas con otros integrantes de la familia anonáceae (Pomper y Lowe 2004).

En cuanto a aspectos genómicos, no se cuenta con registros de genoma secuenciado; sin embargo, hay un proyecto activo de secuenciación de ADN con objetivos de establecer relaciones evolutivas entre especies de plantas, que incluyen *Annona macrophyllata* (NCBI-BioProject 2025).

Además, esta especie cuenta con secuencias parciales y completas de genes que funcionan como códigos de barra de ADN (NCBI-Nucleotide 2025), y en algunos casos, se han obtenido sus respectivas proteínas hipotéticas (NCBI-Protein 2025). Estas secuencias se han utilizado para establecer relaciones genéticas-evolutivas con otros integrantes de la familia anonáceae (Larranaga y Hormaza 2015). Las especies anonáceas de mayor interés comercial internacional como *Annona muricata*, *Annona squamosa* y *Annona cherimola*, cuentan con mayor cantidad de estudios de marcaje molecular y secuencias de ADN disponibles en las bases de datos con acceso público como NCBI.

Existen un grupo de marcadores basado en secuencias consenso flanqueantes al codón de inicio de genes en plantas. Estos se conocen como SCoT, los cuales son más reproducibles y estables. A su vez, tiene los mismos requerimientos de equipo que la tecnología RAPD. Las ventajas de los SCoT, radican en que los amplicones producidos suelen ser genes, pseudogenes o secciones de ellos, ya que los cebadores están dirigidos a flancos del codón de inicio de genes en plantas (Figura 9). Esto facilita su vinculación con características de interés agrícola para la construcción de mapas genéticos (Collard y Mackill 2008).

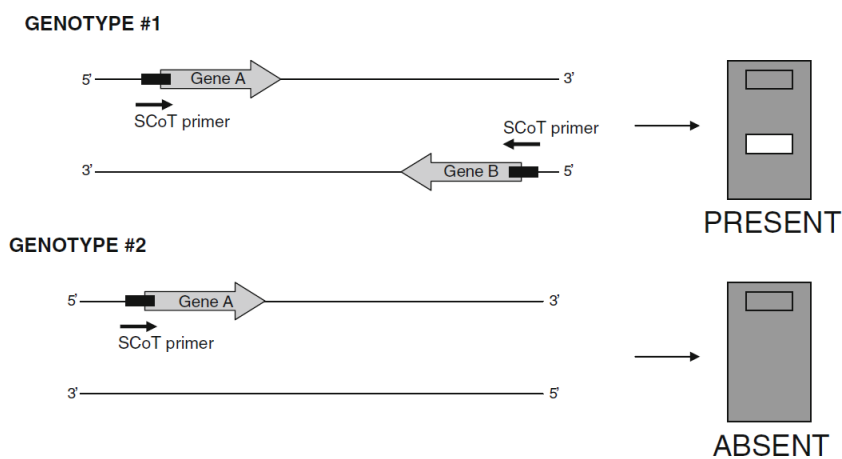


Figura 9. Diagrama que muestra el fundamento de la técnica SCoT. Retomado de Collard y Mackill (2008).

El sistema de marcaje SCoT, al igual que el RAPD, trabaja con un marcaje dominante, siendo incapaces de identificar heterocigotos. Las condiciones de PCR recomendadas por Collard y Mackill (2008), se han implementado con ligeras variantes para caracterizar poblaciones de roble persa (*Quercus brantii* Lindl.), una especie de importancia forestal y económica (Alikhani *et al*

2014). También se han implementado en poblaciones de *Triticum turgidum* var. Durum (Etminan *et al* 2016) y *Boehmeria nivea* L. Gaudich. (Satya *et al* 2015). En todos los casos, estos marcadores han permitido la detección de altos niveles de polimorfismo, lo cual refleja su aplicabilidad en diferentes especies de interés comercial tanto herbáceas como leñosas.

8.9. Diversidad genética con marcadores moleculares

El contenido de información de los marcadores dominantes utilizados, permite evaluar el poder discriminativo de cada uno para poder ser utilizados en estudios de diversidad genética. Este puede considerarse como la capacidad de detectar diferencias genéticas entre los individuos bajo estudio. Todos los parámetros de medida de diversidad genética, se consideran más precisos, si se calculan a partir de marcadores altamente informativos (Reyes 2017). Para el cálculo de los parámetros de contenido informativo y diversidad genética por cebador, se consideró como banda polimórfica o a aquella que cuenta con al menos un individuo que no presente amplicón. Es decir, bajo un mismo perfil electroforético (o banda), si al menos un individuo carezca de amplicón, dicha banda o perfil, se considera polimórfico. De acuerdo a Amiteye (2021) y Reyes (2017). Este mismo criterio se utiliza con otros sistemas de marcaje aleatorio como RAPD e ISSR. Los parámetros de informatividad más comunes en estudios con RAPD y SCoT son:

El porcentaje de contribución (Liu y Muse 2005), proporción de amplicones revelados por un solo cebador. Se calcula Su fórmula es el total de amplicones del cebador/total de amplicones obtenidos en todos los cebadores x 100. El porcentaje de polimorfismo, también llamado porcentaje de bandas polimórficas (por cebador), tiene como fórmula el total de bandas polimórficas/total de bandas x 100. Un resultado superior al 70%, se puede interpretar como un alto porcentaje de polimorfismo bajo el sistema de marcaje SCoT (Collard y Mackill 2009).

El contenido de información polimórfica (PIC) (Roldán-Ruiz *et al* 2000), El PIC es una medida del grado de información que brinda un determinado marcador genético, su fórmula es $PIC = 1 - [f^2 + (1-f)^2]$, donde f = frecuencia relativa de bandas presentes (bandas presentes del cebador/total de individuos), $(1-f)$ = frecuencia relativa de bandas ausentes (bandas ausentes del cebador/total de individuos). El valor del PIC se encuentra entre 0 y 0.5 para marcadores dominantes (puesto que no permiten determinar heterocigocidad). De acuerdo a Prevost y Wilkinson (1999), el PIC inferior a 0.25, indica bajo contenido de informativo, entre 0.5 y 0.25, cantidad moderada de contenido informativo y 0.5, alta cantidad de contenido informativo.

El poder de resolución (R_p) (Prevost y Wilkinson 1999) es otro parámetro de informatividad muy utilizado, y su fórmula es $R_p = \sum I_b$. De acuerdo a Etminan *et al* (2016), I_b para marcadores dominantes tiene como fórmula $I_b = 1 - [2 \times (0.5 - p)]$, donde p = la proporción de todos los individuos que contienen la banda (cantidad de individuos con la banda/total de individuos). El índice del marcador (IM) (Powell *et al* 1996) se usa para determinar la utilidad total de un marcador molecular determinado. Es una medida del equilibrio entre el nivel de polimorfismo detectado y la medida en que un ensayo puede identificar polimorfismos múltiples, cuya fórmula es $IM = PIC \times (\# \text{ bandas polimórficas})$ (Reyes 2017). Cuanto mayor sea el IM, más eficiente es el marcador. Puede variar ampliamente según el número de primers y muestras utilizadas (Ghosh *et al* 2014).

Estos datos pueden acompañarse de estimaciones de diversidad por cebador, como heterocigocidad esperada (H_e) y número de alelos efectivos (N_e). Ambos parámetros parten bajo los supuestos del equilibrio de Hardy-Weinberg (Hardy 1908). Por tanto, la heterocigocidad esperada por cebador es el promedio de heterocigocidad por banda amplificada por cebador, donde $H_e = 2pq$, donde p = frecuencia del alelo presente (presencia de una banda), y $q=1-p$ = ausencia de una banda. El número de alelos efectivos por cebador es el promedio de N_e por cebador, donde $1/(1-H_e)$. Los datos de informatividad se han considerado en estudios con marcadores dominantes a partir de diferentes especies como *Solanum tuberosum* (Gorji *et al* 2011), *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015), *Triticum turgidum* (Etminan *et al* 2016) y *Quercus brantii* (Alikhani *et al* 2014).

Los estudios de diversidad genética se sustentan en dos premisas básicas. La primera es medir la diversidad genética, y la segunda, establecer grados de similitud entre las muestras bajo estudio. Además de ello, en estudios preliminares donde se utilizaron marcadores moleculares, se requirió tomar datos del contenido informativo de los resultados (Reyes 2017). Para medir la diversidad, existen diversos índices o parámetros, los cuales pueden calcularse utilizando programas bioinformáticos particulares; entre ellos se encuentra el porcentaje de polimorfismo (%P), número de alelos observados (N_a) y efectivos (N_e), e índice de información de Shanon (I) (Shannon y Weaver 1949). diversidad genética total (H_t), diversidad genética de la población (H_s), heterocigocidad esperada de Nei (H_e) (Nei 1973).

De los anteriores, los más utilizados en sistemas de marcaje dominantes como RAPD y SCoT, son: El porcentaje de polimorfismo (%P) por población. Su fórmula es número de bandas polimórficas de la población/bandas totales de la población $\times 100$. La Heterocigocidad esperada (H_e), es el promedio de heterocigocidad por banda amplificada por población, y el número de alelos efectivos

por población es el promedio de N_e por población. Ambos parámetros parten bajo el supuesto de equilibrio de Hardy-Weinberg (Hardy 1908), mediante la siguiente fórmula: $H_e = 2pq$, donde p = frecuencia del alelo presente (presencia de una banda), y $q=1-p$ = ausencia de una banda, y $N_e = 1/(1-H_e)$. Todos los parámetros mencionados se suelen calcular tanto por población, como el promedio de todas las poblaciones. Los parámetros descritos se han utilizado para estimar diversidad genética con marcadores SCoT en poblaciones de diferentes especies, como *Solanum tuberosum* (Gorji et al 2011), *Boehmeria nivea* (Satya et al 2015), *Triticum turgidum* (Etminan et al 2016) y *Quercus brantii* (Alikhani et al 2014). Estos parámetros permiten estimar la diversidad genética de poblaciones individuales y la diversidad genética total entre poblaciones (Nei 1973).

Para establecer grados de similaridad, se utiliza una fórmula de distancia genética como la de Nei (Nei 1972) o Jaccard (1901), y a partir de estas últimas, se realiza un análisis de agrupamiento por el método de medias no ponderadas UPGMA (Sokal y Michener 1958). El dendrograma del UPGMA se utiliza para visualizar las relaciones de distancia genética entre individuos y grupos conformados por ellos. Además, se acompaña de un análisis de coordenadas principales (PCoA). Ambos métodos permiten verificar similaridad entre individuos y poblaciones (Hammer et al 2001).

9. Materiales y métodos

9.1. Material vegetal y recolecta

Se utilizaron individuos adultos de *A. macrophyllata*, y se recolectaron 40 muestras vegetales provenientes de 4 departamentos de El Salvador a razón de 10 por departamento (Tabla 3, Figura 10). El material recolectado consistió en cuatro hojas jóvenes y sanas de cada individuo, las cuales se colocaron en bolsas plásticas de cierre hermético, etiquetadas (Anexos 1 y 2), se transportaron en una hielera hasta el laboratorio de biología molecular “Dr. Jorque Quezada”, del MARN (Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales), donde se almacenaron a -20°C hasta la extracción de ADN (Anexos 3 y 4).

Tabla 3. Sitios de recolecta de *A. macrophyllata* con su registro climático

Departamento	Código	Ubicación geográfica	Altitud (msnm)	Temperatura (°C)	Humedad (%)
Ahuachapán	Ah	13°47'33.58"N 90° 1'36.76"O	42	33	72
La Libertad	LI	13°31'3.00"N 89°18'53.47"O	174	30	77
Usulután	Us	13°33'6.25"N 88°29'33.79"O	384	31	73.33
La Paz	La	13°24'50.53"N 88°51'15.51"O	17	35	75

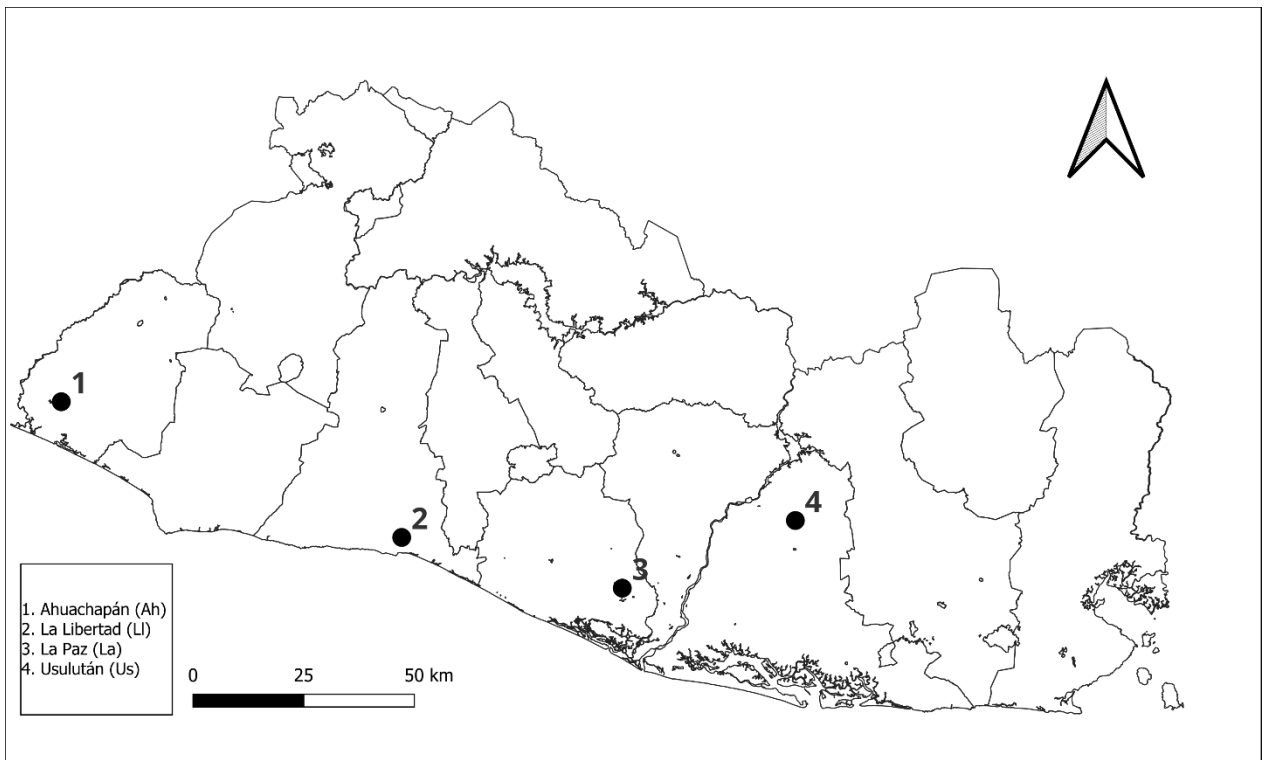


Figura 10. Sitios de recolecta de *A. macrophyllata* en cuatro departamentos de El Salvador

9.2. Extracción de ADN

Para el aislamiento del ADN, se utilizó un kit de extracción de ADN vegetal Innuprep Plant DNA kit, de la marca comercial Analytik Jena®, siguiendo las especificaciones del fabricante (Figuras 11 y 12), utilizando 50 mg de tejido vegetal. La integridad del ADN extraído fue evaluada mediante una electroforesis en 300 mL de gel de agarosa al 0.8% preparado con buffer TAE 1X y 3 uL de GelRed como intercalante. Se realizó una corrida a 100V durante 30 min (Figura 13). Los resultados se visualizaron en un fotodocumentador con luz UV. La concentración y calidad del ADN fue estimada con un espectrofotómetro NanoDrop (Figura 14). Se consideró una concentración mínima de 20 ng/uL para realizar las pruebas posteriores de estandarización de la PCR. La extracción del ADN, se realizó en su totalidad en el laboratorio de biología molecular “Dr. Jorque Quezada” del MARN. El ADN fue trasladado al laboratorio de Biotecnología Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la UES (Universidad de El Salvador).



Figura 11. Kit de extracción de ADN.

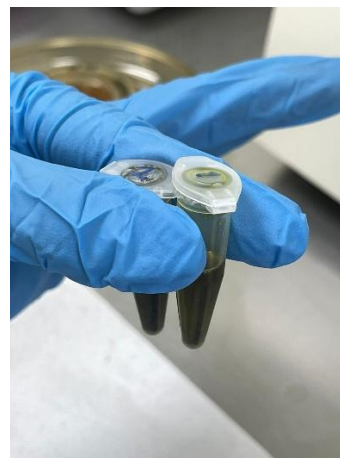


Figura 12. Muestras vegetales homogeneizadas para extracción de ADN.

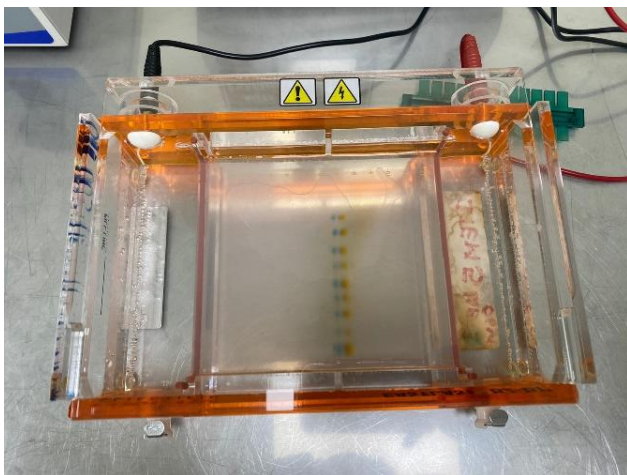


Figura 13. Electroforesis de ADN posterior a extracción de ADN.



Figura 14. Medida de concentración de ADN.

9.3. Estandarización del protocolo de amplificación por PCR

Se realizaron pruebas preliminares de amplificación, con los reactivos PCR individuales, que incluyeron enzimas polimerasas comerciales. Posteriormente, se realizaron pruebas de PCR en gradiente con un mix comercial preparado de la marca minipcr®, a partir de las condiciones recomendadas por el fabricante del Mix (Figuras 15 y 16). Las condiciones que presentaron los mejores resultados de calidad de visualización en composición de mix utilizadas, se muestran en la tabla 4.

En cuanto a las condiciones óptimas de electroforesis utilizadas fueron: 50 mL de gel de agarosa al 1.2%, 1uL de GelRed, 1.3X de loading buffer, 1X de buffer de corrida TAE, 100V por 1:30 h. Se utilizó una escalera de masa relativa de 1 kb (Figura 17), cuyas bandas fueron de 10,000 a 250 pb. Los resultados se visualizaron en un fotodocumentador para visualizar la intensidad de las bandas amplificadas (Figuras 18 y 19).

Tabla 4. Condiciones PCR optimizado SCoT-mix minipcr

Componentes del Mix-PCR	Concentración por tubo PCR	Volumen por tubo PCR (µL)
5X Hot Multiplex PCR Mix	1X	2
Cebador	10 pmol	0.3
ADN molde (solo en tubo PCR)	25 ng/uL	1
Agua	-	6.7
Volumen final	-	10

9.4. Amplificación por PCR

Una vez estandarizado el procedimiento de PCR y electroforesis, se seleccionaron 10 cebadores SCoT, de los cuales 7 cebadores generaron las bandas analizadas (Tabla 5). Se aplicó el programa del protocolo de PCR optimizado (Tabla 6) en un volumen total de 10 µl en tubos individuales PCR, utilizando un termociclador.

Tabla 5. Secuencias de cebadores SCoT a utilizadas durante las PCR (Collard y Mackill 2008)

N°	Secuencia (5'-3')	%GC
3	CAACAATGGCTACCACCG	56
7	CAACAATGGCTACCACGG	56
11	AAGCAATGGCTACCACCA	50
12	ACGACATGGCGACCAACG	61
13	ACGACATGGCGACCATCG	61
14	ACGACATGGCGACCACGC	67
15	ACGACATGGCGACCGCGA	67
1	CAACAATGGCTACCACCA *	50
2	CAACAATGGCTACCACCC *	56
6	CAACAATGGCTACCACGC *	56

* Cebadores cuyas bandas no fueron consideradas en el estudio.

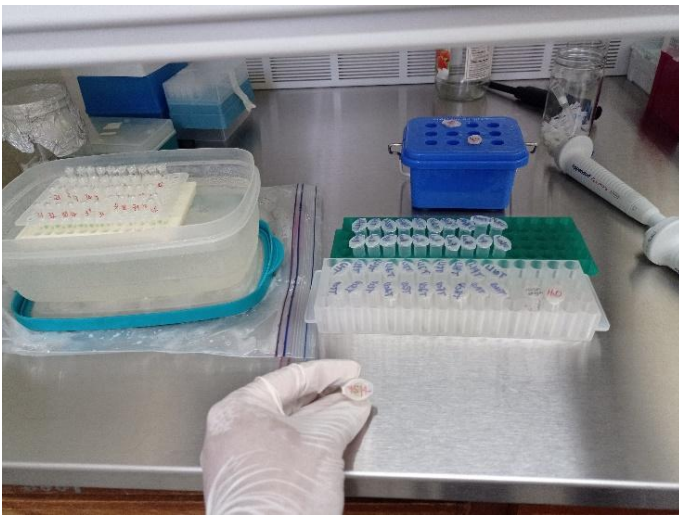


Figura 15. Preparación de mix de PCR-SCoT.

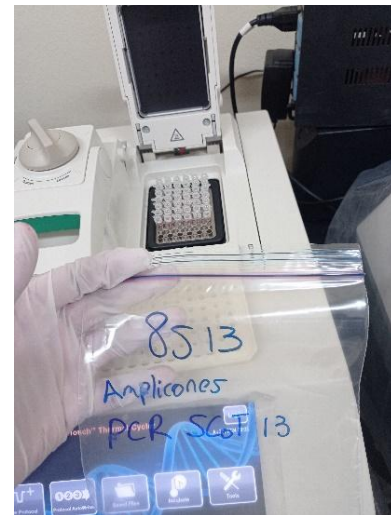
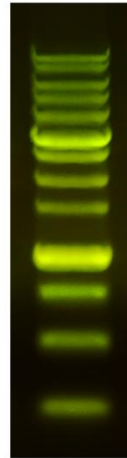


Figura 16. Carga de muestras de ADN en termociclador.



bp

10,000
8,000
6,000
5,000
4,000
3,000
2,500
2,000
1,500
1,000
750
500
250

Figura 17. Escalera de masa relativa marca comercial minipcrbio®. Fuente: minipcrbio.



Figura 18. Electroforesis de muestras amplificadas por PCR-SCoT.

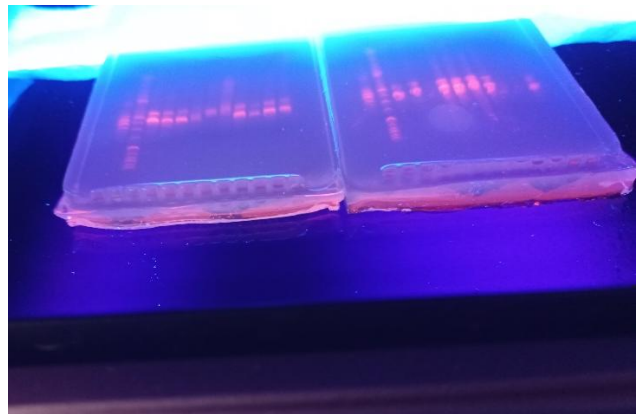


Figura 19. Colocación de muestras amplificadas y corridas en fotodocumentador con luz UV.

Tabla 6. Programa de PCR-SCoT optimizado

Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
95	12 minutos	1
95	30 segundos	35
50	30 segundos	35
72	1 minuto	35
72	5 minutos	1

9.4. Análisis de datos

A partir de las imágenes registradas con el fotodocumentador, se utilizó el programa de análisis de geles GelJ (Heras *et al* 2015) para una selección asistida de amplicones, bandas electroforéticas y estimación de intervalos de masa relativa de las mismas. Con las imágenes analizadas, se construyeron matrices binarias, donde los amplicones distinguibles se designaron como 1, y ausentes como 0. A partir de esta matriz, se realizaron los cálculos de los parámetros de informatividad de marcadores, medidas de diversidad genética y análisis de agrupamiento.

Los parámetros de informatividad se calcularon en hojas de cálculo de Microsoft Excel. Para cada cebador SCoT, se contabilizó el total de amplicones, se calculó el porcentaje de contribución (Liu y Muse 2005), bandas totales, y bandas polimórficas. De igual manera se realizó el cálculo del porcentaje de polimorfismo (%P), contenido de información polimórfica (PIC) (Roldán-Ruiz *et al* 2000), el índice del marcador (IM) (Powell *et al* 1996), el Poder de Resolución (Rp) (Prevost y Wilkinson 1999), la Heterocigocidad esperada (He) y el Número de alelos efectivos (Ne) (Nei 1973). El porcentaje de polimorfismo se calculó contabilizando el total de bandas polimórficas entre el total de bandas por 100.

Del mismo modo, se utilizaron las matrices binarias de cada población para calcular parámetros de diversidad genética poblacional. Entre ellos, el porcentaje de polimorfismo poblacional, Heterocigocidad esperada (He) de la población, número de alelos efectivos (Ne) de la población (Nei 1973), y a partir de ellos, se obtuvieron sus respectivos promedios generales. Utilizando el programa Past 4.03 (Hammer *et al* 2001) se utilizó la matriz de datos binarios, para realizar el análisis de coordenadas principales (PCoA), el cálculo de la similitud genética por pares con el coeficiente de similitud de Jaccard (Jaccard 1901). Los resultados se colocaron en una matriz espejo, y se construyó un dendrograma mediante el método UPGMA.

10. Resultados

Se obtuvieron 40 muestras de ADN genómico a concentraciones y pureza adecuadas para el proceso de PCR-SCoT (Anexo 5). Los cebadores fueron capaces de amplificar sitios particulares del ADN (Anexos 6-19). Estos se utilizaron para estimar la diversidad genética y la informatividad de los marcadores SCoT en los 4 sitios de muestreo, correspondientes a 40 accesiones de *A. macrophyllata*. Los 7 cebadores generaron 701 amplicones, distribuidos en 105 bandas (Tabla 7), con un promedio de bandas amplificadas de 15.00 por cebador.

10.1. Informatividad de marcadores

Como se mencionó en el apartado previo, se evaluaron las amplificaciones de 3 cebadores SCoT más (datos no mostrados). Los que generaron mayor informatividad fueron seleccionados de forma asistida (Heras *et al* 2015). Las bandas se encontraron en un intervalo entre 400 a 3000 pb (Tabla 7). El número máximo de bandas fue obtenido por el cebador SCoT 13 con un total de 23, seguido de SCoT 11 (21). De los 7 cebadores, SCoT 15, presentó el menor número de bandas (7). Todos los cebadores SCoT utilizados, revelaron un 100% de polimorfismo. El porcentaje de contribución varió de 12.25 a 6.67. El mayor porcentaje de contribución lo presentó SCoT 11 con 12.25%, seguido de SCoT 14 con un 10.88%. El menor porcentaje de contribución fue obtenido por SCoT 15 con un 6.67%. El promedio de contribución fue de 9.15% por cebador.

Los valores de PIC para todos los cebadores, se encontraron en la categoría de moderado a alto contenido informativo (Tabla 8). El PIC varió entre un máximo de 0.50 para SCoT 11, y un mínimo de 0.29 de SCoT 15. El promedio fue de 0.43. El Rp de los cebadores seleccionados varió de 3.25 a 5.6. El mayor valor fue obtenido por SCoT 3 con 5.6, seguido de un valor de 5.45 obtenido por SCoT 14. El menor valor de Rp (3.25) fue obtenido por SCoT 15. El promedio de este parámetro fue de 4.56.

La He por cebador, se encontró en la categoría de alta diversidad genética (0.30 – 0.50) en todos los casos. El mayor valor de He fue obtenido por SCoT 7 y 15, seguido de SCoT 14, con un valor de 0.42. El menor valor de He se obtuvo con SCoT 11, y fue de 0.37. El promedio de He por cebador fue de 0.41, correspondiente a la categoría He alta. La Ne por cebador fue de media (1.3 – 1.7) a alta (1.7 – 2.0), y osciló entre 1.62 a 1.80. El mayor valor se obtuvo con SCoT 7 y 15, y el menor con SCoT 11. El promedio de Ne fue de 1.72.

Tabla 7. Polimorfismo y contribución de 7 cebadores SCoT en 40 individuos de *A. macrophyllata* de El Salvador

Código del cebador	%GC	Rango de bandas	Amplicones	Contribución (%)	Bandas totales	Bandas polimórficas	%P (polimorfismo)
SCoT 3	56	1700 - 500	118	10.79	12	12	100
SCoT 7	56	2500 - 1500	75	6.86	10	10	100
SCoT 11	50	2700 - 400	134	12.25	21	21	100
SCoT 12	61	2400 - 400	91	8.32	17	17	100
SCoT 13	61	3000 - 400	91	8.32	23	23	100
SCoT 14	67	2500 - 400	119	10.88	15	15	100
SCoT 15	67	1100 - 400	73	6.67	7	7	100
PROMEDIO			100.14	9.15	15.00	15.00	100.00

Tabla 8. Análisis general de 7 cebadores SCoT en 40 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de diferentes poblaciones de El Salvador

Código del cebador	%GC	Secuencia (5'-3')	PIC	IM	Rp	He	Ne
SCoT 3	56	CAACAATGGCTACCACCG	0.42	5.04	5.6	0.41	1.72
SCoT 7	56	CAACAATGGCTACCACGG	0.38	3.75	3.75	0.44	1.80
SCoT 11	50	AAGCAATGGCTACCACCA	0.50	10.47	5.1	0.37	1.62
SCoT 12	61	ACGACATGGCGACCAACG	0.49	8.31	4.45	0.40	1.70
SCoT 13	61	ACGACATGGCGACCATCG	0.49	11.24	4.35	0.38	1.64
SCoT 14	67	ACGACATGGCGACCACGC	0.47	7.03	5.45	0.42	1.74
SCoT 15	67	ACGACATGGCGACCGCGA	0.29	2.02	3.25	0.44	1.80
PROMEDIO			0.43	6.84	4.56	0.41	1.72

10.2. Diversidad genética entre individuos y poblaciones

Se registró una matriz binaria por todas las poblaciones bajo estudio, y de forma individual por población (Anexos 20-23). La matriz permitió calcular el porcentaje de polimorfismo por población, cuyo valor varió de 52.38% a 62.86% (Tabla 9). El mayor valor se obtuvo en la población de La Paz, y el menor en La Libertad. El promedio de porcentaje de polimorfismo por población fue de 56.43%. La Heterocigocidad esperada (H_e) por población se encontró en la categoría de moderada. El mayor valor lo presentó la población de La Paz, y el menor valor, la población de La Libertad. El promedio fue de 0.24. El Número de alelos efectivos (N_e) por población se encontró en la categoría de medio, y varió de 1.38 a 1.50. El menor valor fue obtenido por la población de La Libertad, y el mayor valor por la población de La Paz, con una media de 1.43. La matriz binaria general junto a los cálculos realizados está disponible en el anexo 24.

Tabla 9. Parámetros de diversidad genética en poblaciones de *A. macrophyllata* de El Salvador

Población	Código	Polimorfismo (%)	H_e	H_e-SD	N_e	N_e-SD
Ahuachapán	Ah	53.33	0.23	0.03	1.42	0.05
La Paz	La	62.86	0.27	0.03	1.50	0.05
La Libertad	Ll	52.38	0.21	0.02	1.38	0.03
Usulután	Us	57.14	0.24	0.00	1.43	0.00
PROMEDIO		56.43	0.24		1.43	

* H_e = Heterocigocidad esperada; N_e = Número de alelos efectivos; SD = Desviación estándar

Los individuos muestreados de las 4 poblaciones de anona, conformaron grupos de similitud variable (Figura 20); sin embargo, los individuos más similares entre sí, tienden a formar clústeres por ubicación geográfica (Anexo 25). Siete individuos de la población de Ahuachapán (Ah2, Ah5-Ah10) forman el clúster con mayor similitud de Jaccard, alcanzando 0.29 (I, Figura 21). Todos los individuos de la población de La Libertad, se agruparon en un mismo clúster a una similitud de 0.27 (II, Figura 21). Nueve individuos de la población de Usulután (Us1-Us3, Us5-Us10), se agruparon en un mismo clúster a una similitud de 0.26 (III, Figura 21). Nueve individuos de la población de La Paz (La1-La8, La10), se agruparon en un mismo clúster a una similitud de 0.23 (IV, Figura 21). Algunos integrantes de las poblaciones de Usulután, La Paz y Ahuachapán (La9, Ah1, Ah3, Ah4 y Us4), mostraron mayor distancia genética con respecto a sus poblaciones de procedencia.

Los datos del agrupamiento UPGMA concuerdan con el de análisis de coordenadas principales derivado de los datos binarios SCoT (Figura 22). Los individuos más similares entre sí, tienden a

formar clústeres por ubicación geográfica. Se muestran los individuos más próximos entre sí en la población de La Libertad, encontrándose dispersos algunos integrantes de las poblaciones de Usulután, La Paz y Ahuachapán.

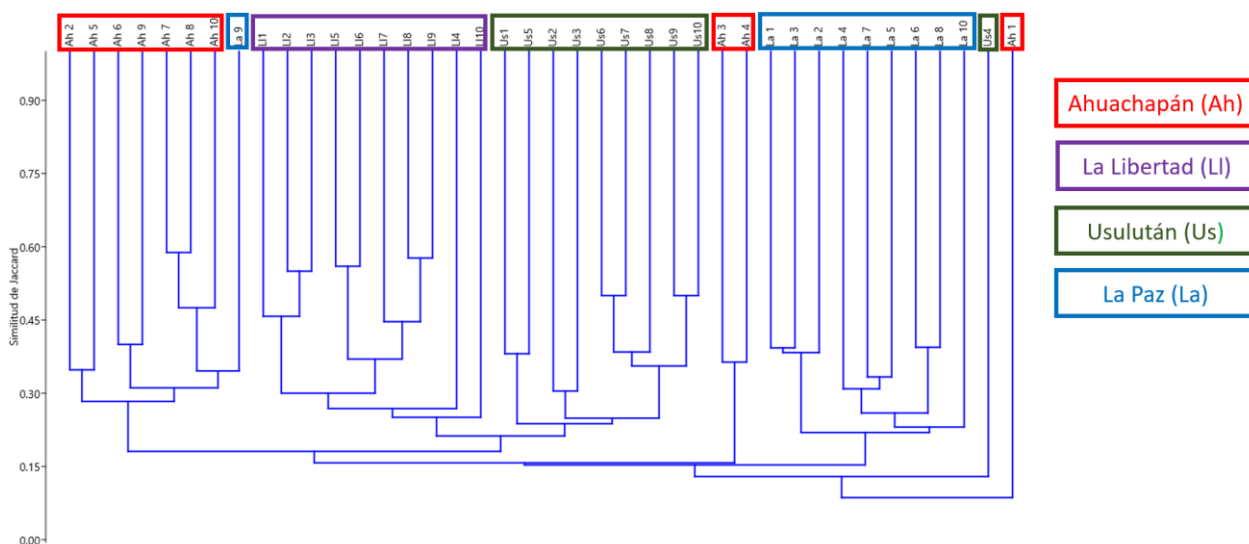


Figura 20. Agrupamiento UPGMA de 40 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de cuatro departamentos de El Salvador.

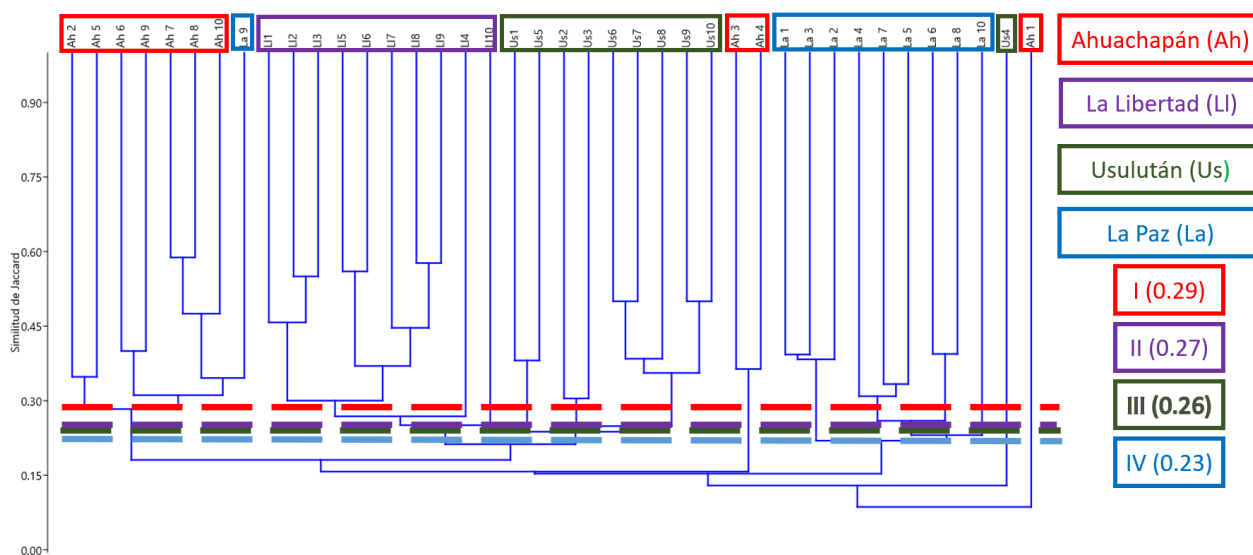


Figura 21. Principales clústeres del agrupamiento UPGMA de 40 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de cuatro departamentos de El Salvador. Las líneas punteadas muestran la similitud de los principales grupos distribuidos por ubicación geográfica.

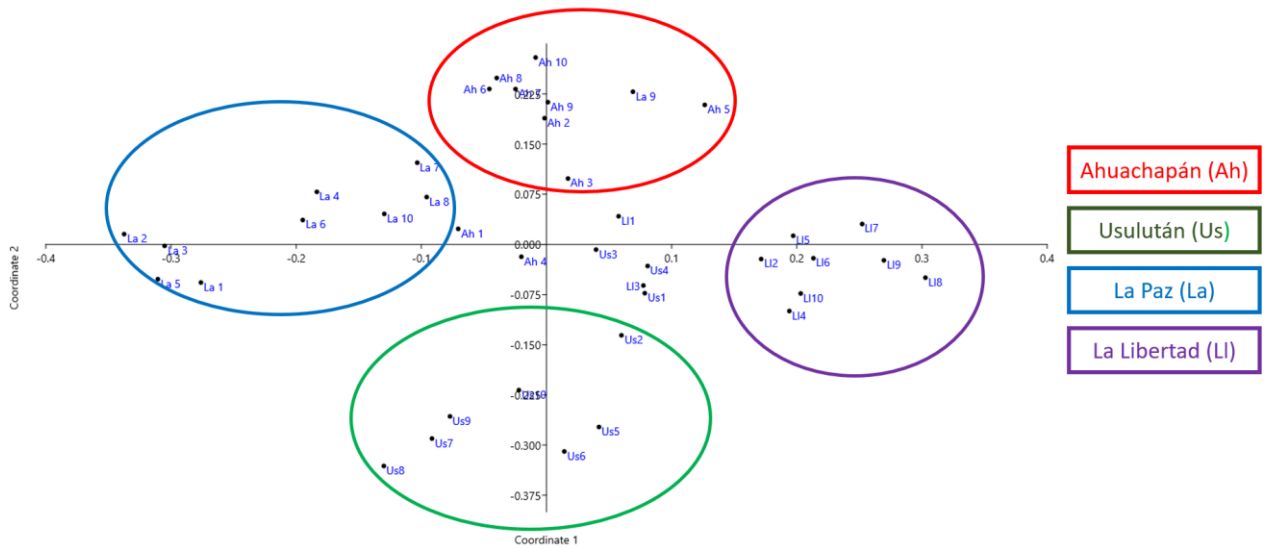


Figura 22. PCoA de 40 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de 4 departamentos de El Salvador. Los círculos representan los principales grupos distribuidos por ubicación geográfica.

No se encontraron individuos con idéntica similitud de Jaccard, concordando con los valores de diversidad genética considerados, como el 100% de polimorfismo por cebador y un alto índice de información polimórfica, un alto poder de resolución e informatividad por cebador.

11. Discusión

La *A. macrophyllata* es la especie de su género con mayor interés comercial en El Salvador, cuyas poblaciones están distribuidas en regiones anóteras por departamento, siendo una alternativa promisorio de producción frutícola. Su capacidad de adaptación, permite un intervalo potencial de distribución que abarca cerca del 25% del territorio salvadoreño (Cruz y Deras 2000; Cruz 2003). En algunas poblaciones mexicanas de esta especie, se ha encontrado diversidad morfoagronómica y genética evidenciada, utilizando marcadores moleculares (Ballesteros *et al* 2010).

En ese sentido, los marcadores funcionan como puntos de referencia en el genoma, evidenciándose a partir de técnicas moleculares de detección de secuencias como el PCR. Entre estos marcadores, existen sistemas de marcaje dirigido a secuencias, los cuales requieren un conocimiento previo total o parcial de las secuencias del genoma de la especie bajo estudio (Ferreira y Grattapaglia 1998). Esta condición no está presente en *A. macrophyllata*. Por ello, algunos estudios de diversidad genética en organismos sin genoma secuenciado, se opta por el uso de marcadores aleatorios como el RAPD (Ballesteros *et al* 2010) y SCoT (Collard y Mackill 2008). Sin embargo, los RAPD tienen algunas desventajas como baja reproducibilidad de los resultados, el carácter dominante del marcaje, dificultad de asociar los *loci* amplificados con genes que codifican proteínas (Amiteye 2021).

Los marcadores SCoT están basados en secuencias consenso presentes en genes que codifican proteínas en plantas, por tanto, no requieren un conocimiento total o parcial del genoma de la especie bajo estudio, ya que utilizan ciclos de PCR convencional punto final, y sus resultados son revelados en una electroforesis, teniendo el mismo costo estimado de implementación que los RAPD (Collard y Mackill 2008). Además, cuentan con la ventaja de una mayor reproducibilidad de los resultados y facilidad de asociar los *loci* amplificados con genes que codifican proteínas (Amiteye 2021). Los SCoT al igual que los RAPD, se comportan como marcadores dominantes. Por ello, el análisis de datos en ambos sistemas de marcaje, toman en cuenta los mismos parámetros de diversidad genética (Collard y Mackill 2008).

La informatividad de los marcadores dominantes utilizados, permite evaluar el poder discriminativo de cada uno, cuyos parámetros más comunes en estudios con SCoT son el porcentaje de contribución, porcentaje de polimorfismo (por marcador), contenido de información polimórfica (PIC) (Roldán-Ruiz *et al* 2000), poder de resolución (Rp) (Prevost y Wilkinson 1999) y el índice del marcador (IM) (Powell *et al* 1996). Estos suelen acompañarse con medidas de diversidad, como

heterocigocidad esperada (H_e) y número de alelos efectivos (N_e) (Nei 1973). Estos datos de informatividad se han considerado en estudios genéticos con SCoT (Collard y Mackill 2008), a partir de diferentes especies como *Solanum tuberosum* (Gorji *et al* 2011), *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015), *Triticum turgidum* (Etminan *et al* 2016) y *Quercus brantii* (Alikhani *et al* 2014).

Para estimar la diversidad genética con marcadores dominantes en poblaciones, y diversidad genética total entre poblaciones, suele utilizarse el porcentaje de polimorfismo (%P), heterocigocidad esperada (H_e) y número de alelos efectivos (N_e) (Nei 1973). Estos parámetros se han utilizado con marcadores SCoT en poblaciones de diferentes especies, como *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015), y con RAPD en poblaciones del género *Annona*, como *A. squamosa* (Nagori *et al* 2018), y *A. muricata* (Suratman 2015).

Es importante señalar que no se cuenta con estudios previos de diversidad genética con marcadores aleatorios o dirigidos a secuencia consenso en poblaciones salvadoreñas de *A. macrophyllata*; sin embargo, existen otros estudios de diversidad genética que utilizan diferentes sistemas de marcaje molecular en otras especies de plantas, incluyendo algunas del género *Annona*. Los cebadores SCoT 3, 7, 11, 12, 13, 14 y 15, fueron capaces de amplificar sitios específicos del ADN, al igual que otros estudios de diversidad genética que utilizan el mismo sistema de marcaje SCoT en accesiones de *Oryza sativa* (Collard y Mackill 2008), *Mangifera indica* (Luo *et al* 2010), *Solanum tuberosum* (Gorji *et al* 2011), *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015), *Triticum turgidum* (Etminan *et al* 2016) y *Quercus brantii* (Alikhani *et al* 2014).

El cebador SCoT 11 amplificó 21 bandas, valores considerablemente mayores a los obtenidos en *Mangifera indica* (Luo *et al* 2010) y *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015), donde se obtuvieron entre 5 y 8 bandas con el mismo cebador. SCoT 3 amplificó 12 bandas, en contraposición con 5 bandas amplificadas utilizando el mismo cebador en *Mangifera indica* (Luo *et al* 2010) y *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015). Por otro lado, con el mismo cebador, en *Triticum turgidum*, se obtuvieron 28 bandas (Etminan *et al* 2016).

SCoT 12 generó 17 bandas, mientras SCoT13, 23 bandas, mientras en *Boehmeria nivea* se obtuvieron 5 y 10, respectivamente (Satya *et al* 2015). En *Triticum turgidum*, se obtuvieron 31 y 27 bandas, respectivamente (Etminan *et al* 2016). SCoT 15, generó 7 bandas, mientras en *Boehmeria nivea* se obtuvieron 6 (Satya *et al* 2015). En SCoT 7, se obtuvieron 10 bandas, al igual que en *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015). El SCoT 14, permitió obtener 15 bandas, mientras en

Mangifera indica, se obtuvieron 10 (Luo *et al* 2010). En *Boehmeria nivea*, se obtuvieron 7 bandas (Satya *et al* 2015). Estos resultados sugieren que la variabilidad en el número de bandas no solo depende del cebador, sino también de la estructura genética de cada especie, la cual puede cambiar los sitios de unión y longitud de los amplicones (Amiteye 2021).

Los 7 cebadores SCoT seleccionados, revelaron un 100% de polimorfismo. En otros estudios, únicamente los SCoT 3 y 15 permitieron obtener el mismo polimorfismo en *Mangifera indica*, (Luo *et al* 2010) y *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015). Sin embargo, con el resto de cebadores utilizados, se obtuvo más de un 80% de polimorfismo en *Mangifera indica* (Luo *et al* 2010), *Solanum tuberosum* (Gorji *et al* 2011), *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015), *Triticum turgidum* (Etminan *et al* 2016) y *Quercus brantii* (Alikhani *et al* 2014). Los resultados del porcentaje de polimorfismo al utilizar marcadores SCoT es muy cercano al obtenido al utilizar el sistema RAPD en *Annona muricata* con poblaciones geográficamente distantes de la isla de Java, Indonesia, obteniendo entre 95-100% de polimorfismo (Suratman 2015).

El alto polimorfismo por marcador encontrado en la presente investigación contrasta con el bajo porcentaje de polimorfismo detectado en *Annona squamosa*, mediante RAPD e ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) (29-73%) (Nagori *et al* 2018). Estas diferencias probablemente se deban a la alta especificidad del marcaje ISSR, dirigido a locus específicos (Amiteye 2021). En estudios de marcaje molecular en especies de *A. cherimola*, *A. reticulata*, *A. muricata*, *A. atemoya* y *A. squamosa* que utilizan sistemas de marcaje RAPD se alcanzó un máximo de 100% de polimorfismo, al igual que con marcadores microsatélite (Anuragi 2016). Estas diferencias en ambos sistemas de marcaje probablemente se deban a diferencias genómicas específicas entre estas especies del mismo género (Amiteye 2021).

El contenido de información polimórfica PIC es mayor en el cebador SCoT 11, con un valor máximo de 0.50. Esto contrasta con lo obtenido en *Boehmeria nivea*, donde se obtuvo 0.63 con el mismo marcador. SCoT 3 permitió obtener un PIC de 0.42, en contraposición con 0.82 en *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015); sin embargo, en *Triticum turgidum*, el valor fue de 0.38. En SCoT 12 y 13, se obtuvo 0.49, mientras que en *Triticum turgidum*, el valor fue de 0.48 y 0.36, respectivamente (Etminan *et al* 2016). En *Boehmeria nivea* se obtuvo 0.25 y 0.71, respectivamente (Satya *et al* 2015). Estos cambios podrían reflejar un alto grado de polimorfismo y diversidad en estos loci de *Annona macrophyllata* en comparación con las otras especies mencionadas (Amiteye 2021).

El tercer mayor valor de R_p fue obtenido por SCoT 11 (con un valor de 5.1) en contraste con 2.8 obtenido con el mismo cebador SCoT en *Boehmeria nivea* (Satya *et al* 2015). En amplificaciones que combinan pares de SCoT en *Solanum tuberosum* se obtuvo un máximo R_p de 3.31 (Gorji *et al* 2011). Lo anterior indica que estos cebadores presentan menor poder de resolución en las poblaciones bajo estudio.

En cuanto a la heterocigocidad esperada por marcador, SCoT 3 presentó 0.41, un mayor valor que el obtenido con el mismo cebador en poblaciones de *Triticum turgidum*, donde se obtuvo 0.26. El promedio de H_e por cebador fue de 0.41, en contraposición con 0.24 en poblaciones de *Triticum turgidum*, con el mismo sistema de marcaje. Del mismo modo, el valor de N_e promedio por cebador fue de 1.72, mayor a los 1.39 en poblaciones de *Triticum turgidum*, con el mismo sistema de marcaje (Etminan *et al* 2016). Los resultados promedio de H_e por cebador son considerablemente mayores a los 0.03 obtenidos por marcaje SSR en *A. muricata* (Thanachseyan *et al* 2017).

La H_e promedio por población fue de 0.41, y el N_e de 1.72, muy similares a 0.25, y 1.41, respectivamente, obtenidos en poblaciones de *A. squamosa*, mediante marcaje RAPD y SSR en simultáneo (Nagori *et al* 2018). A su vez, la H_e es un resultado superior a los 0.04, obtenidos en poblaciones de *A. muricata*, con RAPD (Suratman 2015). El análisis de agrupamiento UPGMA basado en el índice de Jaccard, y el análisis de coordenadas principales (PCoA), reflejan un agrupamiento dependiente de ubicación geográfica. Los individuos de cada población mantienen mayor similitud genética y se agrupan en clústeres más cercanos. Esto concuerda con estudios de otras poblaciones del género *Annona*, al utilizar diferentes sistemas de marcaje como en *A. squamosa* (Nagori *et al* 2018) y *A. muricata* (Suratman *et al* 2015).

Los resultados descritos en la presente investigación constituyen el primer estudio de diversidad genética con marcadores SCoT en poblaciones salvadoreñas de *A. macrophyllata*. El principal hallazgo destacado radica en el mantenimiento de la similitud genética por ubicación geográfica. Esto probablemente se deba a factores que disminuyan el flujo genético mediado por polinizadores animales frecuentes en estas especies (Hamrick y Godt 1996). Además, la alta diversidad genética le da un valor como recurso genético para preservación y uso en programas de mejoramiento genético, ya que proporciona la base para la adaptación, la resiliencia y la selección de características agronómicas valiosas (Esquinas-Alcázar 2005).

12. Conclusiones

Los valores elevados de PIC, He y Ne, junto con el agrupamiento geográfico observado, respaldan que los marcadores SCoT son altamente informativos y adecuados para caracterizar la diversidad genética en *A. macrophyllata*.

Los cebadores del presente estudio al encontrarse en categorías de informatividad alta, podrían ser utilizados para estudios de mapeo y mejoramiento genético asistidos en esta especie.

Existe una considerable diversidad genética entre las cuatro poblaciones de *A. macrophyllata* estudiadas.

Los análisis de agrupamiento UPGMA y de coordenadas principales (PCoA) evidenciaron que las poblaciones de *Annona macrophyllata* estudiadas presentan diferencias genéticas según su lugar de origen, lo que sugiere que sus características dependen de el aislamiento geográfico y dificultades en su reproducción sexual.

13. Referencias

- Alfonso Y., Noriega C., Isidró M., Andraca L., Alfonso D., Rodríguez D. (2016). Optimización de protocolos de extracción de ADN y del marcador molecular tipo RAPD en anonáceas, 37(1), 91–98. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.3356.1207>
- Alikhani, L., Rahmani, M.-S., Naghi Shabani, Hedieh Badakhshan, y Khadivi, A. (2014). Genetic variability and structure of *Quercus brantii* assessed by ISSR, IRAP and SCoT markers. *Gene*, 552(1), 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.09.034>
- Amiteye S. (2021). Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. *Heliyon* 7 (2021) e08093.
- Anuragi, H., Dhaduk, H. L., Kumar, S., Dhruve, J. J., Parekh, M. J., y Sakure, A. A. (2016). Molecular diversity of *Annona* species and proximate fruit composition of selected genotypes. *3 Biotech*, 6(2). <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0520-9>
- Ballesteros, G., Rodríguez, L., Reynoso, J., Zavala, F., Urieta, M., Ballesteros, N., y Martínez Soriano, J. (2010). Diversidad de las ilamas (*Annona diversifolia* Saff.) de la tierra caliente del balsas, México.
- Brindis, F., González-Trujano, M. E., González-Andrade, M., Aguirre-Hernández, E., y Villalobos-Molina, R. (2013). Aqueous Extract of *Annona macrophyllata*: A Potential α -Glucosidase Inhibitor. *BioMed Research International*, 2013, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2013/591313>
- Carballo, A. I., Martínez, A. L., González-Trujano, M. E., Pellicer, F., Ventura-Martínez, R., Díaz-Reval, M. I., y López-Muñoz, F. J. (2010). Antinociceptive activity of *Annona diversifolia* Saff. leaf extracts and palmitone as a bioactive compound. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 95(1), 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.11.017>
- Collard, B. C. Y., y Mackill, D. J. (2008). Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: A Simple, Novel DNA Marker Technique for Generating Gene-Targeted Markers in Plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 27(1), 86–93. <https://doi.org/10.1007/s11105-008-0060-5>
- Cornejo, A., Serrato, A., Rendón, B., y Rocha, M. (2014). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos.

- Cruz, E. (2003). Guía técnica cultivo de la anona. [Archivo PDF]. <https://www.centa.gob.sv/download/guia-tecnica-cultivo-de-anona/>
- Cruz, E., y Deras, H. (2000). Colecta y establecimiento de anonáceas en El Salvador. *AGRONOMÍA MESOAMERICANA*, 11(2), 91–95.
- Esquinas-Alcázar, J. (2005). Protecting crop genetic diversity for food security: Political, ethical and technical challenges. *Nature Reviews Genetics*, 6(12), 946–953. <https://doi.org/10.1038/nrg1729>
- Etminan, A., Pour-Aboughadareh, A., Mohammadi, R., Ahmadi-Rad, A., Noori, A., Mahdavian, Z., y Moradi, Z. (2016). Applicability of start codon targeted (SCoT) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers for genetic diversity analysis in durum wheat genotypes. *Biotechnology y Biotechnological Equipment*, 30(6), 1075–1081. <https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1228478>
- Ferreira M., Grattapaglia D. (1998). Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Brasil.
- Ghosh, A., Islam, M. S., & Saha, S. R. (2014). Efficiency of ISSR and SCoT markers in assessment of genetic diversity and relationship among a diverse group of eggplant (*Solanum melongena* L.) genotypes. *Molecular Plant Breeding*, 5(1), 1–12.
- Global Biodiversity Information Facility [GBIF] (3 de mayo del 2025). *Annona macrophyllata* Donn.Sm. <https://www.gbif.org/species/5407193>
- González, A., Alvarez, A., López, D., Quintero, A., Orozco, S., Guyot, R., Cristancho, M., Zuluaga, M., Botero, K., Mosquera, J., y Garavito, A. (2017). Una Aproximación Conceptual a Las Ciencias Ómicas. Blanecolor S.A.S.
- González-Esquinca, A., Luna-Cazáres, L., Gutiérrez-Jiménez, J., Schlie-Guzmán, M., y Vidal-López, D. (2011). Anonáceas, plantas antiguas, estudios recientes. UNICACH.
- González-Trujano, M. E., Navarrete, A., Reyes, B., y Hong, E. (1998). Some pharmacological effects of the ethanol extract of leaves of *Annona diversifolia* on the central nervous system in mice. *Phytotherapy Research*, 12(8), 600–602. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1573\(199812\)12:8%3C600::aid-ptr363%3E3.0.co;2-n](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1573(199812)12:8%3C600::aid-ptr363%3E3.0.co;2-n)

- Gorji, A. M., Poczai, P., Polgar, Z., y Taller, J. (2011). Efficiency of arbitrarily amplified dominant markers (SCOT, ISSR and RAPD) for diagnostic fingerprinting in tetraploid potato. *American Journal of Potato Research*, 88(3), 226–237. <https://doi.org/10.1007/s12230-011-9187-2>
- Hammer O., Harper D., Ryan P. (2001). PAST: paleontological statistics software package for education and data análisis
- Hamrick, J. L., & Godt, M. J. W. (1996). Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 351(1345), 1291–1298. <https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0112>
- Hardy, G. H. (1908). Mendelian proportions in a mixed population. *Science*, 28(706), 49–50. <https://doi.org/10.1126/science.28.706.49>
- Heras, J., Domínguez, C., Mata, E., Pascual, V., & Lozano, C. (2015). GelJ—a tool for analyzing DNA fingerprint gel images. *BMC Bioinformatics*, 16, 270. <https://doi.org/10.1186/s12859-015-0703-0>
- Irigoyen, J. (2004). Guía técnica del cultivo de la anona. [Archivo PDF]. <https://repositorio.iica.int/items/89d6752e-f1cf-4c7d-b117-a60393fe65bd>
- Jaccard, P. 1901. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura. *Bull. Soc. Vaudoise Sci. Nat.* 37: 547-579.(1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* 44: 223-270.
- Julián-Loeza, A. P., Santos-Sánchez, N. F., Valadez-Blanco, R., Sánchez-Guzmán, B. S., y Salas-Coronado, R. (2011). Chemical composition, color, and antioxidant activity of three varieties of *Annona diversifolia* Safford fruits. *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1262–1268. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.06.012>
- Karp G. (2014). *Biología celular y molecular séptima edición*. McGraw Hill Education.
- Larranaga, N., y Hormaza, J. I. (2015). DNA barcoding of perennial fruit tree species of agronomic interest in the genus *Annona* (Annonaceae). *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00589>

- Liu, K., y Muse, S. V. (2005). PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, 21(9), 2128–2129. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti282>
- Lizano, M., Vanegas, M., Galdámez, A., Baiza, V., y Tobar, C. (2003). Oportunidades de mercado de frutas de El Salvador en los Estados Unidos de América (J. De León, C. Domínguez y F. Alas, Eds.).
- Luna-Cazáres, L., y González-Esquinca, A. (2008). Actividad antibacteriana de extractos de *Annona diversifolia* Safford y *Annona purpurea* Mociño y *sessé* ex dunal. *Polibotánica*, 25(1), 121–125.
- Luo, C., He, X., Chen, H., Ou, S., y Gao, M. (2010). Analysis of diversity and relationships among mango cultivars using Start Codon Targeted (SCoT) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(6), 1176–1184. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.11.004>
- Murray, M. G., y Thompson, W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8(19), 4321–4326. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>
- Nagori, R., Sharma, P., y Purohit, S. D. (2018). Molecular characterization of diversity in *Annona squamosa* L.: A high value tropical medicinal plant. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, 5(4), 1–9. <https://doi.org/10.15171/ijpni.2018.04>
- National Center for Biotechnology Information [NCBI-BioProject](3 de mayo del 2025). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=annona+macroprophyllata>
- National Center for Biotechnology Information [NCBI-Nucleotide](3 de mayo del 2025). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/?term=annona+macroprophyllata>
- National Center for Biotechnology Information [NCBI-Protein](3 de mayo del 2025). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/?term=annona+macroprophyllata>
- Nei M. (1972). Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283-292
- Nei M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academic of Sciences of the United States of America*, 70: 3321-3323
- Orellana, M. (2005). Caracterización de materiales genéticos de anona (*Annona diversifolia* Saff) en los municipios de Berlín y Mercedes Umaña, departamento de Usulután [Tesis de

- pregrado, Universidad de El Salvador]. <https://repositorio.ues.edu.sv/items/17c36ac4-d3de-4352-b9be-35f6cc280ae5>
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S., y Rafalski, A. (1996). The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2(3), 225–238. <https://doi.org/10.1007/BF00564200>
- Prevost, A., y Wilkinson, M. J. (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(1), 107–112. <https://doi.org/10.1007/s001220051046>
- R. Nagori, Sharma, P., y Purohit, S. D. (2018). Molecular characterization of diversity in *Annona squamosa* L.: A high value tropical medicinal plant. *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, 5(1), 4–4. <https://doi.org/10.15171/ijpni.2018.04>
- Ramírez-Santos, J., Calzada, F., Ordoñez-Razo, R. M., Mendieta-Wejebe, J. E., Velázquez-Domínguez, J. A., Argüello-García, R., Velázquez, C., y Barbosa, E. (2024). In Vivo, In Vitro and In Silico Anticancer Activity of Ilama Leaves: An Edible and Medicinal Plant in Mexico. *Molecules*, 29(9), 1956. <https://doi.org/10.3390/molecules29091956>
- Rascoe, D., Pomper*, K. W., Lowe, J., Crabtree, S. B., Mahdeem, H., y Kochhar, T. S. (2004). Assessment of the Utility of ISSR Markers for Evaluating Genetic Relationships Among Members of *Asimina* and *Annona*. *HortScience*, 39(4), 786A—786. <https://doi.org/10.21273/hortsci.39.4.786a>
- Reyes J. (2017). Análisis de cuatro marcadores RAPD en 41 accesiones de aguacate (*Persea* sp.). Universidad Autónoma del estado de México.
- Roldán-Ruiz, I., Dendauw, J., Van Bockstaele, E., Depicker, A., y De Loose, M. (2000). AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular Breeding*, 6(2), 125–134. <https://doi.org/10.1023/A:1009680614564>
- Satya, P., Karan, M., Jana, S., Mitra, S., Sharma, A., Karmakar, P. G., y Ray, D. P. (2015). Start codon targeted (SCoT) polymorphism reveals genetic diversity in wild and domesticated populations of ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaudich.), a premium textile fiber producing species. *Meta Gene*, 3, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2015.01.003>

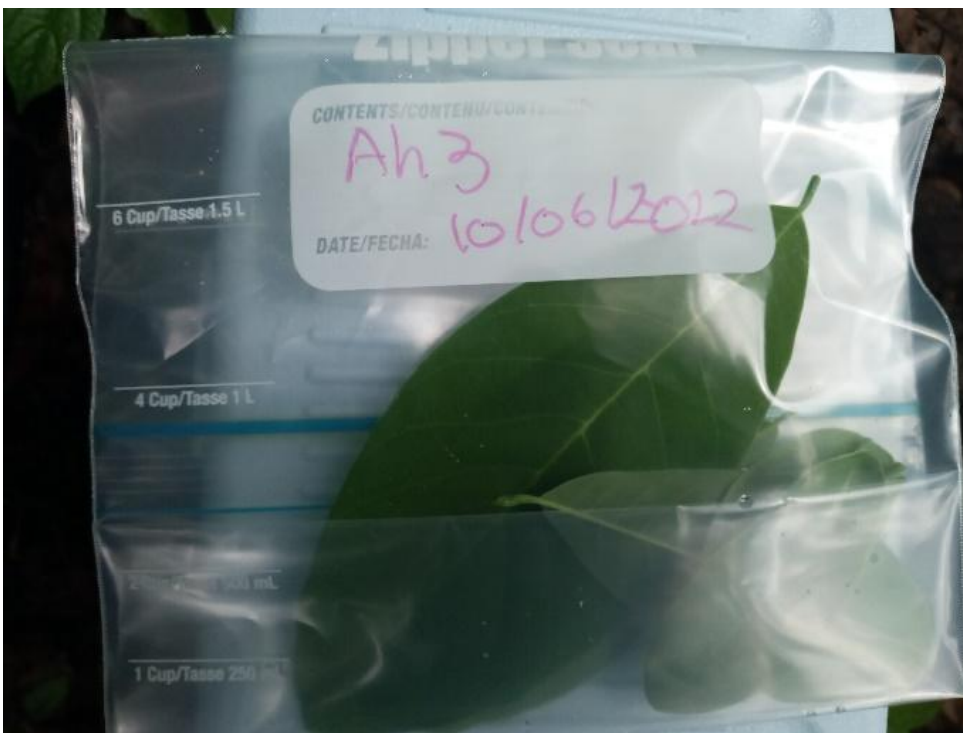
- Shannon C.E. y Weaver W. (1949). *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana
- Sokal R., Michener D. (1958). A statistical method for evaluating systematic relationships. *Science bulletin*, XXXVIII, PT. II. University of Kansas, USA.
- Suratman, S. (2015). Assessment of genetic diversity among soursop (*Annona muricata*) populations from Java, Indonesia using RAPD markers. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 16(2),247–253. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d160220>
- Thanachseyan, P., Samarasinghe, W., Thirukkumaran, G. (2017). Diversity Assessment of *Annona muricata* L. Through Molecular Characterization using SSR Markers, 3(9), 57–62. ISSN:2454-4116
- Valle-Guadarrama, S., Ruiz-Sánchez, X. G., Saucedo-Veloz, C., Gómez-Cruz, A., y Marroquín-Andrade, L. M. (2012). COMPORTAMIENTO POSTCOSECHA DE FRUTOS DE ILAMA (*Annona diversifolia*) EN MADUREZ COMESTIBLE ALMACENADOS EN ATMÓSFERA MODIFICADA. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(Especial_5), 75. https://doi.org/10.35196/rfm.2012.especial_5.75
- Zonneveld, M., Scheldeman, X., Escribano, P., Viruel, M. A., Van Damme, P., Garcia, W., Tapia, C., Romero, J., Sigueñas, M., y Hormaza, J. I. (2012). Mapping Genetic Diversity of Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.): Application of Spatial Analysis for Conservation and Use of Plant Genetic Resources. *PLoS ONE*, 7(1), e29845. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029845>

14. Anexos

Anexo 1. Transporte de muestra procedente de La Paz.



Anexo 2. Transporte de muestra procedente de Ahuachapán.



Anexo 3. Sitio de almacenamiento de muestras biológicas.



Anexo 4. Muestras de ADN almacenadas a -20°C .

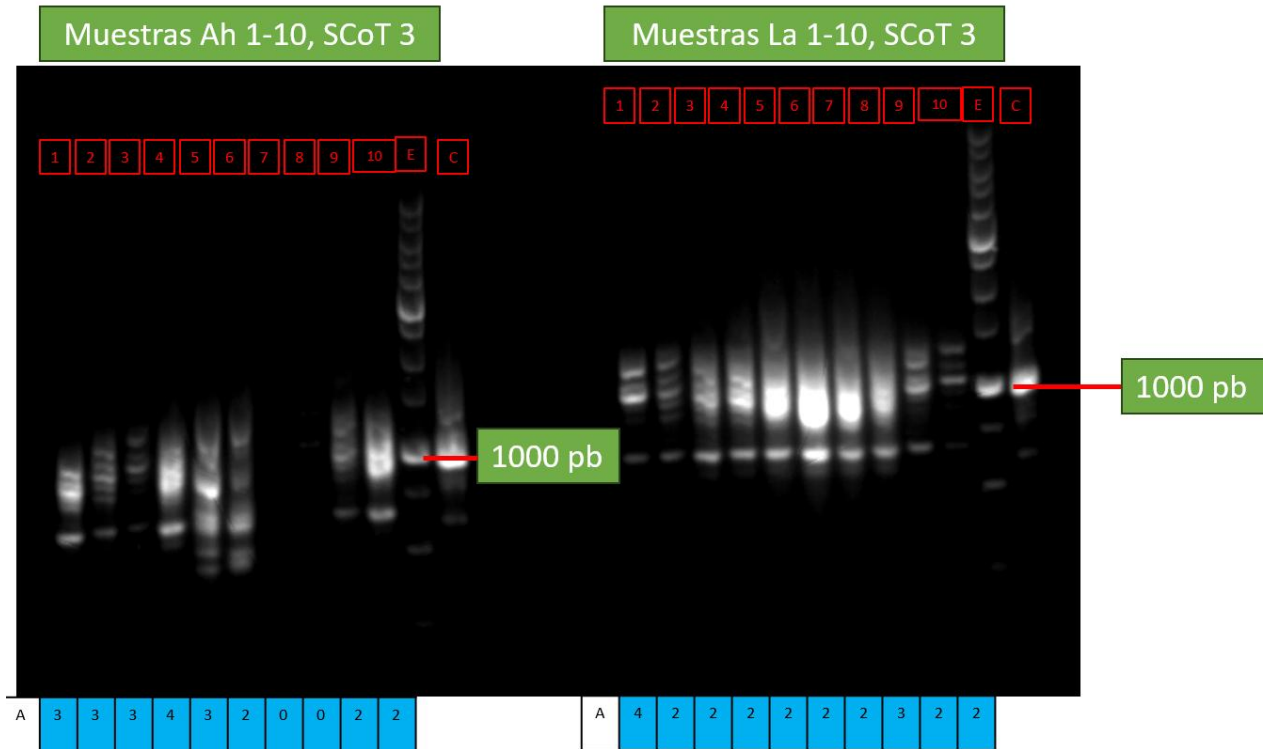


Anexo 5. Parámetros de concentración y calidad de muestras de ADN de *A. macrophyllata* procedentes de diferentes poblaciones de El Salvador

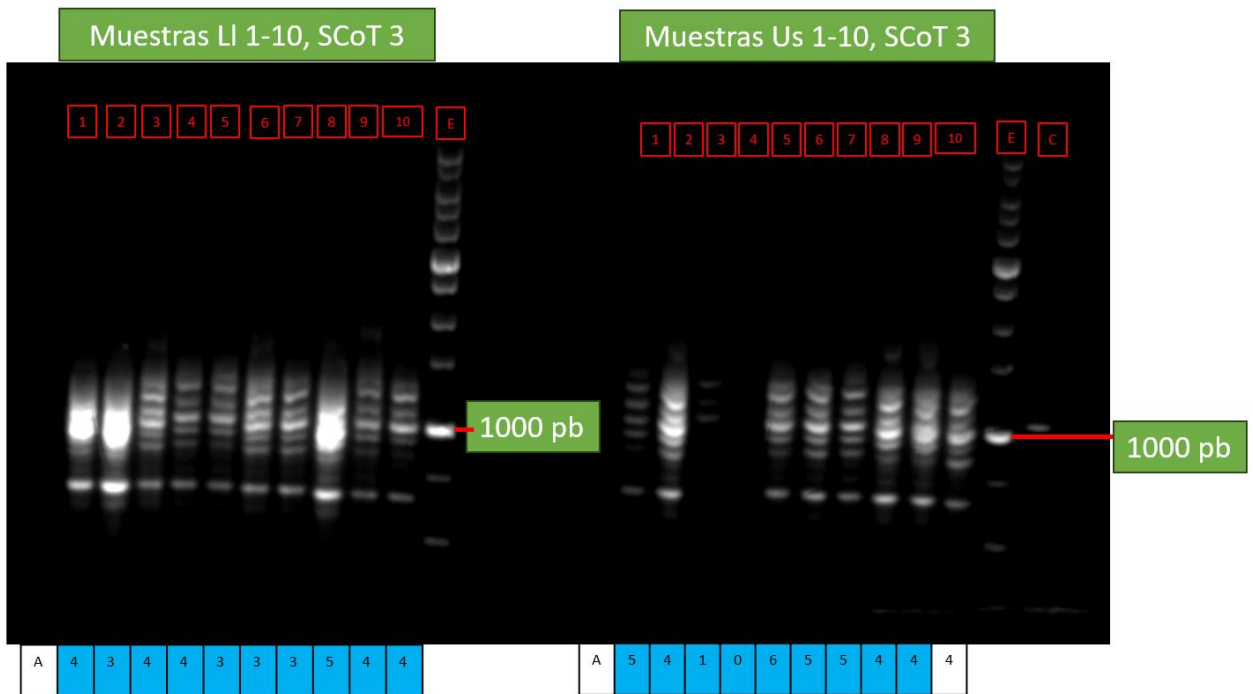
Muestra	Concentración (C)	Relación 260/280	Relación 260/230
Ah1	38.1	2.37	0.89
Ah2	20.7	2.37	0.43
Ah3	20.0	2.27	0.37
Ah4	22.5	2.44	0.45
Ah5	30.3	2.21	0.74
Ah6	43.8	2.2	0.98
Ah7	20.5	2.13	0.18
Ah8	31.6	1.86	0.23
Ah9	29.8	2.05	0.27
Ah10	73.4	1.88	1.73
LI1	20.6	1.38	1.06
LI2	100.4	2.1	1.36
LI3	28.5	2.25	0.7
LI4	19.3	2.47	0.28
LI5	24.4	1.97	0.37
LI6	22.5	2.14	0.64
LI7	34.3	2.13	0.55
LI8	20.3	1.98	1.6
LI9	20.2	2.52	0.5
LI10	40	1.72	1.87
Us1	23.9	1.66	0.3
Us2	20.0	2.49	0.41
Us3	20.0	2.08	0.42
Us4	20.0	2.75	0.53
Us5	22.7	2.43	0.2
Us6	32.6	1.85	0.28
Us7	42.2	2.08	0.44
Us8	24.9	1.89	1.16
Us9	31.6	2.23	0.52
Us10	36.4	1.79	0.2
La1	38.4	2.19	0.87
La2	21.6	2.25	0.25
La3	27	2.14	0.31
La4	33.1	1.79	0.29
La5	90.8	2.06	1.06
La6	59.7	2.15	0.9
La7	34.6	2.23	0.33
La8	27.2	2.08	0.37

Muestra	Concentración (C)	Relación 260/280	Relación 260/230
La9	27.4	1.56	1.16
La10	42.3	1.59	0.77

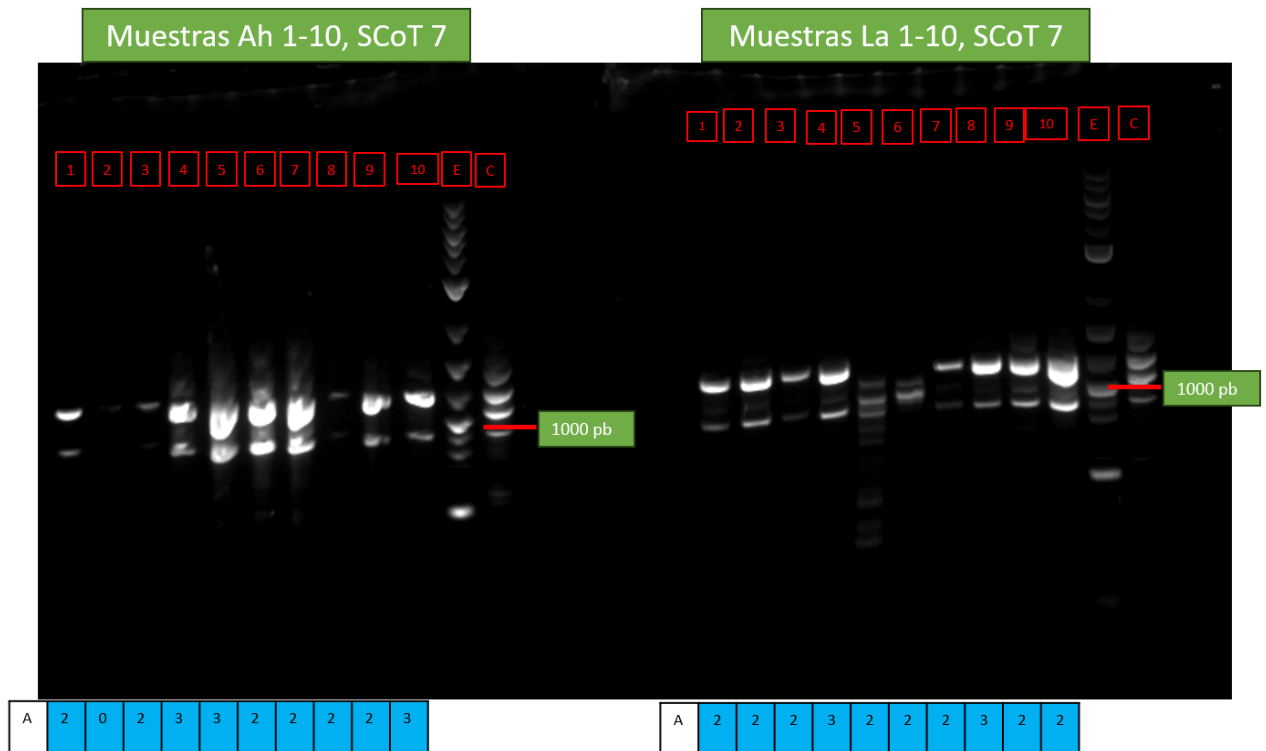
Anexo 6. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 3 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escala de peso molecular y C el grupo control



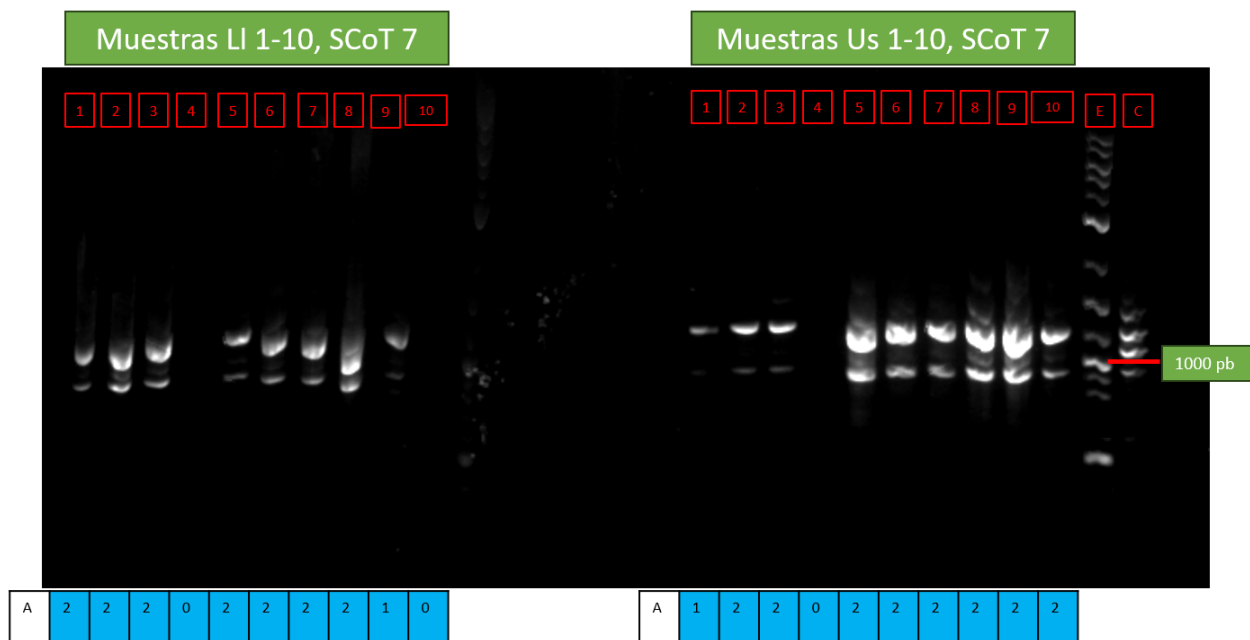
Anexo 7. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 3 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escala de peso molecular y C el grupo control



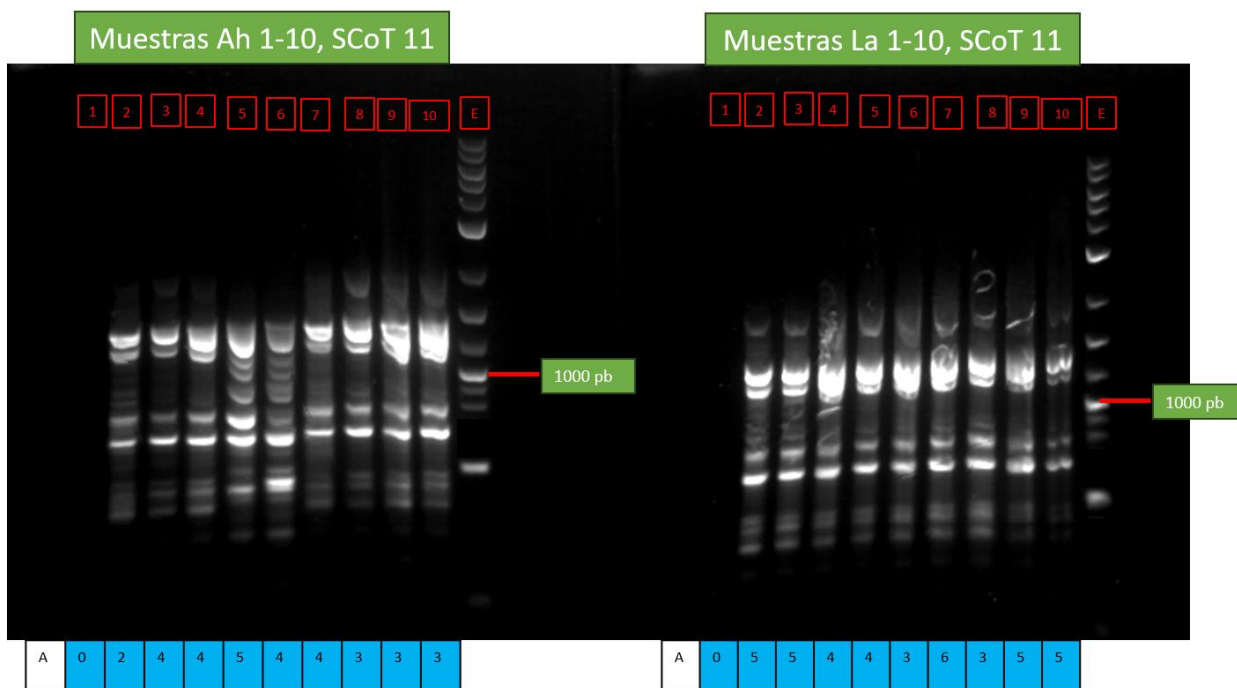
Anexo 8. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 7 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control



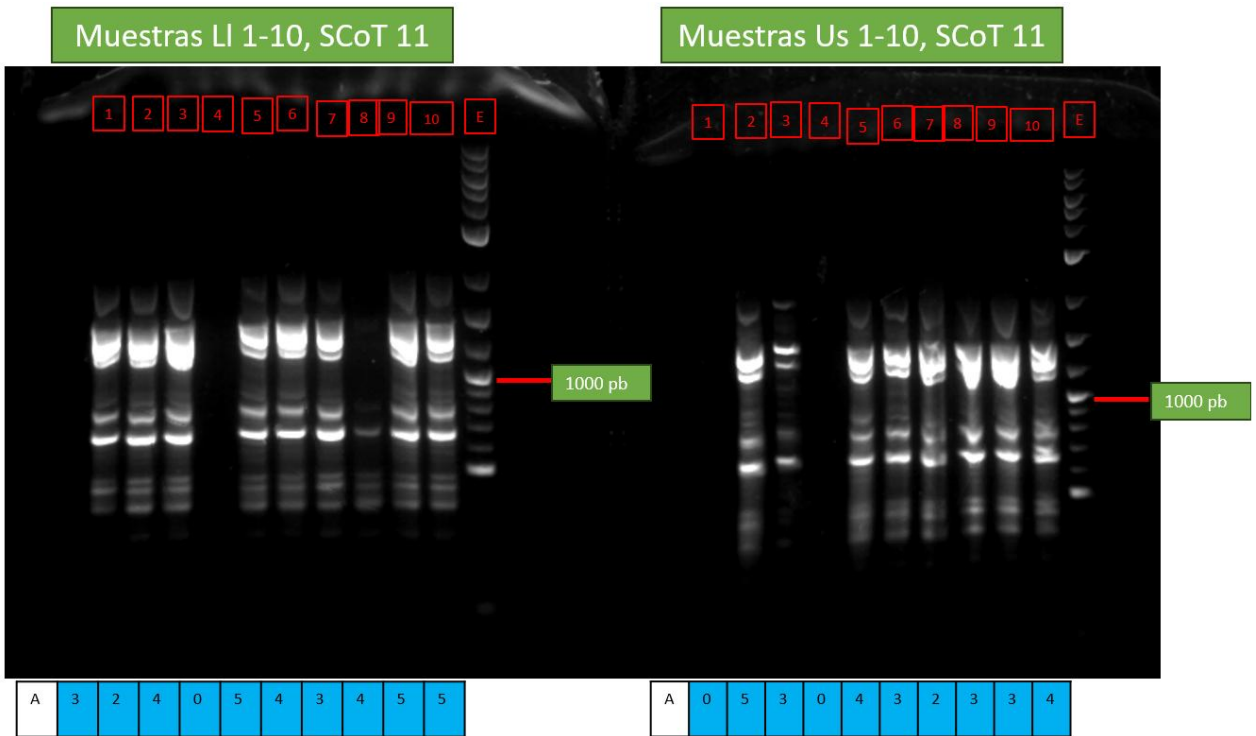
Anexo 9. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 7 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (Ll1-Ll10) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control



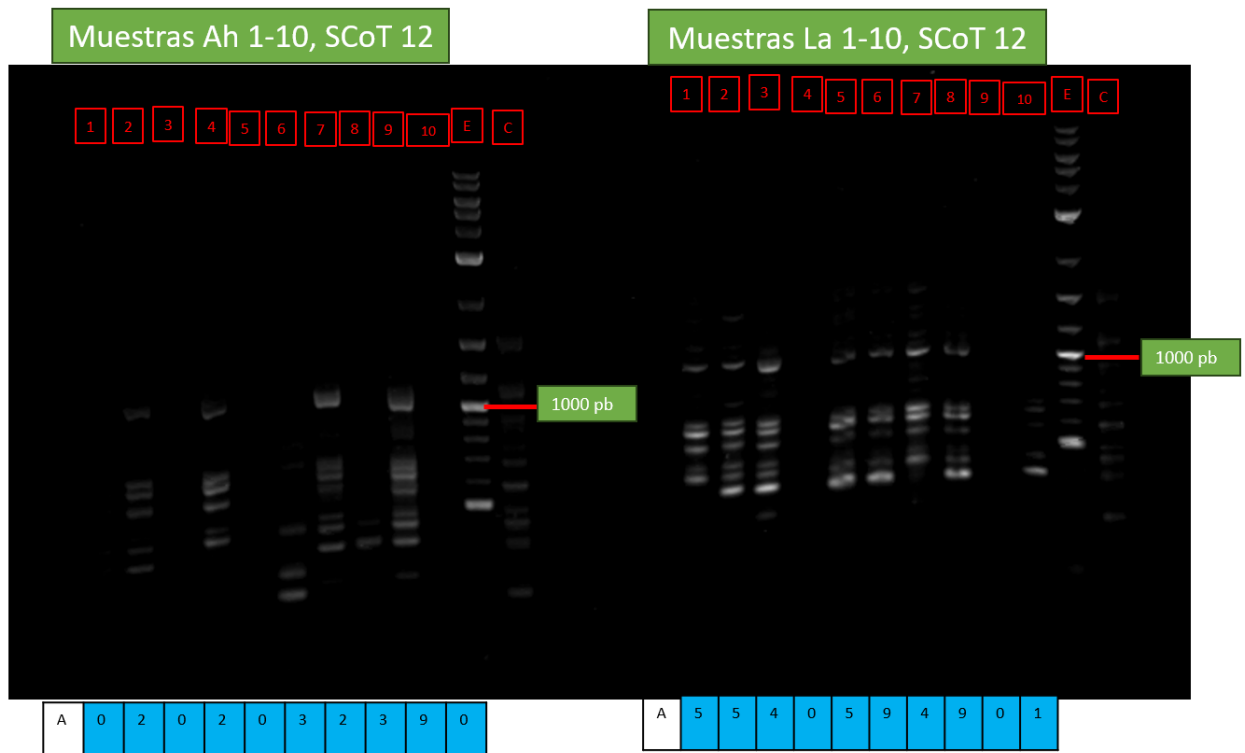
Anexo 10. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 11 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control



Anexo 11. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 11 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (L11-L110) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control



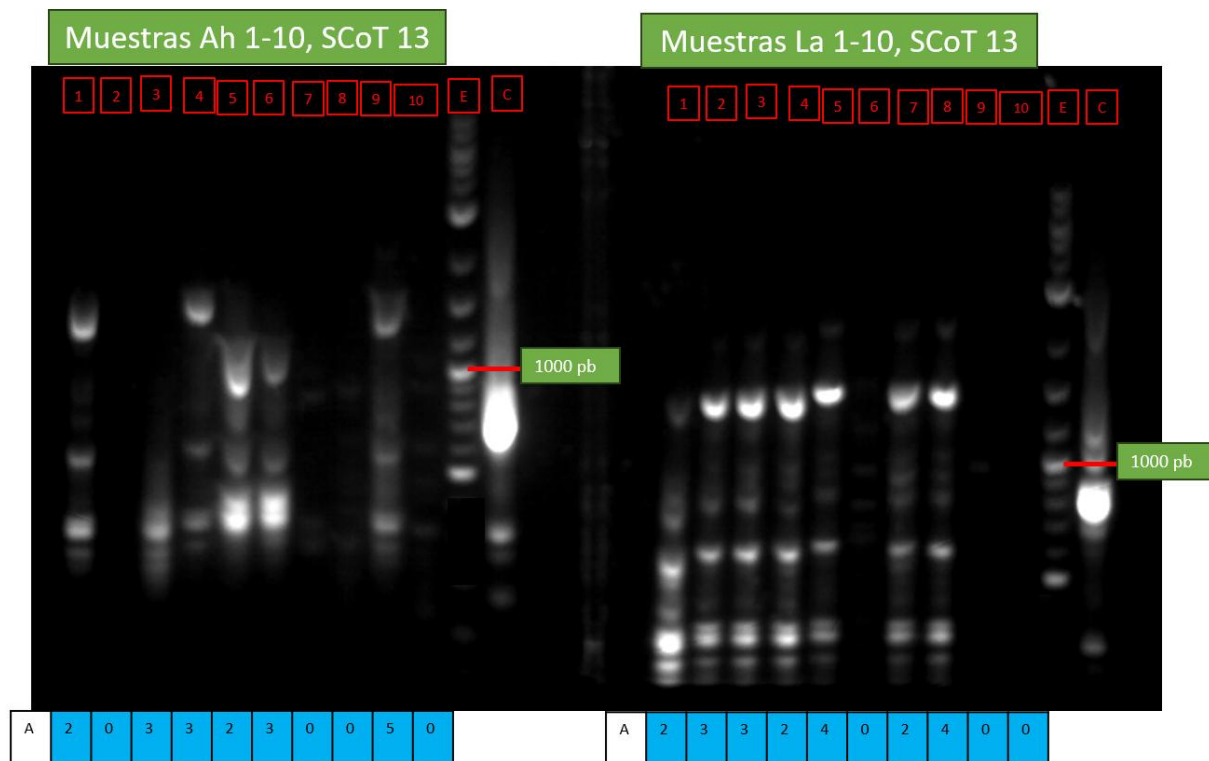
Anexo 12. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 12 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escala de peso molecular y C el grupo control



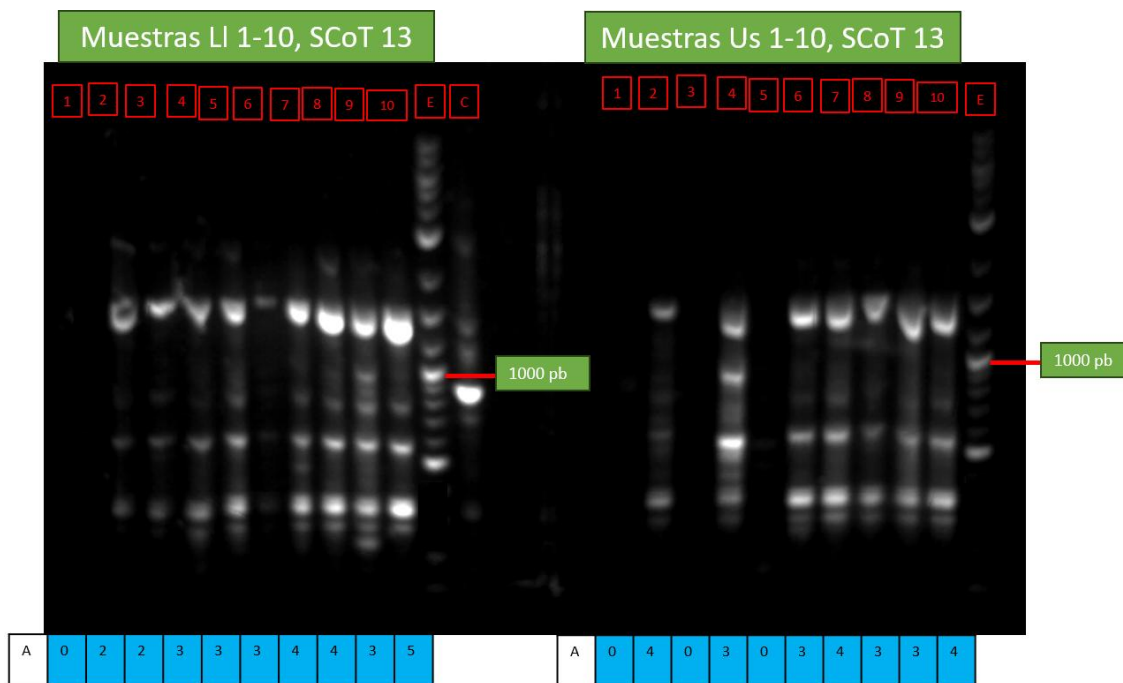
Anexo 13. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 12 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (L11-L110) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escala de peso molecular y C el grupo control



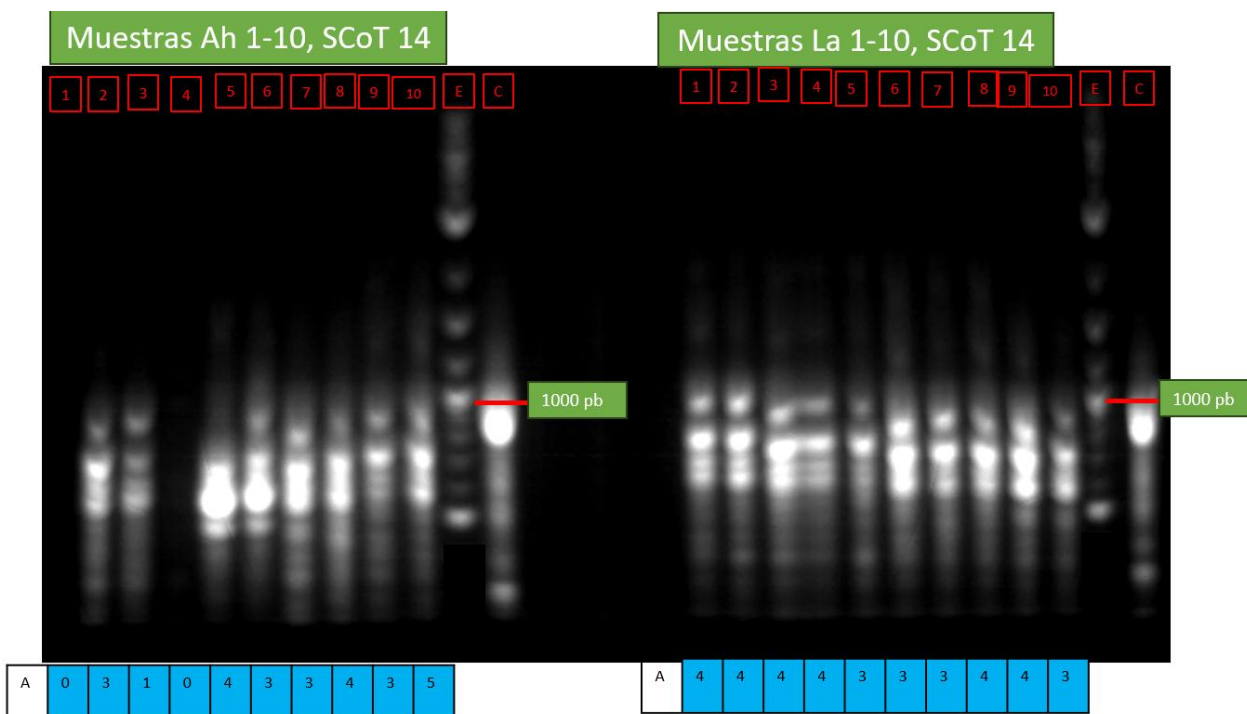
Anexo 14. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 13 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escala de peso molecular y C el grupo control



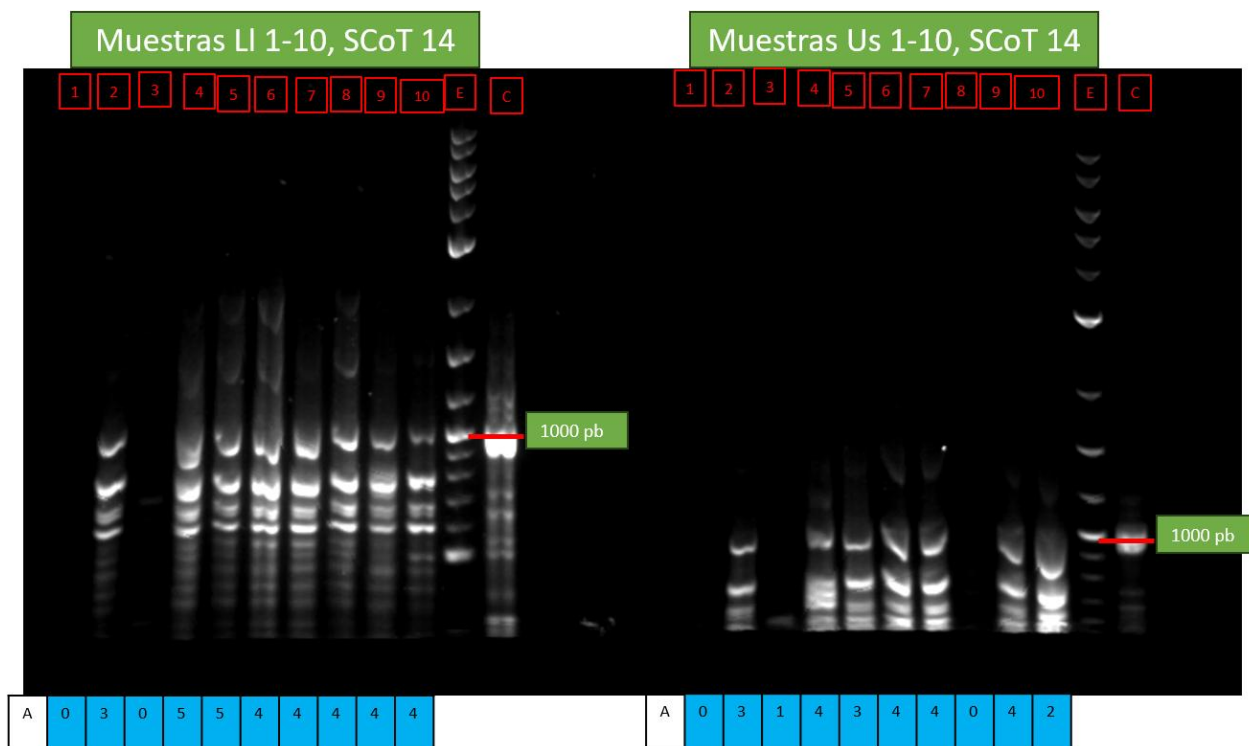
Anexo 15. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 13 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (L11-L110) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escala de peso molecular y C el grupo control



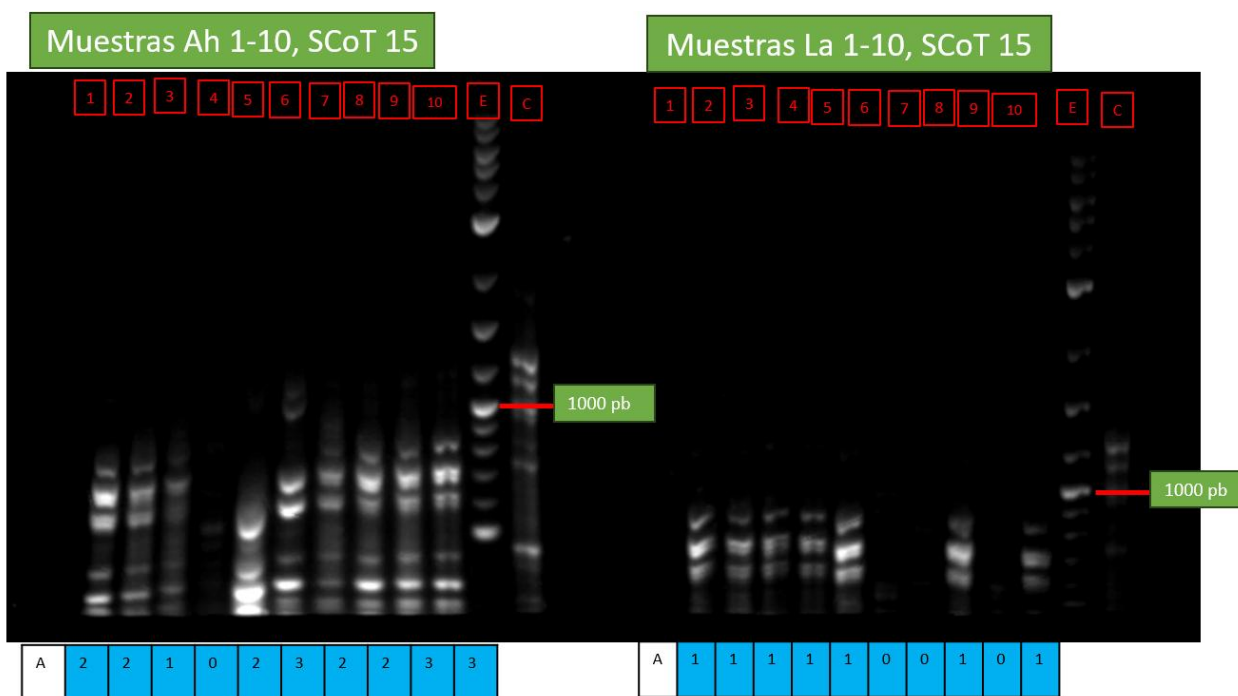
Anexo 16. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 14 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escala de peso molecular y C el grupo control



Anexo 17. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 14 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (L11-L110) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control



Anexo 18. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 15 en poblaciones de *A. macrophyllata* de Ahuachapán (Ah1-Ah10) y La Paz (La1-La10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control



Anexo 19. Perfil de amplificación por PCR-SCoT 15 en poblaciones de *A. macrophyllata* de La Libertad (L11-L110) y Usulután (Us1-Us10). La letra A, representa la cantidad de amplicones obtenidos en cada muestra, E la escalera de peso molecular y C el grupo control



Anexo 20. Matriz binaria obtenida partir de amplificaciones PCR-SCoT de 10 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de Ahuachapán

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	Ah 1	Ah 2	Ah 3	Ah 4	Ah 5	Ah 6	Ah 7	Ah 8	Ah 9	Ah 10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT3]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]1500 a 1400]	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT3]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0.49	1.98
SCoT3]1300 a 1200]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]1200 a 1100]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0.49	1.98
SCoT3]1100 a 1000]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]1000 a 900]	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT3]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]800 a 700]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]700 a 600]	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0.19	1.23
SCoT3]600 a 500]	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT7]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2300 a 2200]	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0.41	1.71
SCoT7]2200 a 2100]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT7]2100 a 2000]	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT7]2000 a 1900]	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT7]1900 a 1800]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT7]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT7]1700 a 1600]	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0.41	1.71
SCoT7]1600 a 1500]	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0.46	1.87
SCoT11]2700 a 2600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	Ah 1	Ah 2	Ah 3	Ah 4	Ah 5	Ah 6	Ah 7	Ah 8	Ah 9	Ah 10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT11]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1600 a 1500]	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0.27	1.38
SCoT11]1500 a 1400]	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT11]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1300 a 1200]	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT11]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]800 a 700]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]700 a 600]	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0.41	1.71
SCoT11]600 a 500]	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT11]500 a 400]	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0.41	1.71
SCoT12]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT12]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1500 a 1400]	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT12]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT12]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT12]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]900 a 800]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT12]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT12]700 a 600]	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0.50	1.98
SCoT12]600 a 500]	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0.46	1.87
SCoT12]500 a 400]	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT13]3000 a 2900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	Ah 1	Ah 2	Ah 3	Ah 4	Ah 5	Ah 6	Ah 7	Ah 8	Ah 9	Ah 10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT13]2600 a 2500]	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0.49	1.98
SCoT13]2500 a 2400]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2200 a 2100]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1600 a 1500]	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0.50	1.98
SCoT13]1500 a 1400]	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT13]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1300 a 1200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]700 a 600]	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0.46	1.87
SCoT13]600 a 500]	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	0.50	1.98
SCoT13]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1500 a 1400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT14]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1300 a 1200]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT14]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0.46	1.87
SCoT14]1100 a 1000]	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT14]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	Ah 1	Ah 2	Ah 3	Ah 4	Ah 5	Ah 6	Ah 7	Ah 8	Ah 9	Ah 10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT14]900 a 800]	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0.27	1.38
SCoT14]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0.49	1.98
SCoT14]700 a 600]	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0.19	1.23
SCoT14]600 a 500]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT14]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0.49	1.98
SCoT15]1000 a 900]	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT15]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT15]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]700 a 600]	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0.46	1.87
SCoT15]600 a 500]	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT15]500 a 400]	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98

Anexo 21. Matriz binaria obtenida partir de amplificaciones PCR-SCoT de 10 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de La Paz

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	La 1	La 2	La 3	La 4	La 5	La 6	La 7	La 8	La 9	La 10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT3]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]1500 a 1400]	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0.46	1.87
SCoT3]1400 a 1300]	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0.46	1.87
SCoT3]1300 a 1200]	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0.41	1.71
SCoT3]1200 a 1100]	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]1100 a 1000]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]800 a 700]	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0.35	1.54
SCoT3]700 a 600]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]600 a 500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0.50	1.98
SCoT7]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2300 a 2200]	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0.49	1.98
SCoT7]2200 a 2100]	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0.41	1.71

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	La 1	La 2	La 3	La 4	La 5	La 6	La 7	La 8	La 9	La 10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT7]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT7]2000 a 1900]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT7]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]1800 a 1700]	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0.41	1.71
SCoT7]1700 a 1600]	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0.41	1.71
SCoT7]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2700 a 2600]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT11]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0.49	1.98
SCoT11]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1900 a 1800]	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT11]1800 a 1700]	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT11]1700 a 1600]	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0.50	1.98
SCoT11]1600 a 1500]	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	1	0.41	1.71
SCoT11]1500 a 1400]	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT11]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1300 a 1200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1100 a 1000]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0.49	1.98
SCoT11]900 a 800]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]700 a 600]	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0.46	1.87
SCoT11]600 a 500]	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT11]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0.49	1.98
SCoT12]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT12]2300 a 2200]	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0.46	1.87
SCoT12]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT12]1900 a 1800]	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	La 1	La 2	La 3	La 4	La 5	La 6	La 7	La 8	La 9	La 10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT12]1800 a 1700]	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0.50	1.98
SCoT12]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1600 a 1500]	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0.50	1.98
SCoT12]1500 a 1400]	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0.27	1.38
SCoT12]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT12]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]900 a 800]	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT12]800 a 700]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT12]700 a 600]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT12]600 a 500]	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0.19	1.23
SCoT12]500 a 400]	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0.35	1.54
SCoT13]3000 a 2900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2600 a 2500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2200 a 2100]	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT13]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2000 a 1900]	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT13]1900 a 1800]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1800 a 1700]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1700 a 1600]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1500 a 1400]	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT13]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1300 a 1200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1000 a 900]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]800 a 700]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	La 1	La 2	La 3	La 4	La 5	La 6	La 7	La 8	La 9	La 10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT13]700 a 600]	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.50	1.98
SCoT13]600 a 500]	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT13]500 a 400]	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT14]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1500 a 1400]	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT14]1400 a 1300]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT14]1300 a 1200]	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0.49	1.98
SCoT14]1200 a 1100]	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0.46	1.87
SCoT14]1100 a 1000]	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0.46	1.87
SCoT14]1000 a 900]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT14]900 a 800]	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT14]800 a 700]	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0.27	1.38
SCoT14]700 a 600]	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0.50	1.98
SCoT14]600 a 500]	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0.49	1.98
SCoT14]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]800 a 700]	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0.27	1.38
SCoT15]700 a 600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]600 a 500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00

Anexo 22. Matriz binaria obtenida partir de amplificaciones PCR-SCoT de 10 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de La Libertad

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	L11	L12	L13	L14	L15	L16	L17	L18	L19	L110	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT3]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]1500 a 1400]	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT3]1400 a 1300]	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0.27	1.38
SCoT3]1300 a 1200]	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0.41	1.71
SCoT3]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]1100 a 1000]	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]1000 a 900]	1	1	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0.35	1.54
SCoT3]900 a 800]	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0.35	1.54
SCoT3]800 a 700]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]700 a 600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]600 a 500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2500 a 2400]	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0.35	1.54
SCoT7]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT7]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2000 a 1900]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT7]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT7]1800 a 1700]	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0.46	1.87
SCoT7]1700 a 1600]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT7]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2700 a 2600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT11]2300 a 2200]	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]2200 a 2100]	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT11]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT11]2000 a 1900]	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	L11	L12	L13	L14	L15	L16	L17	L18	L19	L110	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT11]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT11]1600 a 1500]	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0.19	1.23
SCoT11]1500 a 1400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1300 a 1200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT11]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0.50	1.98
SCoT11]700 a 600]	0		0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]600 a 500]	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT11]500 a 400]	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0.35	1.54
SCoT12]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1500 a 1400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]800 a 700]	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0.50	1.98
SCoT12]700 a 600]	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT12]600 a 500]	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT12]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]3000 a 2900]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]2600 a 2500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	L11	L12	L13	L14	L15	L16	L17	L18	L19	L110	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT13]2400 a 2300]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]2300 a 2200]	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	0.41	1.71
SCoT13]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0.49	1.98
SCoT13]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT13]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1500 a 1400]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0.49	1.98
SCoT13]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1300 a 1200]	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT13]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]700 a 600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]600 a 500]	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT13]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT14]2500 a 2400]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT14]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT14]1800 a 1700]	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT14]1500 a 1400]	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0.35	1.54
SCoT14]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0.49	1.98
SCoT14]1300 a 1200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT14]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	LI1	LI2	LI3	LI4	LI5	LI6	LI7	LI8	LI9	LI10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT14]700 a 600]	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0.27	1.38
SCoT14]600 a 500]	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.19	1.23
SCoT14]500 a 400]	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0.46	1.87
SCoT15]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]1000 a 900]	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT15]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]800 a 700]	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0.46	1.87
SCoT15]700 a 600]	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0.50	1.98
SCoT15]600 a 500]	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT15]500 a 400]	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0.46	1.87

Anexo 23. Matriz binaria obtenida partir de amplificaciones PCR-SCoT de 10 individuos de *A. macrophyllata* procedentes de Usulután

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	Us1	Us2	Us3	Us4	Us5	Us6	Us7	Us8	Us9	Us10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT3]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT3]1500 a 1400]	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0.27	1.38
SCoT3]1400 a 1300]	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0.27	1.38
SCoT3]1300 a 1200]	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0.41	1.71
SCoT3]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0.49	1.98
SCoT3]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT3]1000 a 900]	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0.41	1.71
SCoT3]900 a 800]	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0.46	1.87
SCoT3]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0.46	1.87
SCoT3]700 a 600]	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT3]600 a 500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2500 a 2400]	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0.10	1.11
SCoT7]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2300 a 2200]	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT7]2200 a 2100]	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0.35	1.54
SCoT7]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	Us1	Us2	Us3	Us4	Us5	Us6	Us7	Us8	Us9	Us10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT7]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT7]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2700 a 2600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2300 a 2200]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]2000 a 1900]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]1900 a 1800]	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0.50	1.98
SCoT11]1800 a 1700]	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT11]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT11]1500 a 1400]	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0.19	1.23
SCoT11]1400 a 1300]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]1300 a 1200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]1200 a 1100]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT11]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT11]700 a 600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT11]600 a 500]	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0.19	1.23
SCoT11]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT12]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1900 a 1800]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT12]1800 a 1700]	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT12]1700 a 1600]	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0.50	1.98

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	Us1	Us2	Us3	Us4	Us5	Us6	Us7	Us8	Us9	Us10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT12]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1500 a 1400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT12]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT12]1000 a 900]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT12]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT12]700 a 600]	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0.27	1.38
SCoT12]600 a 500]	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0.35	1.54
SCoT12]500 a 400]	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]3000 a 2900]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2600 a 2500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2400 a 2300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2300 a 2200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2100 a 2000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]2000 a 1900]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1900 a 1800]	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0.50	1.98
SCoT13]1700 a 1600]	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.49	1.98
SCoT13]1600 a 1500]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0.49	1.98
SCoT13]1500 a 1400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1400 a 1300]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]1300 a 1200]	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0.50	1.98
SCoT13]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]1000 a 900]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT13]900 a 800]	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]800 a 700]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT13]700 a 600]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT13]600 a 500]	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0.27	1.38

CEBADOR	TAMAÑO BANDA	Us1	Us2	Us3	Us4	Us5	Us6	Us7	Us8	Us9	Us10	Banda polimórfica	He	Ne
SCoT13]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]2500 a 2400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]2200 a 2100]	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT14]1900 a 1800]	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0.43	1.76
SCoT14]1800 a 1700]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1500 a 1400]	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	1	0.46	1.87
SCoT14]1400 a 1300]	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT14]1300 a 1200]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.43	1.76
SCoT14]1200 a 1100]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0.43	1.76
SCoT14]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]1000 a 900]	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0.49	1.98
SCoT14]900 a 800]	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0.50	1.98
SCoT14]800 a 700]	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0.49	1.98
SCoT14]700 a 600]	0	1	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0.27	1.38
SCoT14]600 a 500]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT14]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]1100 a 1000]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00
SCoT15]1000 a 900]	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0.49	1.98
SCoT15]900 a 800]	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0.41	1.71
SCoT15]800 a 700]	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0.46	1.87
SCoT15]700 a 600]	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0.27	1.38
SCoT15]600 a 500]	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0.35	1.54
SCoT15]500 a 400]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	1.00

Anexo 24. Matriz binaria general junto a parámetros calculados



